



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년05월02일  
(11) 등록번호 10-2662228  
(24) 등록일자 2024년04월25일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 39/395 (2006.01) A61K 31/47 (2006.01)  
A61K 39/00 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)  
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 39/39558 (2013.01)  
A61K 31/47 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7027616
- (22) 출원일자(국제) 2015년12월03일  
심사청구일자 2020년10월20일
- (85) 번역문제출일자 2017년09월28일
- (65) 공개번호 10-2017-0122809
- (43) 공개일자 2017년11월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/063796
- (87) 국제공개번호 WO 2016/140717  
국제공개일자 2016년09월09일
- (30) 우선권주장  
JP-P-2015-042683 2015년03월04일 일본(JP)  
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌  
US20140079706 A1  
WO2013132044 A1  
WO2012144463 A1

- (73) 특허권자  
머크 샤프 앤드 돔 코퍼레이션  
미국 뉴저지 (우편번호 07065-0907) 라웨이 이스  
트 링컨 애비뉴 126  
에자이 알앤드디 매니지먼트 가부시키키가이사  
일본국 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4쵸메 6반 10고
- (72) 발명자  
덴커, 앤드류 에반  
미국 19454-2505 펜실베이니아주 노스 웨일스 노  
스 셉타운 351 머크 샤프 앤드 돔 코퍼레이션  
내  
카토, 유  
일본 112-8088 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4쵸메  
6반 10고 에자이 알앤드디 매니지먼트 가부시키키가  
이샤 내  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 24 항

심사관 : 고일영

(54) 발명의 명칭 암을 치료하기 위한 PD-1 길항제 및 VEGFR/FGFR/RET 티로신 키나제 억제제의 조합

(57) 요약

본 개시내용은 프로그램화된 사멸 1 수용체 (PD-1)의 길항제 및 다중-RTK 억제제를 포함하는 조합 요법, 및 암의 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1

hPD-1.08A 경쇄 CDR1 (SEQ ID NO: 1)  
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Phe Ser Tyr Leu His

hPD-1.08A 경쇄 CDR2 (SEQ ID NO: 2)  
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

hPD-1.08A 경쇄 CDR3 (SEQ ID NO: 3)  
Gln His Ser Trp Glu Leu Pro Leu Thr

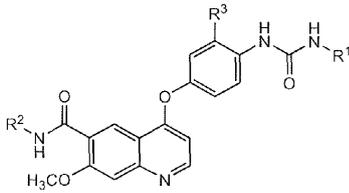
hPD-1.08A 중쇄 CDR1 (SEQ ID NO: 4)  
Ser Tyr Tyr Leu Tyr

hPD-1.08A 중쇄 CDR2 (SEQ ID NO: 5)  
Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Ser Glu Lys Phe Lys Ser

hPD-1.08A 중쇄 CDR3 (SEQ ID NO: 6)  
Arg Asp Ser Asn Tyr Asp Gly Gly Phe Asp Tyr

치료를 위한 조합 요법의 용도를 기재한다. 다중-RTK 억제제는 화학식 I에 의해 나타내어질 수 있다:

<화학식 I>



여기서 R<sup>1</sup>은 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬이고, R<sup>2</sup>는 수소 원자 또는 C<sub>1-6</sub> 알콕시이고, R<sup>3</sup>은 수소 원자 또는 할로겐 원자이다. 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 항-PD-1 항체를 조합한 중앙 치료제가 개시된다.

(52) CPC특허분류

**A61K 45/06** (2013.01)  
**C07K 16/2818** (2013.01)  
**C07K 16/2827** (2013.01)  
**A61K 2039/505** (2013.01)  
**A61K 2300/00** (2023.05)  
**C07K 2317/76** (2013.01)

(30) 우선권주장

62/128,232 2015년03월04일 미국(US)  
 JP-P-2015-114890 2015년06월05일 일본(JP)  
 62/171,615 2015년06월05일 미국(US)

(72) 발명자

**타바타, 키미요**

일본 112-8088 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4초메 6  
 반 10고 예자이 알앤드디 매니지먼트 가부시키키가이  
 샤 내

**호리, 유사쿠**

일본 112-8088 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4초메 6  
 반 10고 예자이 알앤드디 매니지먼트 가부시키키가이  
 샤 내

공지예외적용 : 있음

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

개체에서 암을 치료하기 위한, 프로그램화된 사멸 1 단백질 (PD-1)의 길항제 및 다중 수용체 티로신 키나제 (다중-RTK) 억제제를 포함하는 의약이며,

여기서 PD-1 길항제 및 다중-RTK 억제제는 동시에, 공동으로, 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여되는 것이고;

여기서 상기 길항제는 펙브롤리주맙이고;

상기 다중-RTK 억제제는 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이고;

상기 개체는 인간인,

의약.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 암이 고형 종양인 의약.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 암이 갑상선암, 간세포 암종(HCC), 비소세포 폐암 (NSCLC), 신세포 암종 (RCC), 자궁내막암, 두경부의 편평 세포 암종, 교모세포종 또는 흑색종인 의약.

**청구항 4**

제1항 또는 제2항에 있어서, 펙브롤리주맙 및 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염의 투여 후에 투여되는 것인 의약.

**청구항 5**

제2항에 있어서, 암이 갑상선암인 의약.

**청구항 6**

제2항에 있어서, 암이 HCC인 의약.

**청구항 7**

제2항에 있어서, 암이 NSCLC인 의약.

**청구항 8**

제2항에 있어서, 암이 RCC인 의약.

**청구항 9**

제2항에 있어서, 암이 자궁내막암인 의약.

**청구항 10**

제2항에 있어서, 암이 두경부의 편평 세포 암종인 의약.

**청구항 11**

제2항에 있어서, 암이 교모세포종인 의약.

**청구항 12**

제2항에 있어서, 암이 흑색종인 의약.

**청구항 13**

제4항에 있어서, 펨브롤리주맙 및 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이, 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염을 적어도 7일 동안 투여한 후에 투여되는 것인, 의약.

**청구항 14**

제1항 또는 제2항에 있어서, 펨브롤리주맙 및 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이 펨브롤리주맙의 투여 후에 투여되는 것인 의약.

**청구항 15**

제1항 또는 제2항에 있어서, 렌바티닙의 제약상 허용되는 염이 렌바티닙 메실레이트인 의약.

**청구항 16**

제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트로서,

여기서

제1 용기는 프로그램화된 사멸 1 단백질 (PD-1)의 길항제를 포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 포함하고,

제2 용기는 다중-RTK 억제제를 포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 포함하고,

패키지 삽입물은 상기 의약을 사용하여 암에 대하여 개체를 치료하기 위한 지침서를 포함하며,

상기 길항제는 펨브롤리주맙이고;

상기 다중-RTK 억제제는 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이고;

상기 개체는 인간인, 키트.

**청구항 17**

제16항에 있어서, 지침서가, 상기 의약이 면역조직화학적 (IHC) 검정에 의해 PD-L1 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 갖는 개체를 치료하는 데 사용되도록 의도된 것임을 설명하는 것인 키트.

**청구항 18**

제16항 또는 제17항에 있어서,

길항제가 10 mM 히스티딘 완충제 pH 5.5 중 25 mg/ml 펨브롤리주맙, 7% (w/v) 수크로스, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로 제제화된 펨브롤리주맙이고,

다중-RTK 억제제가 탄산칼슘, 만니톨, 미세결정질 셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 저-치환 히드록시프로필셀룰로스 및 활석을 포함하는 4 mg 또는 10 mg 렌바티닙 캡슐로서 제제화된 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염인

키트.

**청구항 19**

제18항에 있어서, 렌바티닙의 제약상 허용되는 염이 렌바티닙 메실레이트인 키트.

**청구항 20**

제16항 또는 제17항에 있어서, 암이 갑상선암, HCC, NSCLC, RCC, 자궁내막암, 두경부의 편평 세포 암종, 교모세 포종 또는 흑색종인 키트.

**청구항 21**

제1항에 따른 의약으로서,

여기서 퀘브롤리주맙 및 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염은 적어도 24주 동안 투여되고, 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염은 각각 렌바티닙으로서, 24 mg, 20 mg 또는 14 mg의 1일 용량으로 투여되며, 퀘브롤리주맙은 200 mg의 용량으로 3주마다 1회 투여되는 것인 의약.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 렌바티닙의 제약상 허용되는 염이 렌바티닙 메실레이트인 의약.

**청구항 23**

제21항에 있어서, 암이 갑상선암, HCC, NSCLC, RCC, 자궁내막암, 두경부의 편평 세포 암종, 교모세포종 또는 흑색종인 의약.

**청구항 24**

제1항 또는 제21항에 있어서, 암이 자궁내막암인 의약.

**발명의 설명**

**기술 분야**

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2015년 3월 4일에 출원된 일본 출원 JP 2015-042683, 2015년 6월 5일에 출원된 일본 출원 JP 2015-114890, 2015년 3월 4일에 출원된 미국 가출원 번호 62/128,232 및 2015년 6월 5일에 출원된 미국 가출원 62/171,615를 우선권 주장한다.
- [0003] 서열 목록
- [0004] 그 전문이 본원에 참조로 포함된, 서열식별번호(SEQ ID NO): 1-25를 포함하는 서열 목록이 또한 첨부된다.
- [0005] 기술 분야
- [0006] 암의 치료에 유용한 조합 요법이 개시된다. 특히, 프로그램화된 사멸 1 단백질 (PD-1)의 길항제 및 다중 수용체 티로신 키나제 (다중-RTK) 억제제를 포함하는 조합 요법이 개시된다. 보다 더 특히, 다중-티로신 키나제 억제 작용을 나타내는 퀴놀린 유도체 및 항-PD-1 항체의 조합을 함유하는 종양 치료제가 개시된다.

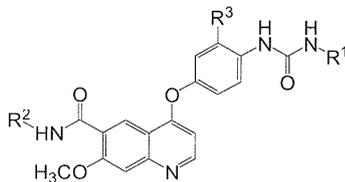
**배경 기술**

- [0007] PD-1은 면역 조절 및 말초 관용의 유지에서 중요한 역할을 하는 것으로서 인식된다. PD-1은 나이브 T-, B- 및 자연 킬러 T (NKT)- 세포 상에서 중간 정도로 발현되고 림프구, 단핵구 및 골수 세포 상에서 T/B- 세포 수용체 신호전달에 의해 상향-조절된다 (1).
- [0008] PD-1에 대한 2종의 공지된 리간드인 PD-L1 (B7-H1) 및 PD-L2 (B7-DC)는 다양한 조직에서 발생하는 인간 암에서 발현된다. 예를 들어, 난소암, 신장암, 결장직장암, 췌장암, 간암 및 흑색종의 큰 샘플 세트에서, PD-L1 발현은 후속 치료에 관계없이 불량한 예후와 상관되고 전체 생존을 감소시키는 것으로 밝혀졌다 (2-13). 유사하게, 종양 침윤 림프구 상의 PD-1 발현은 유방암 및 흑색종에서의 기능장애성 T 세포를 나타내고 (14-15), 신암에서의 불량한 예후와 상관되는 (16) 것으로 밝혀졌다. PD-L1 발현 종양 세포는 PD-1 발현 T 세포와 상호작용하여 T 세포 활성화 및 면역 감시의 회피를 감소시키고, 그에 의해 종양에 대한 손상된 면역 반응에 기여하는 것으로 제안된 바 있다. 따라서, PD-1 수용체 또는 PD-L1 리간드에 대해 지시된 항체는 그 사이의 결합을 억제하여, 종양 세포에 대한 증가된 면역 작용을 일으킬 수 있다 (23).
- [0009] PD-1과 그의 리간드인 PD-L1 및 PD-L2 중 하나 또는 둘 다 사이의 상호작용을 억제하는 여러 모노클로날 항체가 암을 치료하기 위해 임상 개발 중에 있다. 이러한 항체의 효능은 다른 승인된 또는 실험적 암 요법, 예를 들어, 방사선, 수술, 화학요법제, 표적화 요법, 종양에서 조절이상인 다른 신호전달 경로를 억제하는 작용제, 및 다른 면역 증강제와 조합하여 투여되는 경우에 증진될 수 있는 것으로 제안된 바 있다.

[0010] 티로신 키나제는 성장 인자 신호전달의 조절에 수반되고 따라서 암 요법을 위한 중요한 표적이다. 에이사이 캄파니, 리미티드(Eisai Co., Ltd.)에 의해 발견 및 개발된 렌바티닙 메실레이트는 혈관 내피 성장 인자 (VEGF) 수용체 (VEGFR1 (FLT1), VEGFR2 (KDR) 및 VEGFR3 (FLT4)), 및 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 수용체 FGFR1, 2, 3 및 4 뿐만 아니라 중앙 증식에 수반되는 다른 혈관신생촉진 및 중앙원성 경로-관련 RTK (혈소판-유래 성장 인자 (PDGF) 수용체 PDGFR  $\alpha$ ; KIT; 및 RET 원종양유전자 (RET) 포함)의 키나제 활성을 선택적으로 억제하는 경구 수용체 티로신 키나제 (RTK) 억제제이다. 특히, 렌바티닙은, X선 결정 구조 분석을 통해 확증된 바와 같이, VEGFR2에 대한 새로운 결합 방식 (유형 V)을 보유하고, 동역학적 분석에 따르면, 키나제 활성의 신속하고 강력한 억제를 나타낸다.

[0011] 렌바티닙 메실레이트는 국부 재발성 또는 전이성, 진행성, 방사성 아이오딘-불응성 분화 갑상선암을 갖는 환자의 치료에 대해 최근에 미국에서 승인되었다. 그의 화학 명칭은 4-[3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드 메탄술포네이트이다. 에이사이는 미국, 일본 및 유럽에서 다양한 유형의 갑상선암에서 렌바티닙 메실레이트에 대한 고아 약물 지정 (ODD)을 승인받았다. 렌바티닙 메실레이트는 갑상선암, 간세포성암, 자궁내막암, 비소세포 폐암, 신세포 암종 (RCC), 흑색종, 교모세포종 및 다른 고형 중앙 유형에서 조사 중이다. 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물은 항혈관신생 작용 (17), 중앙 등의 악성화에 수반된다고 보고된 티로신 키나제에 대한 억제 효과 (18-21)를 갖는다.

[0012] <화학식 I>



[0013]

[0014]  $R^1$ 은  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{3-8}$  시클로알킬이다.  $R^2$ 은 수소 원자 또는  $C_{1-6}$  알콕시이다.  $R^3$ 은 수소 원자 또는 할로겐 원자이다.

[0015] 일반적으로, 중앙 치료제는 개별적으로 투여되는 경우 종종 모든 환자에게 효과적이지는 않다. 따라서, 이러한 치료제의 치유율을 그들을 조합함으로써 증가시키려는 시도가 이루어져 왔다 (22).

**발명의 내용**

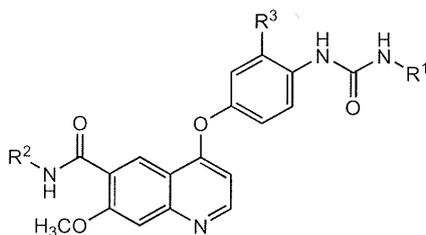
[0016] 본원에 개시된 바와 같이, 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 및 PD-1 수용체 항체의 조합의 투여는 예상외로 탁월한 항중앙 효과를 달성한다.

[0017] MPDL3280A가 아닌 PD-1 길항제, 및 다중-RTK 억제제를 포함하는 조합 요법을 개체에 투여하는 것을 포함하는 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 경우에, 개체는 인간이다. 암은 고형 중앙, 비소세포 폐암 (NSCLC), RCC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종일 수 있다.

[0018] 방법의 PD-1 길항제는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편일 수 있다. 일부 경우에, 길항제는 항-PD-1 항체이다. 길항제는 펩티도리주마프 또는 니볼루마프일 수 있다.

[0019] 방법의 다중-RTK 억제제는 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염일 수 있고:

[0020] <화학식 I>

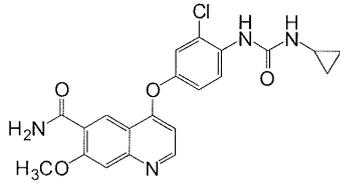


[0021]

[0022] 여기서  $R^1$ 은  $C_{1-6}$  알킬 또는  $C_{3-8}$  시클로알킬이고,  $R^2$ 은 수소 원자 또는  $C_{1-6}$  알콕시이고,  $R^3$ 은 수소 원자 또는 할

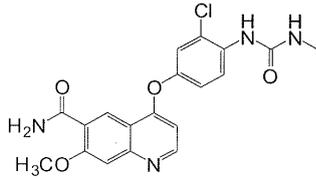
로겐 원자이다. 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물은 하기 화합물 중 하나 이상일 수 있다:

[0023] 4-[3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



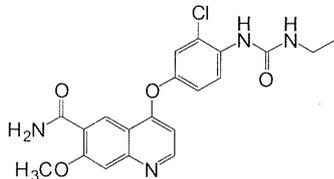
[0024]

[0025] 4-[3-클로로-4-(메틸아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



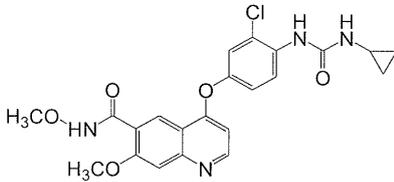
[0026]

[0027] 4-[3-클로로-4-(에틸아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



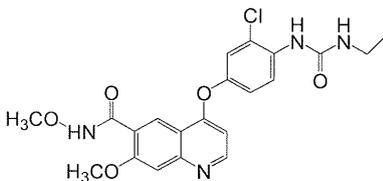
[0028]

[0029] N6-메톡시-4-(3-클로로-4-[(시클로프로필아미노)카르보닐]아미노)페녹시}-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



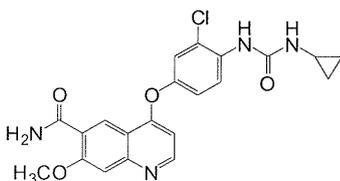
[0030]

[0031] 및 N6-메톡시-4-(3-클로로-4-[(에틸아미노)카르보닐]아미노)페녹시}-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



[0032]

[0033] 보다 구체적으로, 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물은 4-[3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드이다:



[0034]

[0035] 일부 경우에, 방법의 PD-1 길항제는 펨브롤리주맵이고 다중-RTK 억제제는 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이다. 펨브롤리주맵의 투여는 일부 치료 요법에서는 렌바티닙의 투여 후에 발생할 수 있다. 일부 경우에, 렌바티닙은 펨브롤리주맵 후에 투여된다.

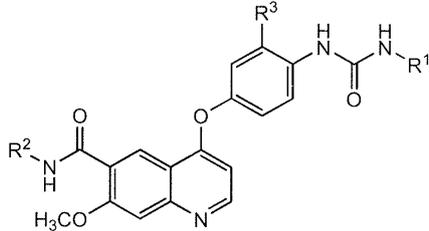
[0036] 제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트가 제공된다. 키트의 제1 용기는, MPDL3280A가 아닌 PD-

1 길항제를 포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 포함하고, 제2 용기는 다중-RTK 억제제를 포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 포함한다. 패키지 삽입물은 의약을 사용하여 암에 대하여 개체를 치료하기 위한 지침서를 포함한다. 키트의 지침서는 의약이 면역조직화학 (IHC) 검정에 의해 PD-L1 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 갖는 개체를 치료하는 데 사용되도록 의도된 것임을 설명할 수 있다. 일부 경우에, 개체는 인간일 수 있다.

[0037] 키트의 다중-RTK 억제제는 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염일 수 있고:

[0038] <화학식 I>

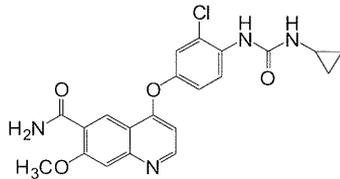
[0039]



[0040] 여기서 R<sup>1</sup>은 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬이고, R<sup>2</sup>는 수소 원자 또는 C<sub>1-6</sub> 알콕시이고, R<sup>3</sup>은 수소 원자 또는 할로겐 원자이다. 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물은 하기 화합물 중 하나 이상일 수 있다:

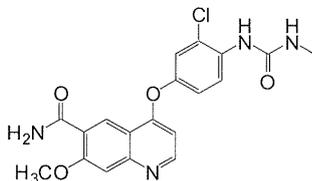
[0041] 4-[3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:

[0042]



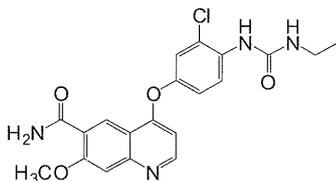
[0043] 4-[3-클로로-4-(메틸아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:

[0044]



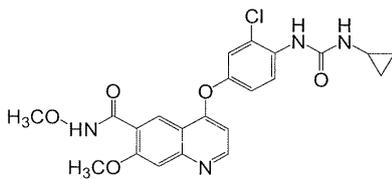
[0045] 4-[3-클로로-4-(에틸아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:

[0046]

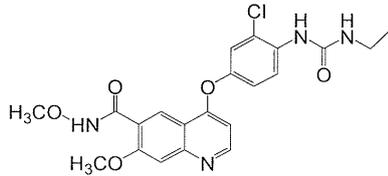


[0047] N6-메톡시-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:

[0048]



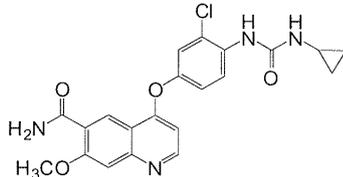
[0049] 및 N6-메톡시-4-(3-클로로-4-((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



[0050]

[0051]

보다 구체적으로, 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물은 4-[3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드일 수 있다:



[0052]

[0053]

키트에 의해 제공된 PD-1 길항제는 10 mM 히스티딘 완충제 pH 5.5 중 25 mg/ml 펌브롤리주맙, 7% (w/v) 수크로스, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로 제제화된 펌브롤리주맙일 수 있고, 다중-RTK 억제제는 탄산칼슘, 만니톨, 미세결정질 셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 저-치환 히드록시프로필셀룰로스 및 활석을 포함하는 4 mg 또는 10 mg 렌바티닙 캡슐로서 제제화된 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염일 수 있다.

[0054]

키트에 포함된 의약은 NSCLC, RCC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종을 치료하기 위해 적용될 수 있다.

[0055]

암으로 진단된 인간 개체에 조합 요법을 적어도 24주 동안 투여하는 것을 포함하는, 암으로 진단된 인간 개체를 치료하는 방법이 제공된다. 조합 요법은 펌브롤리주맙 및 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염은 각각 렌바티닙으로서, 24 mg, 20 mg 또는 14 mg의 1일 용량으로 투여될 수 있고, 펌브롤리주맙은 200 mg의 용량으로 Q3W 투여될 수 있다.

[0056]

다중-RTK 억제제와 조합하여 사용하기 위한 PD-1 길항제를 포함하는 암을 치료하기 위한 의약이 제공된다.

[0057]

PD-1 길항제와 조합하여 사용하기 위한 다중-RTK 억제제를 포함하는 암을 치료하기 위한 의약이 또한 제공된다.

[0058]

다중-RTK 억제제와 조합하여 투여되는 경우 개체에서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 PD-1 길항제의 용도가 또한 제공되고 PD-1 길항제와 조합하여 투여되는 경우 개체에서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 다중-RTK 억제제의 용도가 제공된다.

[0059]

개체에서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 PD-1 길항제 및 다중-RTK 억제제의 용도가 또한 제공된다. 상기 의약은 키트를 포함할 수 있고, 키트는 또한 개체에서 암을 치료하기 위해 PD-1 길항제를 다중-RTK 억제제와 조합하여 사용하기 위한 지침서를 포함하는 패키지 삽입물을 포함할 수 있다. 키트는 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 비히클을 포함하는 제약 조성물을 포함할 수 있다. 키트는 항-PD-1 항체 및 비히클을 포함하는 제약 조성물을 포함할 수 있다.

[0060]

모든 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, PD-1 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 억제하고, 바람직하게는 PD-1에 대한 PD-L2의 결합을 또한 억제한다. 일부 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, PD-1 길항제는 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하여 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 차단하는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 예를 들어, PD-1 길항제는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-PD-1 항체일 수 있고, 여기서 중쇄 및 경쇄는 도 6에 제시된 아미노산 서열 (서열식별번호: 21 및 서열식별번호: 22)을 포함한다. 항-PD-1 항체는 종양의 요법을 위해 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 조합될 수 있다. 항-PD-1 항체는 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 조합될 수 있다. 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 항-PD-1 항체의 조합 사용을 포함할 수 있는 종양을 치료하는 방법이 또한 제공되고 개시된다.

[0061]

본원의 모든 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, 다중-RTK 억제제는 적어도 각각의 하기 RTK의 키나제 활성을 억제한다: (i) VEGFR2, (ii) FGFR1, 2, 3 및 4로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 FGFR; 및 (iii) RET. 일부 경우에, 다중-RTK 억제제는 또한 VEGFR1, VEGFR3, 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 수용체 FGFR1, 2, 3

및 4, 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF) 수용체 알파 (PDGFR α); 및 KIT의 키나제 활성을 억제한다.

[0062] 일부 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, 다중-RTK 억제제는 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염, 예컨대 렌바티닙 메실레이트이다.

[0063] 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, 개체는 인간이고, 암은 고형 종양이고, 일부 경우에, 고형 종양은 방광암, 유방암, 투명 세포 신장암, 두경부의 편평 세포 암종, 폐 편평 세포 암종, 악성 흑색종, NSCLC, 난소암, 췌장암, 전립선암, RCC, 소세포 폐암 (SCLC) 또는 삼중 음성 유방암이다. 암은 NSCLC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종일 수 있다.

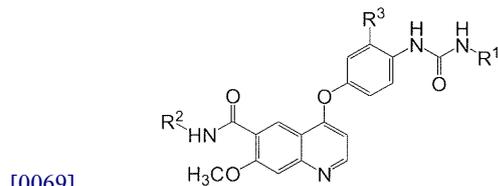
[0064] 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, 개체는 인간일 수 있고, 암은 헴 악성종양이고, 일부 경우에, 헴 악성종양은 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), EBV-양성 DLBCL, 원발성 종격 대 B-세포 림프종, T-세포/조직구-풍부 대 B-세포 림프종, 여포성 림프종, 호지킨 림프종 (HL), 외투 세포 림프종 (MCL), 다발성 골수종 (MM), 골수 세포 백혈병-1 단백질 (Mcl-1), 골수이형성 증후군 (MDS), 비-호지킨 림프종 (NHL), 또는 소림프구성 림프종 (SLL)이다.

[0065] 또한, 임의의 상기 치료 방법, 의약 및 용도는 암이 PD-L1 및 PD-L2 중 하나 또는 둘 다의 발현에 대해 양성 판정을 받은 경우에 이용될 수 있다. 또 다른 경우에, 암은 상승된 PD-L1 발현을 갖는다.

[0066] 일부 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, 개체는 인간이고, 암은 인간 PD-L1에 대해 양성 판정을 받았고 NSCLC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0067] 일부 상기 치료 방법, 의약 및 용도에서, 다중-RTK 억제제는 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이고:

[0068] <화학식 I>



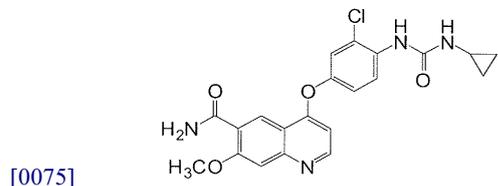
[0070] 여기서 R<sup>1</sup>은 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬이고, R<sup>2</sup>는 수소 원자 또는 C<sub>1-6</sub> 알콕시이고, R<sup>3</sup>은 수소 원자 또는 할로젠 원자이다. 종양 치료제는 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 항-PD-1 항체를 동시에 또는 개별적으로 투여할 수 있다. 종양 치료제는 동시에 또는 개별적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있고, 조성물은 항-PD-1 항체를 포함한다. 종양 치료제는 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 항-PD-1 항체를 포함할 수 있다.

[0071] 항-PD-1 항체와의 조합 사용을 위한 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 개시된다. 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 항-PD-1 항체와의 조합 사용에 의해 종양의 요법에 사용될 수 있다.

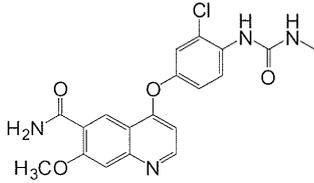
[0072] 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 항-PD-1 항체, 및 비히클을 포함할 수 있는 제약 조성물이 개시된다.

[0073] 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물은 바람직하게는 하기 화합물 중 하나 이상이다:

[0074] 4-[3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:

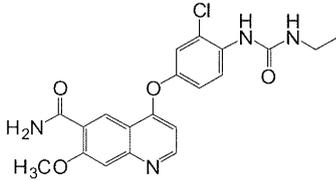


[0076] 4-[3-클로로-4-(메틸아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



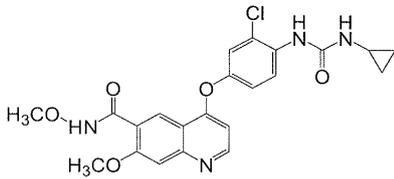
[0077]

[0078] 4-[3-클로로-4-(에틸아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



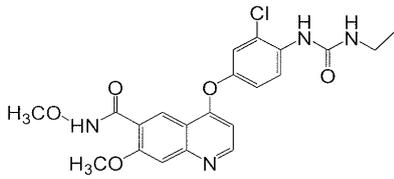
[0079]

[0080] N6-메톡시-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



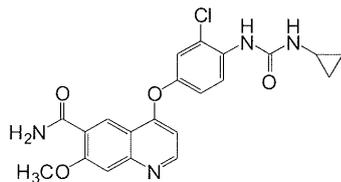
[0081]

[0082] 및 N6-메톡시-4-(3-클로로-4-((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드:



[0083]

[0084] 상기 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물은 보다 바람직하게는 4-[3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시]-7-메톡시-6-퀴놀린카르복스아미드이다:



[0085]

[0086] (이하에서, 또한 때때로 렌바티닙으로 나타낸다).

[0087] 다중-티로신 키나제 억제 작용을 갖는 화합물 및 항-PD-1 항체의 조합 사용을 위한 종양 치료제가 제공된다. 이러한 종양 치료제는 이들이 개별적으로 사용되는 경우에 비해 탁월한 항종양 효과를 나타내고, 다양한 암 유형에 대하여 항종양 효과를 나타낼 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0088] 도 1은 예시적인 항-PD-1 모노클로날 항체에 대한 경쇄 및 중쇄 CDR의 아미노산 서열 (서열식별번호: 1-6)을 보여준다.

도 2는 또 다른 예시적인 항-PD-1 모노클로날 항체에 대한 경쇄 및 중쇄 CDR의 아미노산 서열 (서열식별번호: 7-12)을 보여준다.

도 3은 예시적인 항-PD-1 모노클로날 항체에 대한 중쇄 가변 영역 및 전장 중쇄의 아미노산 서열 (서열식별번호: 13 및 서열식별번호: 14)을 보여준다.

도 4는 예시적인 항-PD-1 모노클로날 항체에 대한 대안적인 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열 (서열식별번호: 15-17)을 보여준다.

도 5a 및 5b는 예시적인 항-PD-1 모노클로날 항체에 대한 대안적인 경쇄의 아미노산 서열을 보여주며, 도 5a는 K09A-L-11 및 K09A-L-16 경쇄의 아미노산 서열 (각각, 서열식별번호: 18 및 19)을 보여주고 도 5b는 K09A-L-17 경쇄의 아미노산 서열 (서열식별번호: 20)을 보여준다.

도 6은 펌프블리주맙에 대한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열 (각각, 서열식별번호: 21 및 22)을 보여준다.

도 7은 니블루맙에 대한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열 (각각, 서열식별번호: 23 및 24)을 보여준다.

도 8은 피하 LL/2 (LLc1) 이식 모델에서의 렌바티닙, 항-PD-1 항체 (RMP 1-14), 및 둘 다의 조합의 항종양 효과를 도시하는 다이어그램이다.

도 9는 본원에 개시된 바와 같은 결장암을 갖는 마우스 모델에서 치료 시작으로부터 제11일에서의 항암 또는 항종양 효과를 보여준다.

도 10은 본원에 개시된 바와 같은 대조군, 개별 렌바티닙 또는 PD-L1, 및 렌바티닙 및 PD-L1의 조합에 대한 투여 후 일수에 의해 플롯팅된 종양 부피의 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0089] 약어. 상세한 설명 및 실시예 전반에 걸쳐 하기 약어가 사용될 것이다:

- [0090] BOR 최상의 전체 반응
- [0091] BID 1일 2회 1회분 투여
- [0092] CBR 임상 이익률
- [0093] CDR 상보성 결정 영역
- [0094] CHO 차이니스 햄스터 난소
- [0095] CR 완전 반응
- [0096] DCR 질환 제어율
- [0097] DFS 무질환 생존
- [0098] DLT 용량 제한 독성
- [0099] DOR 반응 지속기간
- [0100] DSDR 지속적인 안정 질환율
- [0101] FFPE 포르말린-고정, 파라핀-포매
- [0102] FR 프레임워크 영역
- [0103] IgG 이뮤노글로불린 G
- [0104] IHC 면역조직화학 또는 면역조직화학적
- [0105] irRC 면역 관련 반응 기준
- [0106] IV 정맥내
- [0107] MTD 최대 허용 용량
- [0108] NCBI 국립 생물 정보 센터
- [0109] NCI 국립 암 연구소
- [0110] ORR 객관적 반응률
- [0111] OS 전체 생존

- [0112] PD 진행성 질환
- [0113] PD-1 프로그램화된 사멸 1
- [0114] PD-L1 프로그램화된 세포 사멸 1 리간드 1
- [0115] PD-L2 프로그램화된 세포 사멸 1 리간드 2
- [0116] PFS 무진행 생존
- [0117] PR 부분 반응
- [0118] Q2W 2주마다 1회 투여
- [0119] Q3W 3주마다 1회 투여
- [0120] QD 1일에 1회 투여
- [0121] RECIST 고형 종양의 반응 평가 기준
- [0122] SD 안정 질환
- [0123] VH 이뮤노글로불린 중쇄 가변 영역
- [0124] VK 이뮤노글로불린 카파 경쇄 가변 영역
- [0125] I. 정의
- [0126] 방법, 조성물, 및 용도가 보다 용이하게 이해될 수 있도록, 특정 기술 및 과학 용어가 하기에 구체적으로 정의된다. 이 문헌의 다른 곳에서 구체적으로 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 다른 기술 및 과학 용어는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 갖는다.
- [0127] 수치적으로 정의되는 파라미터 (예를 들어, PD-1 길항제 또는 다중-RTK 억제제의 용량, 또는 본원에 기재된 조합 요법을 사용하는 치료 시간의 길이)를 수식하는 데 사용되는 경우 "약"은 파라미터가 그 파라미터에 대해 언급된 수치의 10% 미만 또는 그 초과만큼 달라질 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 약 20 mg의 용량은 18 mg 내지 22 mg에서 달라질 수 있다.
- [0128] "바람직하게는"은 보다 바람직한 선택을 의미한다. 예를 들어, 수치적으로 정의되는 파라미터를 수식하는 데 사용되는 경우, 그것은 바람직한 파라미터가 파라미터에 대한 또 다른 값보다 개선된 결과를 제공한다는 것을 나타낸다. "바람직하게는"의 이 의미는 단지 미국외에서만 적용된다.
- [0129] 첨부된 청구범위를 포함하여, 본원에 사용된 바와 같이, 단수 형태 용어는, 문맥상 달리 명백하게 지시되지 않는 한, 그의 상응하는 복수 지시대상을 포함한다.
- [0130] 동물, 인간, 실험 대상체, 세포, 조직, 기관, 또는 생물학적 유체에 적용된 바와 같은 "투여" 및 "치료"는 외인성 제약, 치료제, 진단제, 또는 조성물과 동물, 인간, 대상체, 세포, 조직, 기관 또는 생물학적 유체의 접촉을 지칭한다. 세포의 치료는 시약을 세포와 접촉시키는 것 뿐만 아니라 시약을 세포와 접촉되어 있는 유체와 접촉시키는 것을 포괄한다. "투여" 및 "치료"는 또한 예를 들어, 세포의, 시약, 진단, 결합 화합물에 의한, 또는 또 다른 세포에 의한, 시험관내 및 생체외 치료를 의미한다. 용어 "대상체"는 임의의 유기체, 바람직하게는 동물, 보다 바람직하게는 포유동물 (예를 들어, 래트, 마우스, 개, 고양이, 토끼) 및 가장 바람직하게는 인간을 포함한다.
- [0131] 본원에 사용된 용어 "항체"는 목적하는 생물학적 또는 결합 활성을 나타내는 항체의 임의의 형태를 지칭한다. 따라서, 이는 가장 넓은 의미로 사용되고, 구체적으로 모노클로날 항체 (전장 모노클로날 항체 포함), 폴리클로날 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 인간화, 완전 인간 항체, 키메라 항체 및 낙타화 단일 도메인 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "모 항체"는 항체의 의도된 사용을 위한 변형, 예컨대 인간 치료제로서 사용하기 위한 항체의 인간화 전에 항원에 대한 면역계의 노출에 의해 수득된 항체이다.
- [0132] 일반적으로, 기본 항체 구조 단위는 사량체를 포함한다. 각 사량체는 폴리펩티드 쇄의 2개의 동일한 쌍을 포함하는데, 각 쌍이 1개는 "경쇄" (약 25 kDa)를 갖고 1개는 "중쇄" (약 50-70 kDa)를 갖는다. 각 쇄의 아미노-말단 부분은 주로 항원 인식을 담당하는 약 100 내지 110개 또는 그 초과인 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 중쇄의 카르복시-말단 부분은 주로 이펙터 기능을 담당하는 불변 영역을 정의할 수 있다. 전형적으로, 인간 경

쇄는 카파 및 람다 경쇄로 분류된다. 게다가, 인간 중쇄는 전형적으로 뮤, 델타, 감마, 알파, 또는 엡실론으로 분류되고, 각각 IgM, IgD, IgG, IgA, 및 IgE로서 항체의 이소형을 규정한다. 경쇄 및 중쇄 내에서, 가변 및 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산의 "J" 영역에 의해 연결되며, 이 때 중쇄는 또한 약 10개 더 많은 아미노산의 "D" 영역을 포함한다. 일반적으로, 문헌 [Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))]을 참조한다.

- [0133] 각각의 경쇄/중쇄 쌍의 가변 영역은 항체 결합 부위를 형성한다. 따라서, 일반적으로, 무손상 항체는 2개의 결합 부위를 갖는다. 이중기능적 또는 이중특이적 항체를 제외하고는, 2개의 결합 부위는 일반적으로 동일하다.
- [0134] 전형적으로, 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 도메인은 비교적 보존된 프레임워크 영역 (FR) 내에 위치하는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로도 불리는 3개의 초가변 영역을 포함한다. CDR은 통상적으로 프레임워크 영역에 의해 정렬되며, 이는 특정한 에피토프에 결합하는 것을 가능하게 한다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다는 N-말단에서부터 C-말단으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 아미노산을 각 도메인에 할당하는 것은 일반적으로, 문헌 [Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md. ; 5<sup>th</sup> ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32: 1-75; Kabat, et al., (1977) J. Biol. Chem. 252: 6609-6616; Chothia, et al., (1987) J Mol. Biol. 196: 901-917 또는 Chothia, et al., (1989) Nature 342: 878-883]의 정의에 따른다.
- [0135] 본원에 사용된 용어 "초가변 영역"은 항원-결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기를 지칭한다. 초가변 영역은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR" (즉, 경쇄 가변 도메인 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 및 중쇄 가변 도메인 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3)로부터의 아미노산 잔기를 포함한다. 문헌 [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.] (서열에 의해 항체의 CDR 영역을 정의함)을 참조하고; 또한 문헌 [Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917] (구조에 의해 항체의 CDR 영역을 정의함)을 참조한다. 본원에 사용된 용어 "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 CDR 잔기로서 본원에 정의된 초가변 영역 잔기 이외의 가변 도메인 잔기를 지칭한다.
- [0136] 본원에서 사용된 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한, "항체 단편" 또는 "항원 결합 단편"은 항체의 항원 결합 단편, 즉 전장 항체가 결합된 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 항체 단편, 예를 들어, 하나 이상의 CDR 영역을 유지하는 단편을 지칭한다. 항체 결합 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자, 예를 들어 sc-Fv; 나노바디 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0137] 명시된 표적 단백질에 "특이적으로 결합하는" 항체는 다른 단백질에 비해 이러한 표적에 대한 우선적인 결합을 나타내는 항체이지만, 이러한 특이성은 절대적인 결합 특이성을 요구하지는 않는다. 항체는 그의 결합이, 예를 들어 목적하지 않는 결과 예컨대 가양성을 생성하지 않으면서, 샘플 중 표적 단백질의 존재를 결정하는 경우, 그의 의도된 표적에 대해 "특이적"인 것으로 간주된다. 항체 또는 그의 결합 단편은 비-표적 단백질과의 친화도보다 적어도 2배 더 큰, 바람직하게는 적어도 10배 더 큰, 보다 바람직하게는 적어도 20배 더 큰, 가장 바람직하게는 적어도 100배 더 큰 친화도로 표적 단백질에 결합할 것이다. 본원에 사용된 바와 같이, 항체가 주어진 아미노산 서열, 예를 들어 성숙 인간 PD-1 또는 인간 PD-L1 분자의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에는 결합하지만 그 서열이 결합되어 있는 단백질에는 결합하지 않는 경우, 항체는 그 서열을 포함하는 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 것으로 언급된다.
- [0138] "키메라 항체"는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부는 특정 종 (예를 들어, 인간)으로부터 유래되거나 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 한편, 쇄(들)의 나머지는 또 다른 종 (예를 들어, 마우스)으로부터 유래되거나 또 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 항체, 뿐만 아니라 목적하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이러한 항체의 단편을 지칭한다.
- [0139] "인간 항체"는 단지 인간 이뮤노글로불린 단백질 서열만을 포함하는 항체를 지칭한다. 인간 항체는 마우스, 마우스 세포, 또는 마우스 세포로부터 유래된 하이브리도마에서 생산되는 경우에 무린 탄수화물 쇄를 함유할 수 있다. 유사하게, "마우스 항체" 또는 "랫트 항체"는 각각, 단지 마우스 또는 랫트 이뮤노글로불린 서열만을 포함하는 항체를 지칭한다.
- [0140] "인간화 항체"는 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체 뿐만 아니라 인간 항체로부터의 서열을 함유하는 항체의 형태를 지칭한다. 이러한 항체는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유한다. 일반적으로, 인

간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 또한 임의로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 이뮤노글로불린의 그것을 포함할 것이다. 접두어 "hum", "hu" 또는 "h"는 인간화 항체를 모 설치류 항체로부터 구분하기 위해 필요한 경우 항체 클론 명칭에 추가된다. 설치류 항체의 인간화 형태는 일반적으로 모 설치류 항체의 동일한 CDR 서열을 포함할 것이지만, 친화도를 증가시키기 위해, 인간화 항체의 안정성을 증가시키기 위해, 또는 다른 이유를 위해 특정 아미노산 치환이 포함될 수 있다.

- [0141] 치료 요법, 예컨대 본원에 기재된 조합 요법으로 치료되는 암 환자를 지칭하는 경우 "항종양 반응"은, 적어도 하나의 양성 치료 효과, 예컨대 예를 들어, 감소된 암 세포의 수, 감소된 종양 크기, 감소된 말초 기관 내로의 암 세포 침윤 속도, 감소된 종양 전이 또는 종양 성장 속도, 또는 무진행 생존을 의미한다. 암에서의 양성 치료 효과는 다수의 방식으로 측정될 수 있다 (문헌 [W. A. Weber, J. Null. Med. 50: 1S-10S (2009); Eisenhauer et al., 상기 문헌] 참조). 일부 경우에, 본원에 기재된 조합 요법에 대한 항종양 반응은 RECIST 1.1 기준 (고형 종양의 반응 평가 기준), 2차원 irRC (면역 관련 반응 기준), 또는 1차원 irRC를 사용하여 평가된다. 일부 경우에, 항종양 반응은 SD, PR, CR, PFS, 또는 DFS 중 임의의 것이다.
- [0142] "2차원 irRC"는 문헌 [Wolchok JD, et al. "Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria," Clin Cancer Res. 2009;15(23): 7412-7420]에 기재된 기준 세트를 지칭한다. 이들 기준은 각 병변의 가장 긴 직경 및 가장 긴 수직 직경을 곱함 (cm<sup>2</sup>)으로써 획득된 표적 병변의 2차원 종양 측정값을 이용한다.
- [0143] "생물요법제"는 종양 유지 및/또는 성장을 지지하거나 또는 항종양 면역 반응을 억제하는 임의의 생물학적 경로 내의 리간드 / 수용체 신호전달을 차단하는 생물학적 분자, 예컨대 항체 또는 용해 단백질질을 의미한다. 생물요법제의 부류는 VEGF, 표피 성장 인자 수용체 (EGFR), Her2/neu, 다른 성장 인자 수용체, CD20, CD40, CD-40L, CTLA-4, OX-40, 4-1BB, 및 ICOS에 대한 항체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0144] 용어 "암", "암성", "종양" 또는 "악성"은 전형적으로 비조절된 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 조건을 지칭 또는 기재한다. 암의 예는 암종, 림프종, 백혈병, 모세포종, 및 육종을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 암의 보다 특정한 예는 편평 세포 암종, 골수종, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 신경교종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 백혈병 (AML), 다발성 골수종, 선종, 신경초종, 위장(관) 암, 위암, 신암, 담낭암, 난소암, 간암, 림프구성 백혈병, 림프구성 백혈병, 결장직장암, 자궁내막암, 신장암, 전립선암, 갑상선암, 흑색종, 연골육종, 신경모세포종, 췌장암, 다형성 교모세포종, 자궁경부암, 뇌암, 위암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장 암종, 자궁내막암, 자궁체암, 자궁경부암 및 두경부암을 포함한다. 암의 또 다른 특정한 예는 신세포 암종을 포함한다. 암의 추가의 특정한 예는 투명 세포 신장암을 포함한다. 개시된 치료 방법, 의약, 및 개시된 용도에 따라 치료될 수 있는 암은 시험된 조직 샘플에서의 PD-L1 및 PD-L2 중 하나 또는 둘 다의 상승된 발현을 특징으로 하는 것들을 포함한다.
- [0145] "CBR" 또는 "임상 이익률"은 CR + PR + 지속적인 SD를 의미한다.
- [0146] 본원에 사용된 "CDR" 또는 "CDR들"은, 달리 나타내지 않는 한, 카바트 넘버링 시스템을 사용하여 정의된 이뮤노글로불린 가변 영역에서의 상보성 결정 영역(들)을 의미한다.
- [0147] "화학요법제"는 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학요법제의 부류는 다음을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다: 알킬화제, 항대사물, 키나제 억제제, 방추체 독 식물 알칼로이드, 세포독성/항종양 항생제, 토포이소머라제 억제제, 광증감제, 항에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM), 항-프로게스테론, 에스트로겐 수용체 하향-조절제 (ERD), 에스트로겐 수용체 길항제, 황체형성 호르몬-방출 호르몬 효능제, 항안드로겐, 아로마타제 억제제, EGFR 억제제, VEGF 억제제 및 비정상 세포 증식 또는 종양 성장에 연루된 유전자의 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드. 본원에 개시된 치료 방법에 유용한 화학요법제는 세포증식억제제 및/또는 세포독성제를 포함한다.
- [0148] 본원에 사용된 "코티아"는 문헌 [Al-Lazikani et al., JMB 273: 927-948 (1997)]에 기재된 항체 넘버링 시스템을 의미한다.
- [0149] "포함하는" 또는 변형 예컨대 "포함하다", "포함한다" 또는 "로 구성된다"는 언어 또는 필요한 함축을 표현하기 위해 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐 포괄적인 의미로, 즉 언급된 특색의 존재를 명시하지만, 임의의 개시된 치료 방법, 의약, 및 개시된 용도의 작용 또는 유용성을 실질적으로 증진시킬 수

있는 추가적인 특색의 존재 또는 추가를 배제하지 않도록 사용된다.

[0150] "보존적으로 변형된 변이체" 또는 "보존적 치환"은 단백질 내의 아미노산을, 유사한 특징 (예를 들어, 전하, 측쇄 크기, 소수성/친수성, 백본 입체형태 및 강성 등)을 갖는 다른 아미노산으로 치환하여, 단백질의 생물학적 활성 또는 다른 목적하는 특성, 예컨대 항원 친화도 및/또는 특이성을 변경시키지 않으면서 변화가 빈번하게 이루어질 수 있도록 하는 것을 지칭한다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는, 일반적으로 폴리펩티드의 비-필수 영역 내 단일 아미노산 치환이 생물학적 활성을 실질적으로 변경시키지 않는다는 것을 인식한다 (예를 들어, 문헌 [Watson et al. (1987) Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)] 참조). 게다가, 구조적으로 또는 기능적으로 유사한 아미노산의 치환은 생물학적 활성을 방해할 가능성이 적다. 예시적인 보존적 치환은 하기 표 1에 제시된다.

[0151] 표 1. 예시적인 보존적 아미노산 치환

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

[0152]

[0153] 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐 사용된 "로 본질적으로 이루어진다", 및 변형 예컨대 "로 본질적으로 이루어진다" 또는 "로 본질적으로 이루어진"은 임의의 열거된 요소 또는 요소 군의 포함, 및 명시된 투여 요법, 방법, 또는 조성물의 기본 또는 신규 특성을 실질적으로 변화시키지 않는, 열거된 요소 이외의 유사한 또는 상이한 특성의 다른 요소의 임의적인 포함을 나타낸다. 비-제한적인 예로서, 열거된 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진 PD-1 길항제는 또한 결합 화합물의 특성에 실질적으로 영향을 미치지 않는, 하나 이상의 아미노산 잔기의 치환을 포함하는, 하나 이상의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0154] "DCR" 또는 "질환 제어율"은 CR + PR + SD를 의미한다.

[0155] "진단 항-PD-L 모노클로날 항체"는 특정 포유동물 세포의 표면 상에서 발현되는 성숙 형태의 지정된 PD-L (PD-L1 또는 PD-L2)에 특이적으로 결합하는 mAb를 의미한다. 성숙 PD-L은, 리더 펩티드로 또한 지칭되는 분비전 리더 서열이 결여되어 있다. 용어 "PD-L" 및 "성숙 PD-L"은 달리 나타내지 않는 한 또는 문맥으로부터 용이하게

명백하지 않는 한 본원에서 상호교환가능하게 사용되고, 동일한 분자를 의미하는 것으로 이해될 것이다.

[0156] 본원에 사용된 진단 항-인간 PD-L1 mAb 또는 항-hPD-L1 mAb는 성숙 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체를 지칭한다. 성숙 인간 PD-L1 분자는 하기 서열의 아미노산 19-290으로 이루어진다:

```
MRIFAVFI FMTYWHL LNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDK
NIIQFVHG EEDLKVQHSSYRQRARLLKQQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYK
RITVKVNAPY NKINQRILVVDVPTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTNSKR
EEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERHTLVILGAIL
LCLGVALTFIFRLRKRGRMMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLEET (SEQ ID NO:25)
```

[0157]

[0158] FFPE 종양 조직 절편에서의 PD-L1 발현의 IHC 검출을 위한 진단 mAb로서 유용한 진단 항-인간 PD-L1 mAb의 구체적 예는 2013년 12월 18일에 출원되고 2014년 6월 26일에 WO2014/100079로 공개된 공동계류 중인 국제 특허 출원 PCT/US13/075932에 기재된 항체 20C3 및 항체 22C3이다. FFPE 조직 절편에서의 PD-L1 발현의 IHC 검출에 유용한 것으로 보고된 바 있는 또 다른 항-인간 PD-L1 mAb (Chen, B.J. et al., Clin Cancer Res 19: 3462-3473 (2013))는 시노 바이올로지칼, 인크.(Sino Biological, Inc.) (중국 베이징; 카탈로그 번호 10084-R015)로부터 공중 이용가능한 토끼 항-인간 PD-L1 mAb이다.

[0159] "DSDR" 또는 "지속적인 안정 질환율"은  $\geq 23$ 주 동안의 SD를 의미한다.

[0160] 본원에 사용된 "프레임워크 영역" 또는 "FR"은 CDR 영역을 제외한 이뮤노글로불린 가변 영역을 의미한다.

[0161] "상동성"은 2개의 폴리펩티드 서열이 최적으로 정렬된 경우 그들 사이의 서열 유사성을 지칭한다. 비교되는 2개의 서열 둘 다에서의 위치가 동일한 아미노산 단량체 서브유닛에 의해 점유되어 있는 경우, 예를 들어, 2개의 상이한 Ab의 경쇄 CDR에서의 위치가 알라닌에 의해 점유되어 있는 경우에 2개의 Ab는 그 위치에서 상동성이다. 상동성의 퍼센트는 2개의 서열에 의해 공유되는 상동성 위치의 수를 비교되는 위치의 총 수로 나눈 것  $\times 100$ 이다. 예를 들어, 서열이 최적으로 정렬되었을 때 2개의 서열에서의 위치 10개 중 8개가 매치되거나 상동성인 경우에, 2개의 서열은 80% 상동성이다. 일반적으로, 비교는 2개의 서열이 최대 퍼센트 상동성을 제공하도록 정렬되었을 때 이루어진다. 예를 들어, 비교는, 미국 국립 의학 도서관의 등록 상표인 베이직 로컬 얼라인먼트 서치 툴 (BLAST®) 알고리즘에 의해 수행될 수 있으며, 여기서 알고리즘의 파라미터는 각 참조 서열의 전체 길이에 걸쳐 각 서열 사이의 최대 매치를 제공하도록 선택된다.

[0162] 하기 대표적인 참고문헌은 서열 분석에 종종 사용되는 BLAST® 알고리즘에 관한 것이다: 문헌 [BLAST ALGORITHMS: Altschul, S.F., et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W., et al., (1993) Nature Genet. 3:266-272; Madden, T.L., et al., (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) Genome Res. 7:649-656; Wootton, J.C., et al., (1993) Comput. Chem. 17:149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555-565; States, D.J., et al., (1991) Methods 3:66-70; Henikoff, S., et al., (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919; Altschul, S.F., et al., (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268; Karlin, S., et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877; Dembo, A., et al., (1994) Ann. Prob. 22:2022-2039; 및 Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York].

[0163] "단리된 항체" 및 "단리된 항체 단편"은 정제 상태를 지칭하고, 이러한 맥락에서 명명된 분자에 다른 생물학적 분자 예컨대 핵산, 단백질, 지질, 탄수화물, 또는 다른 물질 예컨대 세포 파편 및 성장 배지가 실질적으로 없다는 것을 의미한다. 일반적으로, 용어 "단리된"은 본원에 기재된 바와 같은 결합 화합물의 실험 또는 치료 용도를 실질적으로 방해하는 양으로 존재하지 않는 한, 이러한 물질의 완전한 부재 또는 물, 완충제 또는 염의 부재

를 지칭하도록 의도되지 않는다.

- [0164] 본원에 사용된 "카바트"는 엘빈 에이. 카바트(Elvin A. Kabat)에 의해 개척된 이뮤노글로불린 정렬 및 넘버링 시스템을 의미한다 ((1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.).
- [0165] 본원에 사용된 "모노클로날 항체" 또는 "mAb" 또는 "Mab"는, 실질적으로 동종인 항체의 집단을 지칭하고, 즉 집단을 포함하는 항체 분자는 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 아미노산 서열에서 동일하다. 대조적으로, 통상적인 (폴리클로날) 항체 제제는 전형적으로, 상이한 에피토프에 대해 종종 특이적인 그의 가변 도메인, 특히 그의 CDR에서 상이한 아미노산 서열을 갖는 다수의 상이한 항체를 포함한다. 수식어 "모노클로날"은 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 획득됨에 따른 항체의 특징을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 예를 들어, 치료 방법, 의약, 및 개시된 용도에 따라 사용될 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al. (1975) Nature 256: 495]에 최초로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 만들어질 수 있거나 또는 재조합 데옥시리보핵산 (DNA) 방법에 의해 만들어질 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조). "모노클로날 항체"는 또한, 예를 들어 문헌 [Clackson et al. (1991) Nature 352: 624-628 및 Marks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597]에 기재된 기술을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 또한 문헌 [Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116:731]을 참조한다.
- [0166] "비-반응자 환자"는, 본원에 기재된 조합 요법으로의 치료에 대한 특정 항종양 반응을 지칭하는 경우, 환자가 항종양 반응을 나타내지 않았다는 것을 의미한다.
- [0167] "ORR" 또는 "객관적 반응률"은 일부 경우에 CR + PR을 지칭하고, ORR<sub>(제24주)</sub>은 펙브롤리주맵과 조합된 렌바티닙 메실레이트로의 치료 24주 후에 코호트에서 각각의 환자에서 irRECIST를 사용하여 측정된 CR 및 PR을 지칭한다.
- [0168] "환자" 또는 "대상체"는 요법이 요구되거나 또는 임상 시험, 역학적 연구에 참여 중이거나 또는 대조군으로서 사용되는 임의의 단일 대상체를 지칭하며 인간 및 포유동물 수의학적 환자, 예컨대 소, 말, 개, 및 고양이를 포함한다.
- [0169] "PD-1 길항제"는 암 세포 상에서 발현되는 PD-L1이 면역 세포 (T 세포, B 세포 또는 NKT 세포) 상에서 발현되는 PD-1에 결합하는 것을 차단하고, 바람직하게는 암 세포 상에서 발현되는 PD-L2가 면역 세포 발현된 PD-1에 결합하는 것을 또한 차단하는 임의의 화학적 화합물 또는 생물학적 분자를 의미한다. PD-1 및 그의 리간드에 대한 대안적 명칭 또는 동의어는 하기를 포함한다: PD-1에 대하여 PDCD1, PD1, CD279 및 SLEB2; PD-L1에 대하여 PDCD1L1, PDL1, B7H1, B7-4, CD274 및 B7-H; 및 PD-L2에 대하여 PDCD1L2, PDL2, B7-DC, Btdc 및 CD273. 인간 개체를 치료하는 임의의 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서, PD-1 길항제는 인간 PD-1에 대한 인간 PD-L1의 결합을 차단하고, 바람직하게는 인간 PD-1에 대한 인간 PD-L1 및 PD-L2 둘 다의 결합을 차단한다. 인간 PD-1 아미노산 서열은 NCBI 로커스 번호 NP\_005009에서 찾아볼 수 있다. 인간 PD-L1 및 PD-L2 아미노산 서열은 각각 NCBI 로커스 번호 NP\_054862 및 NP\_079515에서 찾아볼 수 있다. PD-1 길항제는 항-PD-L1 모노클로날 항체 MPDL3280A가 아니다.
- [0170] 임의의 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서 유용한 PD-1 길항제는 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하고, 바람직하게는 인간 PD-1 또는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 모노클로날 항체 (mAb), 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. mAb는 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체일 수 있고, 인간 불변 영역을 포함할 수 있다. 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 바람직하게는 인간 불변 영역은 IgG1 또는 IgG4 불변 영역이다. 일부 경우에, 항원 결합 단편은 Fab, Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, scFv 및 Fv 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0171] 인간 PD-1에 결합하고, 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서 유용한 mAb의 예는 US7488802, US7521051, US8008449, US8354509, US8168757, WO2004/004771, WO2004/072286, WO2004/056875, 및 US2011/0271358에 기재되어 있다. 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서 PD-1 길항제로서 유용한 특정 항-인간 PD-1 mAb는 하기를 포함한다: 문헌 [WHO Drug Information, Vol. 27, No. 2, pages 161-162 (2013)]에 기재된 구조를 갖고 도 6에 제시된 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 인간화 IgG4 mAb인 펙브롤리주맵 (또한 MK-3475로 공지됨), 문헌 [WHO Drug Information, Vol. 27, No. 1, pages 68-69 (2013)]에 기재된 구조를 갖고 도 7에 제시된 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 인간화 IgG4 mAb인 니블루맵 (BMS-936558), 인간화 모노클로날 항체인 피딜리주맵, AMP-224, 및 AMP-514; WO2008/156712에 기재된 인간화 항체 h409A11, h409A16 및 h409A17 및 메드이분

(MedImmune)에 의해 개발 중인 AMP-514.

- [0172] 인간 PD-L1에 결합하고, 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서 유용한 mAb의 예는 W02013/019906, W02010/077634 A1 및 US8383796에 기재되어 있다. 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서 PD-1 길항제로서 유용한 특정 항-인간 PD-L1 mAb는 MPDL3280A, BMS-936559, MEDI4736, MSB0010718C, 및 W02013/019906의 각각 서열 식별번호: 24 및 서열식별번호: 21의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 포함한다.
- [0173] 임의의 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서 유용한 다른 PD-1 길항제는 PD-1 또는 PD-L1에 특이적으로 결합하고, 바람직하게는 인간 PD-1 또는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 이뮤노어드헤신, 예를 들어, 이뮤노글로불린 분자의 불변 영역 예컨대 Fc 영역에 융합된 PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분을 함유하는 융합 단백질을 포함한다. PD-1에 특이적으로 결합하는 면역부착 분자의 예는 W02010/027827 및 W02011/066342에 기재되어 있다. 본원에 기재된 치료 방법, 의약 및 용도에서 PD-1 길항제로서 유용한 특정 융합 단백질은 PD-L2-FC 융합 단백질이고 인간 PD-1에 결합하는 AMP-224 (또한 B7-DCIg로서 공지됨)를 포함한다.
- [0174] 치료 방법, 의약 및 개시된 용도는 (a) 경쇄 CDR 서열식별번호: 1, 2 및 3 및 중쇄 CDR 서열식별번호: 4, 5 및 6; 또는 (b) 경쇄 CDR 서열식별번호: 7, 8 및 9 및 중쇄 CDR 서열식별번호: 10, 11 및 12를 포함하는 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편인 PD-1 길항제를 제공한다.
- [0175] 치료 방법, 의약 및 개시된 용도는 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고 (a) 서열식별번호: 13 또는 그의 변이체를 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 (b) 서열식별번호: 15 또는 그의 변이체; 서열식별번호: 16 또는 그의 변이체; 및 서열식별번호: 17 또는 그의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편인 PD-1 길항제를 제공한다. 중쇄 가변 영역 서열의 변이체는 프레임워크 영역 (즉, CDR의 외부)에 17개 이하의 보존적 아미노산 치환을 갖고, 바람직하게는 프레임워크 영역에 10, 9, 8, 7, 6 또는 5개 미만의 보존적 아미노산 치환을 갖는 것을 제외하고는 참조 서열과 동일하다. 경쇄 가변 영역 서열의 변이체는 프레임워크 영역 (즉, CDR의 외부)에 5개 이하의 보존적 아미노산 치환을 갖고, 바람직하게는 프레임워크 영역에 4, 3 또는 2개 미만의 보존적 아미노산 치환을 갖는 것을 제외하고는 참조 서열과 동일하다.
- [0176] 임의의 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에 대한 PD-1 길항제는, 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고 (a) 서열식별번호: 14를 포함하는 중쇄 및 (b) 서열식별번호: 18, 서열식별번호: 19 또는 서열식별번호: 20을 포함하는 경쇄를 포함하는 모노클로날 항체일 수 있다.
- [0177] 치료 방법, 의약 및 개시된 용도는 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고 (a) 서열식별번호: 14를 포함하는 중쇄 및 (b) 서열식별번호: 18을 포함하는 경쇄를 포함하는 모노클로날 항체인 PD-1 길항제를 제공한다.
- [0178] 하기 표 2는 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에서 사용하기 위한 예시적인 항-PD-1 mAb의 아미노산 서열의 목록을 제공하고, 서열은 도 1-5b에 제시된다.

<b>표 2. 예시적인 항-인간 PD-1 모노클로날 항체</b>	
<b>A. WO2008/156712에서의 hPD-1.08A의 경쇄 및 중쇄 CDR을 포함함</b>	
CDRL1	SEQ ID NO:1
CDRL2	SEQ ID NO:2
CDRL3	SEQ ID NO:3
CDRH1	SEQ ID NO:4
CDRH2	SEQ ID NO:5
CDRH3	SEQ ID NO:6
<b>B. WO2008/156712에서의 hPD-1.09A의 경쇄 및 중쇄 CDR을 포함함</b>	
CDRL1	SEQ ID NO:7
CDRL2	SEQ ID NO:8
CDRL3	SEQ ID NO:9
CDRH1	SEQ ID NO:10
CDRH2	SEQ ID NO:11
CDRH3	SEQ ID NO:12
<b>C. WO2008/156712에서의 성숙 h109A 중쇄 가변 영역을 포함하고 성숙 K09A 경쇄 가변 영역 중 하나를 포함함</b>	
중쇄 VR	SEQ ID NO:13
경쇄 VR	SEQ ID NO:15 또는 SEQ ID NO:16 또는 SEQ ID NO:17
<b>D. WO2008/156712에서의 성숙 409 중쇄를 포함하고 성숙 K09A 경쇄 중 하나를 포함함</b>	
중쇄	SEQ ID NO:14
경쇄	SEQ ID NO:18 또는 SEQ ID NO:19 또는 SEQ ID NO:20

[0179]

[0180]

본원에 사용된 "PD-L1" 또는 "PD-L2" 발현은 세포 표면 상의 지정된 PD-L 단백질의 또는 세포 또는 조직 내에서의 지정된 PD-L mRNA의 임의의 검출가능한 수준의 발현을 의미한다. PD-L 단백질 발현은 종양 조직 절편의 IHC 검정에서의 진단 PD-L 항체로, 또는 유동 세포측정법에 의해 검출될 수 있다. 대안적으로, 종양 세포에 의한 PD-L 단백질 발현은 목적하는 PD-L 표적, 예를 들어 PD-L1 또는 PD-L2에 특이적으로 결합하는 결합제 (예를 들어, 항체 단편, 아피타디 등)를 사용하여 양전자 방출 단층촬영 (PET) 영상화에 의해 검출될 수 있다. PD-L mRNA 발현을 검출하고 측정하기 위한 기술은 RT-PCR 및 실시간 정량적 RT-PCR을 포함한다.

[0181]

종양 조직 절편의 IHC 검정에서 PD-L1 단백질 발현을 정량화하기 위한 여러 접근법이 기재된 바 있다. 예를 들어, 문헌 [Thompson, R. H., et al., PNAS 101 (49): 17174-17179 (2004); Thompson, R. H. et al., Cancer Res. 66:3381-3385 (2006); Gadiot, J., et al., Cancer 117:2192-2201 (2011); Taube, J. M. et al., Sci Transl Med 4, 127ra37 (2012); 및 Toplian, S. L. et al., New Eng. J Med. 366 (26): 2443-2454 (2012)]을 참조한다.

[0182]

하나의 접근법은 PD-L1 발현에 대해 양성 또는 음성인 단순한 이원 중점을 사용하며, 양성 결과는 세포-표면 막 염색의 조직학적 증거를 나타내는 종양 세포의 백분율의 관점에서 정의된다. PD-L1 발현이 총 종양 세포의 적어도 1%, 및 바람직하게는 5%인 경우, 종양 조직 절편은 양성인 것으로 계수된다.

[0183]

또 다른 접근법에서, 종양 조직 절편에서의 PD-L1 발현은 종양 세포 뿐만 아니라 림프구를 우선하게 포함하는 침윤 면역 세포에서 정량화된다. 막 염색을 나타내는 종양 세포 및 침윤 면역 세포의 백분율은 개별적으로 < 5%, 5 내지 9%, 및 이후 10% 증분으로 100%까지 정량화된다. 종양 세포의 경우, PD-L1 발현은 스코어가 < 5%

스코어인 경우 음성, 및 스코어가  $\geq 5\%$ 인 경우 양성으로 계수된다. 면역 침윤물에서의 PD-L1 발현은 보정된 염증 스코어 (AIS)로 불리는 반-정량적 측정으로서 보고되며, 이는 없음 (0), 경도 (스코어 1, 희귀 림프구), 중등도 (스코어 2, 림프조직구성 응집체에 의한 종양의 초점성 침윤), 또는 심함 (스코어 3, 미만성 침윤)으로서 등급화되는 침윤물의 강도를 막 염색 세포의 퍼센트에 곱함으로써 결정된다. 종양 조직 절편은 AIS가  $\geq 5$ 인 경우 면역 침윤물에 의해 PD-L1 발현에 대해 양성인 것으로 계수된다.

- [0184] PD-L mRNA 발현의 수준은 정량적 RT-PCR에 빈번하게 사용되는 1종 이상의 참조 유전자, 예컨대 유비퀴틴 C의 mRNA 발현 수준과 비교될 수 있다.
- [0185] 일부 경우에, 악성 세포에 의한 및/또는 종양 내의 침윤 면역 세포에 의한 PD-L1 발현 (단백질 및/또는 mRNA)의 수준은 적절한 대조군에 의한 PD-L1 발현 (단백질 및/또는 mRNA)의 수준과의 비교에 기초하여 "과다발현된" 또는 "상승된" 것으로 결정된다. 예를 들어, 대조군 PD-L1 단백질 또는 mRNA 발현 수준은 동일한 유형의 비-악성 세포에서 또는 매칭된 정상 조직 (즉, 비-악성 조직)으로부터의 절편에서 정상화된 수준일 수 있다. 종양 샘플에서의 PD-L1 발현은 바람직하게는 샘플에서의 PD-L1 단백질 (및/또는 PD-L1 mRNA)이 대조군에서보다 적어도 10%, 20%, 또는 30% 더 큰 경우에 상승된 것으로 결정된다.
- [0186] "웹브롤리주맵 바이오시밀러"는 머크 & 캄파니, 인크. d.b.a. 머크 샤프 앤 돔 (MSD) (Merck & Co., Inc. d.b.a. Merck Sharp and Dohme (MSD)) 이외의 엔티티에 의해 제조되고 임의의 국가에서 규제 기관에 의해 웹브롤리주맵 바이오시밀러로 시판되도록 승인받은 생물학적 제품을 의미한다. 웹브롤리주맵 바이오시밀러는 웹브롤리주맵 변이체 또는 웹브롤리주맵과 동일한 아미노산 서열을 갖는 항체를 약물 물질로서 포함할 수 있다.
- [0187] 본원에 사용된 "웹브롤리주맵 변이체"는 경쇄 CDR 외부에 위치하는 위치에 3, 2 또는 1개의 보존적 아미노산 치환 및 중쇄 CDR 외부에 위치한 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 보존적 아미노산 치환을 갖는 것을 제외하고는, 웹브롤리주맵에서의 것과 동일한 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 모노클로날 항체를 의미하고, 예를 들어, 변이체 위치는 FR 영역 및/또는 불변 영역 내에 위치한다. 다시 말해서, 웹브롤리주맵 및 웹브롤리주맵 변이체는 동일한 CDR 서열을 포함하지만, 각각 이들의 전장 경쇄 및 중쇄 서열 내의 3 또는 6개 이하의 다른 위치에 보존적 아미노산 치환을 갖기 때문에 서로 상이하다. 웹브롤리주맵 변이체는 하기 특성과 관련하여 웹브롤리주맵과 실질적으로 동일하다: PD-1에 대한 결합 친화도 및 PD-1에 대한 각 PD-L1 및 PD-L2의 결합을 차단하는 능력.
- [0188] 본원에 사용된 "RECIST 1.1 반응 기준"은 적절하게는 반응이 측정되고 있는 맥락에 기초하여, 표적 병변 또는 비표적 병변에 대해 문헌 [Eisenhauer et al., E.A. et al., Eur. J Cancer 45:228-247 (2009)]에 제시된 정의를 의미한다.
- [0189] "반응자 환자"는, 본원에 기재된 조합 요법으로의 치료에 대한 특정 항종양 반응을 지칭하는 경우, 환자가 항종양 반응을 나타내었다는 것을 의미한다.
- [0190] "지속 반응"은 치료제 또는 본원에 기재된 조합 요법으로의 치료의 중지 후의 지속되는 치료 효과를 의미한다. 일부 경우에, 지속 반응은 치료 지속기간과 적어도 동일하거나, 치료 지속기간보다 적어도 1.5, 2.0, 2.5 또는 3배 더 긴 지속기간을 갖는다.
- [0191] "조직 절편"은 조직 샘플의 단일 부분 또는 조각, 예를 들어, 정상 조직의 또는 종양의 샘플로부터 절단된 얇은 조직 슬라이스를 지칭한다.
- [0192] 본원에 사용된 암을 "치료하다" 또는 "치료하는"은 암을 갖거나 또는 암으로 진단된 대상체에게 PD-1 길항제 및 다중-RTK 억제제의 조합 요법을 투여하여, 적어도 하나의 양성 치료 효과, 예컨대 예를 들어, 감소된 암 세포 수, 감소된 종양 크기, 감소된 말초 기관 내로의 암 세포 침윤 속도, 또는 감소된 종양 전이 또는 종양 성장 속도를 달성하는 것을 의미한다. 암에서의 양성 치료 효과는 다수의 방식으로 측정될 수 있다 (문헌 [W. A. Weber, J. Nucl. Med. 50:1S-10S (2009)] 참조). 예를 들어, 종양 성장 억제와 관련하여, NCI 표준에 따르면  $T/C \leq 42\%$ 가 최소 수준의 항종양 활성이다.  $T/C < 10\%$ 는 높은 항종양 활성 수준으로 간주되며,  $T/C (\%) =$  치료된 것의 종양 부피/대조군의 종양 부피  $\times 100$ 이다. 일부 경우에, 본원에 기재된 조합 요법에 대한 반응은 RECIST 1.1 기준 또는 irRC (2차원 또는 1차원)를 사용하여 평가되고 다중-RTK 억제제 및 PD-1 길항제의 조합에 의해 달성된 치료는 PR, CR, OR, PFS, DFS 및 OS 중 임의의 것이다. "종양 진행까지의 시간"으로 또한 지칭되는 PFS는 치료 동안의 및 치료 후의 암이 성장하지 않는 시간의 길이를 나타내고, 환자가 CR 또는 PR을 경험한 시간의 양 뿐만 아니라, 환자가 SD를 경험한 시간의 양을 포함한다. DFS는 치료 동안의 및 치료 후의 환자가 질환없이 유지되는 시간의 길이를 지칭한다. OS는 나이브한 또는 치료받지 않은 개체 또는 환자와 비교하여 기대 수명에서의 연장을 지칭한다. 일부 경우에, 다중-RTK 억제제 및 PD-1 길항제의 조합에 대한 반응은

RECIST 1.1 반응 기준을 사용하여 평가된 PR, CR, PFS, DFS, OR 또는 OS 중 임의의 것이다. 암 환자를 치료하는 데 효과적인, 개시된 조합에 대한 치료 요법은 환자의 질환 상태, 연령, 및 체중, 및 대상체에서 항암 반응을 도출하는 요법의 능력과 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 치료 방법, 의약 및 개시된 용도는 모든 대상체에서 양성 치료 효과를 달성하는 데 효과적이지 않을 수 있지만, 관련 기술 분야에 공지된 임의의 통계적 시험 예컨대 스튜던트(Student's) t-검정, 카이(chi)<sup>2</sup>-검정, 만 및 휘트니((Mann and Whitney)에 따른 U-검정, 크루스칼-왈리스(Kruskal-Wallis) 검정 (H-검정), 존키어-테르프스트라(Jonckheere-Terpstra)-검정 및 윌콕슨(Wilcoxon)-검정에 의해 결정 시 통계적으로 유의한 수의 대상체에서 효과적이어야 한다.

[0193] 용어 "치료 요법", "투여 프로토콜" 및 "투여 요법"은 상호교환가능하게 사용되며 다중-RTK 억제제 및 PD-1 길항제의 조합에서의 각 치료제의 용량 및 투여 타이밍을 지칭한다.

[0194] 암으로 진단되었거나 암을 갖는 것으로 추정되는 대상체에 적용된 바와 같은 "종양"은 임의의 크기의 악성이거나 잠재적으로 악성인 신생물 또는 조직 덩어리를 지칭하고, 원발성 종양 및 속발성 신생물을 포함한다. 고형 종양은 통상적으로 낭 또는 액체 영역을 함유하지 않는 조직의 비정상적 성장 또는 덩어리이다. 고형 종양의 상이한 유형은 이들을 형성하는 세포 유형에 대해 명명된다. 고형 종양의 예는 육종, 암종, 및 림프종이다. 백혈병 (혈액의 암 또는 헴 암)은 일반적으로 고형 종양을 형성하지 않는다 (National Cancer Institute, Dictionary of Cancer Terms).

[0195] "종양 부하"로 또한 지칭되는 "종양 부담"은, 신체 전반에 걸쳐 분포된 종양 물질의 총량을 지칭한다. 종양 부담은 림프절 및 골수를 포함하여, 신체 전반에 걸친, 암 세포의 총 수 또는 종양(들)의 총 크기를 지칭한다. 종양 부담은 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대, 예를 들어 대상체로부터 분리 시, 예를 들어, 캘리퍼를 사용하여, 또는 신체 내에 있는 경우 영상화 기술, 예를 들어 초음파, 골 스캔, 컴퓨터 단층촬영 (CT) 또는 자기 공명 영상화 (MRI) 스캔을 사용하여 종양(들)의 치수를 측정하는 것에 의해 결정될 수 있다.

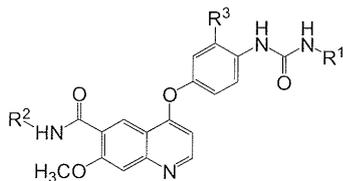
[0196] 용어 "종양 크기"는 종양의 길이 및 폭으로서 측정될 수 있는 종양의 총 크기를 지칭한다. 종양 크기는 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법, 예컨대, 예를 들어 대상체로부터의 분리 시, 예를 들어 캘리퍼를 사용하여, 또는 신체 내에 있는 동안 영상화 기술, 예를 들어 골 스캔, 초음파, CT 또는 MRI 스캔을 사용하여 종양(들)의 치수를 측정하는 것에 의해 결정될 수 있다.

[0197] "1차원 irRC"는 문헌 [Nishino M, Giobbie-Hurder A, Gargano M, Suda M, Ramaiya NH, Hodi FS. "Developing a Common Language for Tumor Response to Immunotherapy: Immune-related Response Criteria using Unidimensional measurements," Clin Cancer Res. 2013, 19(14): 3936-3943]에 기재된 기준 세트를 지칭한다. 이들 기준은 각 병변의 가장 긴 직경 (cm)을 이용한다.

[0198] 본원에 사용된 "가변 영역" 또는 "V 영역"은 상이한 항체 사이에 서열에서 가변적인 IgG 쇄의 절편을 의미한다. 이는 경쇄에서 카바트 잔기 109 및 중쇄에서 113까지 연장된다.

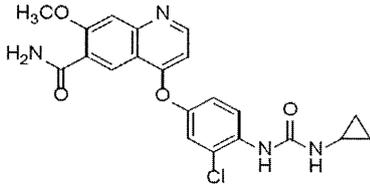
[0199] "다중-RTK 억제제"는 적어도 각각의 하기 RTK의 키나제 활성을 억제하는 소분자 화합물을 의미한다: (i) VEGFR2, (ii) FGFR1, 2, 3 및 4로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개의 FGFR; 및 (iii) RET. 다중-RTK 억제제는 또한 VEGFR1, VEGFR3, 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 수용체 FGFR1, 2, 3 및 4, 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF) 수용체 알파 (PDGFR $\alpha$ ) 및 KIT의 키나제 활성을 억제할 수 있다. 다중-RTK 억제제는 화학식 I에 의해 나타내어진 구조를 가질 수 있다:

[0200] <화학식 I>



[0201] 여기서 R<sup>1</sup>은 C<sub>1-6</sub> 알킬 또는 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬이고, R<sup>2</sup>는 수소 원자 또는 C<sub>1-6</sub> 알콕시이고, R<sup>3</sup>은 수소 원자 또는 할로겐 원자이다.

[0203] 치료 방법, 의약 및 개시된 용도는 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)으로 공지된, 하기 구조의 화합물로서 다중-RTK 억제제를 제공한다:



[0204]

[0205]

II. 방법, 용도 및 의약

[0206]

한 측면에서, PD-1 길항제 및 다중-RTK 억제제를 포함하는 조합 요법을 개체에 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.

[0207]

조합 요법은 또한 1종 이상의 추가의 치료제를 포함할 수 있다. 추가의 치료제는, 예를 들어, 다중-RTK 억제제 이외의 화학요법제, 생물요법제, 면역원성 작용제 (예를 들어, 약독화된 암성 세포, 종양 항원, 종양 제시 세포 예컨대 종양 유래 항원 또는 핵산으로 펄스된 수지상 세포, 면역 자극 시토카인 (예를 들어, IL-2, IFN $\alpha$ 2, GM-CSF), 및 면역 자극 시토카인 예컨대 비제한적으로 GM-CSF를 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포)일 수 있다.

[0208]

화학요법제의 예는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 시클로포스파미드; 알킬 술포네이트 예컨대 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리메틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸라멜라민; 아세토게닌 (예컨대 블라타신 및 블라타시논); 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토포신 (특히 크립토포신 1 및 크립토포신 8); 둘라스타틴; 두오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CBI-TMI 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코디티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로수우레아 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제 예컨대 에네디인 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 바람직하게는 칼리케아미신 감마1I 및 칼리케아미신 phi1I, 예를 들어, 문헌 [Agnew, Chem. Int'l. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)] 참조; 디네미신 A를 포함하는 디네미신; 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 에네디인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신 예컨대 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 조루비신; 향대사물 예컨대 메토티렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체 예컨대 테노프테린, 메토티렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피리딘, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체 예컨대 안시타빈, 아자시타딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항부신제 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 폴산 보충제 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레블린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트랙세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티움 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 메이탄시노이드 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; 라족산; 리족신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (예컨대 T-2 독소, 베라큐린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈테신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락툴; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 시클로포스파미드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들어 파클리탁셀 및 도세탁셀; 클로람부실; 겐시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토피리딘; 메토티렉세이트; 백금 유사체 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드 예컨대 레티노산; 카페시타빈; 및 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다. 또한, 종양

상의 호르몬 작용을 조절하거나 또는 억제하는 작용을 하는 항호르몬제, 예컨대, 예를 들어, 타목시펜, 팔록시펜, 드롤록시펜, 4-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 토레미펜 (파레스톤)을 포함하는 항에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조정제 (SERM); 부신에서 에스트로겐 생산을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예컨대, 예를 들어, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메게스트롤 아세테이트, 엑세메스탄, 포르메스탄, 파드로졸, 보로졸, 레트로졸, 및 아나스트로졸; 및 항안드로겐 예컨대 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드, 및 고세렐린; 및 상기 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체가 포함된다.

- [0209] 본원에 개시된 조합 요법의 각 치료제는 단독으로 또는 표준 제약 실시예에 따라 치료제 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 및 희석제를 포함하는 의약 (본원에서 제약 조성물로도 지칭됨)으로 투여될 수 있다. 각 치료제는 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 항-PD-1 항체를 개별적으로 제제화함으로써 제조될 수 있고, 둘 다는 동시에 또는 개별적으로 투여될 수 있다. 또한, 2개의 제제를 단일 패키지에 넣어, 소위 키트 제제를 제공할 수 있다. 일부 구성에서, 화합물 둘 다는 단일 제제에 함유될 수 있다.
- [0210] 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 참고문헌 17에 기재된 방법에 의해 생산될 수 있다. 제약상 허용되는 염의 예는 무기 산과의 염, 유기 산과의 염, 무기 염기와의 염, 유기 염기와의 염, 및 산성 또는 염기성 아미노산과의 염을 포함한다. 무기 산과의 염의 바람직한 예는 염산, 브로민화수소산, 황산, 질산, 인산 등과의 염을 포함한다. 유기 산과의 염의 바람직한 예는 아세트산, 숙신산, 푸마르산, 말레산, 타르타르산, 시트르산, 락트산, 스테아르산, 벤조산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염을 포함한다. 무기 염기와의 염의 바람직한 예는 알칼리 금속 염 예컨대 나트륨 염 및 칼륨 염; 알칼리 토금속 염 예컨대 칼슘 염 및 마그네슘 염; 알루미늄 염; 및 암모늄 염을 포함한다. 유기 염기와의 염의 바람직한 예는 디에틸아민, 디에탄올아민, 메글루민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염을 포함한다. 산성 아미노산과의 염의 바람직한 예는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염을 포함한다. 염기성 아미노산과의 염의 바람직한 예는 아르기닌, 리신, 오르니틴 등과의 염을 포함한다. 보다 바람직한 제약상 허용되는 염은 유기 산과의 염이고 특히 바람직한 제약상 허용되는 염은 메탄술폰산과의 염이다.
- [0211] 본원에 개시된 조합 요법의 각 치료제는 동시에 (즉, 동일한 의약으로), 공동으로 (즉, 임의의 순서로 하나의 투여 직후에 다른 것이 투여되는 개별 의약으로) 또는 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있다. 조합 요법의 치료제가 상이한 투여 형태 (하나의 작용제는 정제 또는 캡슐이고 또 다른 작용제는 멸균 액체임)이고/거나 상이한 투여 스케줄로 투여되는 경우, 예를 들어 적어도 매일 투여되는 화학요법제 및 덜 빈번하게, 예컨대 매주 1회, 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여되는 생물요법제인 경우, 순차적 투여가 특히 유용하다.
- [0212] 일부 경우에, 다중-RTK 억제제는 PD-1 길항제의 투여 전에 투여되는 반면, 다른 경우에, 다중-RTK 억제제는 PD-1 길항제의 투여 후에 투여된다.
- [0213] 일부 경우에, 조합 요법의 치료제 중 적어도 1종이 작용제가 동일한 암을 치료하기 위한 단독요법으로서 사용되는 경우에 전형적으로 사용되는 동일한 투여 요법 (용량, 빈도 및 치료 지속기간)을 사용하여 투여된다. 다른 경우에, 환자는 조합 요법의 치료제 중 적어도 1종을, 작용제가 단독요법으로 사용되는 경우보다 낮은 총량, 예를 들어 더 적은 용량, 덜 빈번한 투여, 및/또는 더 짧은 치료 지속기간으로 받는다.
- [0214] 본원에 개시된 조합 요법의 각 소분자 치료제는 고체 제제의 형태 예컨대 정제, 과립제, 미립제, 분말제 또는 캡슐로, 또는 액체, 젤리, 시럽 등의 형태로 경구로 투여될 수 있다. 본원에 개시된 조합 요법의 각 소분자 치료제는 정맥내, 근육내, 복강내, 피하, 직장, 국소 및 경피 투여 경로를 포함하여 비경구로 투여될 수 있다.
- [0215] 본원에 개시된 조합 요법은 종양을 제거하기 위한 수술 전에 또는 그 후에 사용될 수 있고, 방사선 요법 전에, 그 동안 또는 그 후에 사용될 수 있다.
- [0216] 일부 경우에, 본원에 개시된 조합 요법은 생물요법제 또는 화학요법제로 이전에 치료되지 않은, 즉 치료-나이프인 환자에게 투여된다. 다른 경우에, 조합 요법은 생물요법제 또는 화학요법제로의 선행 요법 후 지속 반응을 달성하는 데 실패한, 즉 치료-경험있는 환자에게 투여된다.
- [0217] 본원에 개시된 조합 요법은 전형적으로 촉진에 의해 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 영상화 기술, 예컨대 자기 공명 영상화 (MRI), 초음파 또는 컴퓨터 축 단층촬영 (CAT) 스캔에 의해 발견되기에 충분히 큰 종양을 치료하는 데 사용된다.
- [0218] 본원에 개시된 조합 요법은 바람직하게는 PD-L1 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 갖는 인간 환자에게 투여된다. PD-L1 발현은 바람직하게는 환자로부터 분리된 종양 샘플의 FFPE 또는 냉동 조직 절편 상의 IHC 검정에서

진단 항-인간 PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 사용하여 검출된다. 전형적으로, 환자의 의사는 PD-1 길항제 및 다중-RTK 억제제로의 치료를 개시하기 전에 환자로부터 분리된 종양 조직 샘플에서 PD-L1 발현을 측정하기 위한 진단 시험을 지시하지만, 의사는 치료 개시 후의 임의의 시간, 예컨대 예를 들어, 치료 주기 완료 후에 제1 또는 후속 진단 시험을 지시할 수 있는 것으로 고려된다.

- [0219] 본원에 개시된 조합 요법을 위한 투여(dosage) 요법 (본원에서 또한 투여(administration) 요법으로 지칭됨)을 선택하는 것은 엔티티의 혈청 또는 조직 회전을, 증상의 수준, 엔티티의 면역원성, 및 치료될 개체에서의 표적 세포, 조직 또는 기관의 접근성을 포함하는 여러 인자들에 따라 달라진다. 바람직하게는, 투여 요법은 환자에게 전달되는 각 치료제의 양을 허용가능한 수준의 부작용에 부합하여 최대화한다. 따라서, 조합물의 각 생물요법제 및 화학요법제의 용량 및 투여 빈도는 부분적으로 특정한 치료제, 치료될 암의 중증도, 및 환자 특징에 따라 달라진다. 항체, 시토키인, 및 소분자의 적절한 용량을 선택하는 것에 대한 안내가 이용가능하다. 예를 들어, 문헌 [Wawrzynczak (1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY; Baert et al. (2003) New Engl. J. Med. 348: 601-608; Milgrom et al. (1999) New Engl. J. Med. 341: 1966-1973; Slamon et al. (2001) New Engl. J. Med. 344: 783-792; Beniaminovitz et al. (2000) New Engl. J. Med. 342: 613-619; Ghosh et al. (2003) New Engl. J. Med. 348: 24-32; Lipsky et al. (2000) New Engl. J. Med. 343: 1594-1602; Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57th Ed.); Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 57th edition (November 2002)]을 참조한다. 적절한 투여 요법의 결정은, 예를 들어, 치료에 영향을 주는 것으로 관련 기술분야에 공지되었거나 의심되는, 또는 치료에 영향을 줄 것으로 예상되는 파라미터 또는 인자를 사용하여 임상외에 의해 이루어질 수 있고, 예를 들어 환자의 임상 병력 (예를 들어, 선행 요법), 치료될 암의 유형 및 병기 및 조합 요법의 치료제 중 1종 이상에 대한 반응의 바이오마커에 따라 달라질 것이다.
- [0220] 본원에 개시된 조합 요법의 생물요법제는 연속 주입에 의해, 또는 예를 들어, 매일, 격일, 1주마다 3회, 또는 1주, 2주, 3주, 1개월, 2개월마다 1회 등의 간격으로의 투여에 의해 투여될 수 있다. 매주 총 용량은 일반적으로 적어도 0.05 µg/kg, 0.2 µg/kg, 0.5 µg/kg, 1 µg/kg, 10 µg/kg, 100 µg/kg, 0.2 mg/kg, 1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg 체중 또는 그 초과이다. 예를 들어, 문헌 [Yang et al. (2003) New Engl. J. Med. 349: 427-434; Herold et al. (2002) New Engl. J. Med. 346: 1692-1698; Liu et al. (1999) J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67: 451-456; Portielji et al. (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52: 133-144]을 참조한다.
- [0221] 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용량은 증상의 정도, 환자의 연령, 성별, 및 체중, 감수성의 차이, 투여의 경로, 시간 및 간격, 제약 제제의 유형 등에 따라 적절하게 선택될 수 있다. 전형적으로, 경구 투여가 성인 (60 kg 체중)에서 수행되는 경우, 용량은 1일에 1 내지 600 mg, 바람직하게는 5 내지 400 mg, 보다 바람직하게는 5 내지 200 mg이다. 용량은 한 번에 투여되거나 또는 1일에 2 내지 3회 제공되는 더 적은 용량으로 분할될 수 있다.
- [0222] 조합 요법의 PD-1 길항제로서 항-인간 PD-1 mAb를 사용하는 일부 경우에, 투여 요법은 항-인간 PD-1 mAb를 치료 과정 전반에 걸쳐 약 14일 (± 2일) 또는 약 21일 (± 2일) 또는 약 30일 (± 2일) 간격으로 1, 2, 3, 5 또는 10 mg/kg의 용량으로 투여하는 것을 포함할 것이다. 항-PD-1 항체의 투여량은 상기와 동일한 방식으로 적절하게 선택될 수 있다. 전형적으로, 정맥내 투여가 성인 (60 kg 체중)에서 수행되는 경우, 용량은 6-주 주기의 3주마다 1회의 스케줄 (총 2회 용량)에서 2 mg/kg이다. 항체는 적절한 간격으로 1 내지 10주기 동안 투여된다.
- [0223] 조합 요법의 PD-1 길항제로서 항-인간 PD-1 mAb를 사용하는 다른 경우에, 투여 요법은 항-인간 PD-1 mAb를 환자-내 용량 증량으로 약 0.005 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 용량으로 투여하는 것을 포함할 것이다. 투여 사이의 간격은, 예를 들어 제1 및 제2 투여 사이에 약 30일 (± 2일), 제2 및 제3 투여 사이에 약 14일 (± 2일)로 점진적으로 짧아질 수 있다. 특정 실시양태에서, 투여 간격은 제2 투여에 후속하는 투여에서 약 14일 (± 2일)일 것이다.
- [0224] 특정 경우에, 대상체는 본원에 기재된 임의의 PD-1 길항제를 포함하는 의약의 정맥내 (IV) 주입을 투여받을 것이다.
- [0225] 조합 요법의 PD-1 길항제는 일부 경우에 바람직하게는 니볼루맙이며, 이는 1 mg/kg Q2W, 2 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg Q2W, 1 mg/kg Q3W, 2 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, 및 10 mg Q3W로 이루어

진 균으로부터 선택된 용량으로 정맥내로 투여된다.

- [0226] 조합 요법의 PD-1 길항제는 일부 경우에 바람직하게는 펌브롤리주맙, 펌브롤리주맙 변이체 또는 펌브롤리주맙 바이오시밀러이며, 이는 1 mg/kg Q2W, 2 mg/kg Q2W, 3 mg/kg Q2W, 5 mg/kg Q2W, 10 mg Q2W, 1 mg/kg Q3W, 2 mg/kg Q3W, 3 mg/kg Q3W, 5 mg/kg Q3W, 10 mg Q3W 및 임의의 이들 용량의 균일-용량 등가물, 즉, 예컨대 200 mg Q3W로 이루어진 균으로부터 선택되는 용량으로 액체 의약으로 투여된다. 일부 경우에, 펌브롤리주맙은 10 mM 히스티딘 완충제 pH 5.5 중 25 mg/ml 펌브롤리주맙, 7% (w/v) 수크로스, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로 제공된다.
- [0227] 일부 경우에, 펌브롤리주맙의 선택된 용량은 25 내지 40분, 또는 약 30분의 기간에 걸쳐 IV 주입에 의해 투여된다.
- [0228] 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)과 조합된 펌브롤리주맙의 최적 용량은 이들 작용제 중 하나 또는 둘 다의 용량 증량 또는 용량 감량에 의해 확인될 수 있다. 일부 경우에, 조합 요법은 펌브롤리주맙이 IV에 의해 200 mg Q3W로 투여되고 렌바티닙 메실레이트가 각각 렌바티닙으로서, (a) 경구로 1일에 24 mg, (b) 경구로 1일에 20 mg 또는 (c) 경구로 1일에 14 mg으로 투여되는 21일 치료 주기를 포함한다. 한 실시양태에서, 환자는 먼저 IV에 의해 200 mg의 펌브롤리주맙 Q3W로 및 경구로 1일에 24 mg (렌바티닙으로서)의 렌바티닙 메실레이트로 적어도 하나의 DLT가 관찰될 때까지 치료되고 이어서, 렌바티닙 메실레이트의 투여량은 1일에 20 또는 14 mg (각각 렌바티닙으로서)으로 감소하는 반면, 펌브롤리주맙 용량은 200 mg의 펌브롤리주맙 Q3W로 계속된다.
- [0229] 투여 요법의 예로서, 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염은 물과 함께 경구로 1일 1회, 음식물과 함께 또는 음식물 없이, 21일 주기에서 매일 거의 동일한 시간에 투여될 수 있다. 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염은 4 mg 및 10 mg (각각 렌바티닙으로서) 캡슐로서 제공될 수 있다. 각 주기의 제1일 (D1)에, 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염은 펌브롤리주맙 투여의 완료 후 대략 1시간 내에 투여될 수 있다. 펌브롤리주맙은 멸균, 보존제-무함유, 백색 내지 회백색 동결건조된 분말로서 단일-사용 바이알에 제공될 수 있다. 각 바이알은 정맥내 주입을 위해 재구성되고 희석될 수 있다. 각 2 mL의 재구성된 용액은 대략 50 mg의 펌브롤리주맙을 함유할 수 있다. 일부 경우에, 펌브롤리주맙은 정맥내 주입을 위한 희석을 필요로 하는 멸균, 보존제-무함유, 투명 내지 약간 유백색, 무색 내지 약간 황색인 용액으로 제공될 수 있다. 각 바이알은 4 mL의 용액 중에 100 mg의 펌브롤리주맙을 함유할 수 있다. 각 1 mL의 용액은 25 mg의 펌브롤리주맙을 함유할 수 있다. 펌브롤리주맙은 30-분 정맥내 주입, Q3W (예를 들어, 25분 내지 40분)로서 200 mg의 용량으로 투여될 수 있다.
- [0230] 경구 고체 제제가 제조되는 경우, 제약상 허용되는 비히클, 및, 필요에 따라, 결합제, 붕해제, 윤활제, 착색제, 향미제 등이 주성분, 즉, 화학식 I에 의해 나타내어진 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 항-PD-1 항체에 첨가되어, 그 후에 통상적인 방법에 따라 정제, 과립제, 미립제, 분말제, 캡슐 등을 제조할 수 있다. 비히클의 예는 락토스, 옥수수 전분, 연질 백설탕, 글루코스, 소르비톨, 결정질 셀룰로스 및 이산화규소를 포함한다. 결합제의 예는 폴리비닐 알콜, 에틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 아라비아 검, 히드록시프로필셀룰로스 및 히드록시프로필메틸셀룰로스를 포함한다. 윤활제의 예는 스테아르산마그네슘, 활석 및 실리카를 포함한다. 착색제의 예는 산화티타늄, 철 세스퀴산화물, 황색 철 세스퀴산화물, 코치닐, 카르민 및 리보플라빈을 포함한다. 향미제의 예는 코코아 분말, 아스코르브산, 타르타르산, 페퍼민트 오일, 보르네올 및 시나몬 분말을 포함한다. 이들 정제 및 과립제는 요구될 수 있는 경우 코팅될 수 있다.
- [0231] 일부 경우에, 환자는 적어도 24주, 예를 들어, 8회의 3-주 주기 동안 조합 요법으로 치료된다. 일부 경우에, 조합 요법으로의 치료는 환자가 PD 또는 CR의 증거를 나타낼 때까지 계속된다.
- [0232] 일부 경우에, 환자가 NSCLC, RCC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종으로 진단되었을 경우, 환자는 본원에 개시된 조합 요법으로의 치료를 위해 선택된다.
- [0233] 상기 기재된 바와 같은 PD-1 길항제 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 의약이 제공된다. PD-1 길항제가 생물요법제, 예를 들어 mAb인 경우, 길항제는 통상적인 세포 배양 및 회수/정제 기술을 사용하여 CHO 세포에서 생산될 수 있다.
- [0234] 일부 경우에, PD-1 길항제로서 항-PD-1 항체를 포함하는 의약은 액체 제제로서 제공되거나, 또는 사용 전에 주 사용 멸균수로 동결건조된 분말을 재구성함으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, WO 2012/135408은 임의의 치료 방법, 의약 및 개시된 용도에 적합한 펌브롤리주맙을 포함하는 액체 및 동결건조된 의약의 제조를 기재한다. 일부 경우에, 펌브롤리주맙을 포함하는 의약은 4 mL의 용액 중에 약 100 mg의 펌브롤리주맙을 함유하는 유리 바

이알로 제공된다. 각 1 mL의 용액은 25 mg의 켈브롤리주마를 함유하고 하기로 제제화된다: L-히스티딘 (1.55 mg), 폴리소르베이트 80 (0.2 mg), 수크로스 (70 mg), 및 주사용수, 미국 약전 (USP). 용액은 IV 주입을 위한 희석을 필요로 한다.

- [0235] 주사제가 제조되는 경우, pH 조정제, 완충제, 현탁화제, 가용화제, 안정화제, 등장화제, 보존제 등은 필요에 따라 주성분에 첨가되어, 정맥내, 피하 또는 근육내 주사제 또는 정맥내 점적 주입제를 제조할 수 있다. 필요에 따라, 이들은 통상적인 방법에 의해 동결건조된 생성물로 제조될 수 있다. 현탁화제의 예는 메틸셀룰로스, 폴리소르베이트 80, 히드록시에틸셀룰로스, 아라비아 검, 분말화 트라가칸트, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트를 포함한다. 가용화제의 예는 폴리옥시에틸렌 수소화 피마자 오일, 폴리소르베이트 80, 니코틴아미드, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트, 마크로골, 및 글리세린 지방산 에스테르를 포함한다. 안정화제의 예는 아황산나트륨 및 메타중아황산나트륨을 포함한다. 보존제의 예는 메틸 파라히드록시벤조에이트, 에틸 파라히드록시벤조에이트, 소르브산, 페놀, 크레졸, 및 클로로크레졸을 포함한다.
- [0236] 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트) 및 제약상 허용되는 부형제를 포함하는 의약이 제공된다. 일부 경우에, 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트) 은 4 mg 또는 10 mg (각각 렌바티닙으로서) 캡슐로서 제공되고 탄산칼슘, 만니톨, 미세결정질 셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 저-치환 히드록시프로필셀룰로스 및 활석으로 제제화된다.
- [0237] 본원에 기재된 PD-1 길항제 및 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트) 의약은 제1 용기 및 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하는 키트로서 제공될 수 있다. 제1 용기는 PD-1 길항제를 포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 함유하고, 제2 용기는 다중-RTK 억제제를 포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 함유하고, 패키지 삽입물 또는 라벨은 의약을 사용하여 암에 대해 환자를 치료하기 위한 지침서를 포함한다. 제1 및 제2 용기는 동일하거나 또는 상이한 형상 (예를 들어, 바이알, 시린지 및 병) 및/또는 물질 (예를 들어, 플라스틱 또는 유리)로 구성될 수 있다. 키트는 의약을 투여하는 데 유용할 수 있는 다른 물질, 예컨대 희석제, 필터, IV 백 및 라인, 바늘 및 시린지를 추가로 포함할 수 있다. 키트는 바람직하게는 항-PD-1 항체인 PD-1 길항제를 제공할 수 있고, 지침서는 의약이 IHC 검정에 의해 PD-L1 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 갖는 환자를 치료하는 데 사용되도록 의도된 것임을 설명할 수 있다.
- [0238] 하기에 열거된 예시적인 구체적 치료 방법, 의약, 및 용도를 포함하는 본원에 개시된 이들 및 다른 측면은 본원에 함유된 교시로부터 명백할 것이다.
- [0239] 구체적 치료 방법, 의약 및 용도
- [0240] 1. PD-1 길항제 및 다중-RTK 억제제를 포함하는 조합 요법을 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법.
- [0241] 2. 실시양태 1에 있어서, PD-1 길항제가 모노클로날 항체, 또는 그의 항원 결합 단편인 방법.
- [0242] 3. 실시양태 1 또는 2에 있어서, 다중-RTK 억제제가 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이고, PD-1 길항제가 MPDL3280A가 아닌 것인 방법.
- [0243] 4. 개체에서 암을 치료하기 위한, 다중-RTK 억제제와 조합하여 사용하기 위한, MPDL3280A가 아닌 PD-1 길항제를 포함하며, 여기서 PD-1 길항제는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편인 의약.
- [0244] 5. 개체에서 암을 치료하기 위한, MPDL3280A가 아닌 PD-1 길항제와 조합하여 사용하기 위한 다중-RTK 억제제를 포함하는 의약.
- [0245] 6. 실시양태 4 또는 5에 있어서, 제약상 허용되는 부형제를 추가로 포함하는 의약.
- [0246] 7. 다중-RTK 억제제와 조합하여 투여되는 경우 개체에서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의, MPDL3280A가 아닌 PD-1 길항제의 용도.
- [0247] 6. MPDL3280A가 아닌 PD-1 길항제와 조합하여 투여되는 경우 개체에서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 다중-RTK 억제제의 용도.
- [0248] 7. 개체에서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에서의, MPDL3280A가 아닌 PD-1 길항제 및 다중-RTK 억제제의 용도.
- [0249] 8. 제1 용기, 제2 용기 및 패키지 삽입물을 포함하며, 여기서 제1 용기는 MPDL3280A가 아닌 항-PD-1 길항제를

포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 포함하고, 제2 용기는 다중-RTK 억제제를 포함하는 의약의 적어도 1회 용량을 포함하고, 패키지 삽입물은 의약을 사용하여 암에 대해 개체를 치료하기 위한 지침서를 포함하는 것인 키트.

- [0250] 9. 실시양태 8에 있어서, 지침서가 의약이 면역조직화학적 (IHC) 검정에 의해 PD-L1 발현에 대해 양성 판정을 받은 암을 갖는 개체를 치료하는 데 사용되도록 의도된 것임을 설명하는 것인 키트.
- [0251] 10. 실시양태 1 내지 9 중 어느 한 실시양태에 있어서, 개체가 인간이고 PD-1 길항제가 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하여 인간 PD-1에 대한 인간 PD-L1의 결합을 차단하는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0252] 11. 실시양태 9에 있어서, PD-1 길항제가 BMS-936559, MEDI4736, 또는 MSB0010718C인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0253] 12. 실시양태 1 내지 9 중 어느 한 실시양태에 있어서, 개체가 인간이고, PD-1 길항제가 인간 PD-1에 특이적으로 결합하여 인간 PD-1에 대한 인간 PD-L1의 결합을 차단하는 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0254] 13. 실시양태 12에 있어서, PD-1 길항제가 또한 인간 PD-1에 대한 인간 PD-L2의 결합을 차단하는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0255] 14. 실시양태 13에 있어서, 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 (a) 서열식별번호: 1, 2 및 3의 경쇄 CDR 및 서열식별번호: 4, 5 및 6의 중쇄 CDR; 또는 (b) 서열식별번호: 7, 8 및 9의 경쇄 CDR 및 서열식별번호: 10, 11 및 12의 중쇄 CDR을 포함하는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0256] 15. 실시양태 13에 있어서, 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이 서열식별번호: 7, 8 및 9의 경쇄 CDR 및 서열식별번호: 10, 11 및 12의 중쇄 CDR을 포함하는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0257] 16. 실시양태 13에 있어서, PD-1 길항제가 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-PD-1 모노클로날 항체이고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 21을 포함하고 경쇄는 서열식별번호: 22를 포함하는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0258] 17. 실시양태 13에 있어서, PD-1 길항제가 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-PD-1 모노클로날 항체이고, 여기서 중쇄는 서열식별번호: 23을 포함하고 경쇄는 서열식별번호: 24를 포함하는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0259] 18. 실시양태 10-17 중 어느 한 실시양태에 있어서, 암이 고형 종양인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0260] 19. 실시양태 10-17 중 어느 한 실시양태에 있어서, 암이 방광암, 유방암, 투명 세포 신장암, 두/경부 편평 세포 암종, 폐 편평 세포 암종, 악성 흑색종, 비소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 전립선암, 신세포 암종 (RCC), 소세포 폐암 (SCLC) 또는 삼중 음성 유방암인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0261] 20. 실시양태 10-17 중 어느 한 실시양태에 있어서, 암이 NSCLC, RCC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0262] 21. 실시양태 10-17 중 어느 한 실시양태에 있어서, 개체가 이전에 NSCLC, RCC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종에 대해 치료받은 적이 없는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0263] 23. 실시양태 10-17 중 어느 한 실시양태에 있어서, 암이 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 미만성 대 B-세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종, 호지킨 림프종 (HL), 외투 세포 림프종 (MCL), 다발성 골수종 (MM), 골수 세포 백혈병-1 단백질 (Mcl-1), 골수이형성 증후군 (MDS), 비-호지킨 림프종 (NHL) 또는 소림프구성 림프종 (SLL)인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0264] 24. 실시양태 10-23 중 어느 한 실시양태에 있어서, 암이 인간 PD-L1에 대해 양성 판정을 받은 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0265] 25. 실시양태 24에 있어서, 인간 PD-L1 발현이 상승되는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0266] 26. 실시양태 13에 있어서, PD-1 길항제가 펩트올리주맙, 펩트올리주맙 변이체, 펩트올리주맙 바이오시밀러 또는 니볼투맙인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0267] 27. 실시양태 26에 있어서, 펩트올리주맙이 10 mM 히스티딘 완충제 pH 5.5 중 25 mg/ml 펩트올리주맙, 7% (w/v) 수크로스, 0.02% (w/v) 폴리소르베이트 80을 포함하는 액체 의약으로 제제화되는 것인 방법, 의약, 용도

또는 키트.

- [0268] 28. 실시양태 1 내지 27 중 어느 한 실시양태에 있어서, 다중-RTK 억제제가 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0269] 29. 실시양태 1 내지 28 중 어느 한 실시양태에 있어서, 다중-RTK 억제제가 렌바티닙 메실레이트이고 탄산칼슘, 만니톨, 미세결정질 셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, 저-치환 히드록시프로필셀룰로스 및 활석을 사용하여 제제화되는 것인 방법, 의약, 용도 또는 키트.
- [0270] 30. 암으로 진단된 인간 개체에겐 펙브롤리주맙 및 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)을 포함하는 조합 요법을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)은, 각각 렌바티닙으로서, 24 mg, 20 mg 또는 14 mg의 1일 용량으로 투여되고, 펙브롤리주맙은 200 mg Q3W로 투여되는 것인, 암으로 진단된 인간 개체를 치료하는 방법.
- [0271] 31. 인간 개체에겐 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)을, 각각 렌바티닙으로서, 24 mg, 20 mg 또는 14 mg의 1일 용량으로 및 펙브롤리주맙을 200 mg Q3W로 투여하는 것을 포함하는 방법에 의해 인간 개체에서 암을 치료하기 위한, 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)과 조합하여 사용하기 위한 펙브롤리주맙을 포함하는 의약.
- [0272] 32. 인간 개체에겐 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)을, 각각 렌바티닙으로서, 24 mg, 20 mg 또는 14 mg의 1일 용량으로, 및 펙브롤리주맙을 200 mg Q3W로 투여하는 것을 포함하는 방법에 의해 인간 개체에서 암을 치료하기 위한, 펙브롤리주맙과 조합하여 사용하기 위한 렌바티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염 (예를 들어 렌바티닙 메실레이트)을 포함하는 의약.
- [0273] 33. 실시양태 30 내지 32 중 어느 한 실시양태에 있어서, 암이 NSCLC, RCC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종인 방법 또는 의약.
- [0274] 34. 실시양태 33에 있어서, 개체가 이전에 NSCLC, RCC, 자궁내막암, 요로상피암, 두경부의 편평 세포 암종 또는 흑색종에 대해 치료받은 적이 없는 것인 방법 또는 의약.
- [0275] 35. 실시양태 31 내지 34 중 어느 한 실시양태에 있어서, 조합 요법의 투여 전에 개체로부터 분리된 암의 조직 절편이 PD-L1 발현에 대해 양성 판정을 받은 것인 방법 또는 의약.
- [0276] 36. 실시양태 35에 있어서, 조직 절편의 종양 세포의 적어도 50%가 면역조직화학적 (IHC) 검정에 의해 PD-L1 발현에 대해 양성 판정을 받은 것인 방법 또는 의약.
- [0277] 37. 실시양태 36에 있어서, IHC 검정이 PD-L1 발현을 검출하는 데 항체 22C3을 사용한 것인 방법 또는 의약.
- [0278] 38. 실시양태 31 내지 37 중 어느 한 실시양태에 있어서, 펙브롤리주맙이 25 내지 40분 또는 약 30분 동안 IV 주입에 의해 투여되는 것인 방법 또는 의약.
- [0279] 일반적 방법
- [0280] 분자 생물학의 표준 방법은 문헌 [Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 & 1989 2<sup>nd</sup> Edition, 2001 3<sup>rd</sup> Edition) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook and Russell (2001) Molecular Cloning, 3<sup>rd</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) Recombinant DNA, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA]]에 기재되어 있다. 표준 방법은 또한 박테리아 세포에서의 클로닝 및 DNA 돌연변이유발 (Vol. 1), 포유동물 세포 및 효모에서의 클로닝 (Vol. 2), 당접합체 및 단백질 발현 (Vol. 3), 및 생물정보학 (Vol. 4)을 기재하는 문헌 [Ausbel, et al. (2001) Current Protocols in Molecular Biology, Vols. 1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY]]에 나타난다.
- [0281] 면역침전, 크로마토그래피, 전기영동, 원심분리, 및 결정화를 포함하는 단백질 정제를 위한 방법이 기재되어 있다 (Coligan, et al. (2000) Current Protocols in Protein Science, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York). 화학적 분석, 화학적 변형, 번역후 변형, 융합 단백질의 생산, 단백질의 글리코실화가 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Coligan, et al. (2000) Current Protocols in Protein Science, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, et al. (2001) Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) Products for Life Science

Research, St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) BioDirectory, Piscataway, N.J., pp. 384-391] 참조). 폴리클로날 및 모노클로날 항체의 생산, 정제, 및 단편화가 기재되어 있다 (Coligan, et al. (2001) Current Protocols in Immunology, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) Using Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, 상기 문헌). 리간드/수용체 상호작용을 특징화하기 위한 표준 기술이 이용가능하다 (예를 들어, 문헌 [Coligan, et al. (2001) Current Protocols in Immunology, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York] 참조).

[0282] 모노클로날, 폴리클로날, 및 인간화 항체가 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Sheperd and Dean (eds.) (2000) Monoclonal Antibodies, Oxford Univ. Press, New York, NY; Kontermann and Dubel (eds.) (2001) Antibody Engineering, Springer-Verlag, New York; Harlow and Lane (1988) Antibodies A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, et al. (2000) J. Immunol. 165:6205; He, et al. (1998) J. Immunol. 160:1029; Tang et al. (1999) J. Biol. Chem. 274:27371-27378; Baca et al. (1997) J. Biol. Chem. 272:10678-10684; Chothia et al. (1989) Nature 342:877-883; Foote and Winter (1992) J. Mol. Biol. 224:487-499]; 미국 특허 번호 6,329,511 참조).

[0283] 인간화에 대한 대안은 파지 상에 디스플레이된 인간 항체 라이브러리 또는 트랜스제닉 마우스의 인간 항체 라이브러리를 사용하는 것이다 (Vaughan et al. (1996) Nature Biotechnol. 14:309-314; Barbas (1995) Nature Medicine 1:837-839; Mendez et al. (1997) Nature Genetics 15:146-156; Hoogenboom and Chames (2000) Immunol. Today 21:371-377; Barbas et al. (2001) Phage Display: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay et al. (1996) Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin et al. (1999) Nature Biotechnol. 17:397-399).

[0284] 항원의 정제는 항체의 생성에 필수적이지는 않다. 동물은 관심 항원을 보유하는 세포로 면역화될 수 있다. 이어서, 비장세포는 면역화 동물로부터 단리될 수 있고, 비장세포는 골수종 세포주와 융합되어 하이브리도마를 생성할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Meyard et al. (1997) Immunity 7:283-290; Wright et al. (2000) Immunity 13:233-242; Preston et al., 상기 문헌; Kaithamana et al. (1999) J. Immunol. 163:5157-5164] 참조).

[0285] 항체는, 예를 들어 소형 약물 분자, 효소, 리포솜, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)에 접합될 수 있다. 항체는 치료, 진단, 키트 또는 다른 목적에 유용하고, 예를 들어 염료, 방사성동위원소, 효소, 또는 금속, 예를 들어 콜로이드성 금에 커플링된 항체를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Le Doussal et al. (1991) J. Immunol. 146:169-175; Gibellini et al. (1998) J. Immunol. 160:3891-3898; Hsing and Bishop (1999) J. Immunol. 162:2804-2811; Everts et al. (2002) J. Immunol. 168:883-889] 참조).

[0286] 형광 활성화 세포 분류 (FACS)를 포함하는 유동 세포측정법에 대한 방법이 이용가능하다 (예를 들어, 문헌 [Owens, et al. (1994) Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) Flow Cytometry, 2<sup>nd</sup> ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) Practical Flow Cytometry, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ] 참조). 예를 들어, 진단 시약으로서 사용하기 위한, 핵산 프라이머 및 프로브를 포함하는 핵산, 폴리캡티드, 및 항체를 변형시키는 데 적합한 형광 시약이 입수가능하다 (Molecular Probes (2003) Catalogue, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) Catalogue, St. Louis, MO).

[0287] 면역계 조직학의 표준 방법이 기재되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Muller-Harmelink (ed.) (1986) Human Thymus: Histopathology and Pathology, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, et al. (2000) Color Atlas of Histology, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, et al. (2002) Basic Histology: Text and Atlas, McGraw-Hill, New York, NY] 참조).

[0288] 예를 들어, 항원 단편, 리더 서열, 단백질 폴딩, 기능적 도메인, 글리코실화 부위, 및 서열 정렬을 결정하기 위한 소프트웨어 패키지 및 데이터베이스가 이용가능하다 (예를 들어, 진뱅크(GenBank), 벡터 NTI(Vector NTI)® 스위트(Suite) (인포르맥스, 인크(Informax, Inc), 메릴랜드주 베데스다); GCG 위스콘신 패키지(Wisconsin Package) (악셀리스, 인크.(Accelrys, Inc.), 캘리포니아주 샌디에고); 데시퍼(DeCypher)® (타임로직 코퍼레이션(TimeLogic Corp.), 네바다주 크리스탈 베이); 문헌 [Menne, et al. (2000) Bioinformatics 16: 741-742; Menne, et al. (2000) Bioinformatics Applications Note 16:741-742; Wren, et al. (2002) Comput. Methods Programs Biomed. 68:177-181; von Heijne (1983) Eur. J. Biochem. 133:17-21; von Heijne (1986) Nucleic

Acids Res. 14:4683-4690)] 참조).

[0289] 표 3은 서열 목록 중 서열의 간단한 설명을 제공한다.

SEQ ID NO:	설명
1	hPD-1.08A 경쇄 CDR1
2	hPD-1.08A 경쇄 CDR2
3	hPD-1.08A 경쇄 CDR3
4	hPD-1.08A 중쇄 CDR1
5	hPD-1.08A 중쇄 CDR2
6	hPD-1.08A 중쇄 CDR3
7	hPD-1.09A 경쇄 CDR1
8	hPD-1.09A 경쇄 CDR2
9	hPD-1.09A 경쇄 CDR3
10	hPD-1.09A 중쇄 CDR1
11	hPD-1.09A 중쇄 CDR2
12	hPD-1.09A 중쇄 CDR3
13	109A-H 중쇄 가변 영역
14	409A-H 중쇄 전장
15	K09A-L-11 경쇄 가변 영역
16	K09A-L-16 경쇄 가변 영역
17	K09A-L-17 경쇄 가변 영역
18	K09A-L-11 경쇄 전장
19	K09A-L-16 경쇄 전장
20	K09A-L-17 경쇄 전장
21	웹브롤리주맵 중쇄
22	웹브롤리주맵 경쇄
23	니볼루맵 중쇄
24	니볼루맵 경쇄
25	인간 PD-L1

[0290]

[0291] III. 실시예

[0292] 실시예 1: 렌바티닙 및 항-PD-1 항체의 투여에 의한 항종양 효과

[0293] 10% 소 태아 혈청 (FBS) 및 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 DMEM 배양 배지 (고-글루코스 유형)를 사용하여 마우스 폐암 세포주 LL/2 (LLc1) (ATCC 번호 : CRL-1642)를 배양하였다. 다음에, 포스페이트 완충 염수 (PBS)를 사용하여  $2.0 \times 10^7$  개 세포/mL의 농도를 갖는 세포 현탁액을 제조하였다. 세포 현탁액을 0.1 mL의 용량으로 각 7-주령 마우스 (C57BL/6J, 암컷, 찰스 리버 래보러토리즈 재팬 인크.)의 몸체 우측면에 피하로 이식하였다. 이식 8일 후, 전자 디지털 캘리퍼 (디지털 (TM) 캘리퍼; 미투토요 코포레이션)를 사용하여, 관심 종양의 짧은 및 긴 직경을 측정하였다. 하기 식을 사용하여 종양 부피 TV를 계산하였다.

[0294] 종양 부피 TV ( $\text{mm}^3$ ) = 긴 직경 (mm) x 짧은 직경 (mm) x 짧은 직경 (mm) / 2.

[0295] 투여의 제1일의 종양 부피에 기초하여, 군별화를 수행하여, 종양 부피의 평균값이 거의 동일하게 하였다. 렌바티닙의 1 mg/ml 용액을 주사용수 (오즈카 파마슈티칼 캄파니, 리미티드)를 사용하여 제조하고, 0.2 mL/20 g 마우스 체중의 용량으로 14일 동안 1일 1회 경구로 투여하였다. PBS로 희석된, 2.5 mg/mL의 항-마우스-PD-1 항체 (클론: RMP1-14, 바이오엑셀, 카탈로그#: BE0146)를 함유하는 0.2 mL의 투여 샘플을 3일마다 1회 총 5회 (제1일, 제4일, 제7일, 제10일, 및 제13일, 군별화의 날을 제1일로 설정함) 복강내로 투여 (500 µg/마리의 투여량)하였다. 대조군에는, 오즈카 주사용수를 0.2 mL/20 g 마우스 체중의 용량으로 14일 동안 1일 1회 경구로 투여하였다. 마우스 5마리를 포함하는 각각의 군을 사용하여 실험을 수행하였다. 최종 투여 다음 날 (제15일)에, 각각의 종양 부피 (TV)를 대조군, 렌바티닙 투여 군, 항-마우스-PD-1 항체 투여 군 및 조합 투여 군에 대해 결정하였다. 종양 부피를 대수적으로 변환시킴으로써 획득된 값을 사용하여 통계적 분석을 수행하였다.

[0296] 피하 LL/2 (LLc1) 이식 모델에서, 렌바티닙 및 항-마우스-PD-1 항체의 조합은 단독으로 투여된 어느 것보다 유의하게 더 높은 항종양 효과를 나타내었다. 예를 들어, 제15일에, 조합군은 대조군 및 항-PD-1 군과 비교하여 2.5배 초과 더 적은 종양 부피를, 렌바티닙 군과 비교하여 1.5배 초과 더 적은 종양 부피를 가졌다. 종양 부피의 매일 변화는 표 1에 제시된다. 게다가 최종 투여 다음 날 종양 부피는 도 8에 제시된다.

[0297] 표 1

	제1일	제4일	제8일	제10일	제13일	제15일
대조군	101	273	564	852	1455	1910
렌바티닙 군	100	243	394	553	837	1143
항-PD-1 항체 군	100	207	442	682	1083	1984
조합군	100	203	351	452	573	691

[0298]

[0299] 도 9는 결장암을 갖는 마우스 모델에서 치료를 시작한 이후로 제11일에서의 항암 또는 항종양 효과를 보여준다. 10% FBS 및 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 RPMI1640 배양 배지를 사용하여 마우스 결장 암종 세포주 CT26.WT (ATCC 번호: CRL-2638)를 배양하였다. 헵크 평형 염 용액 (HBSS)을 사용하여 3.0 x 10<sup>7</sup>개 세포/mL의 농도를 갖는 세포 현탁액을 제조하였다. 세포 현탁액을 0.1 mL의 용량으로 각 7-주령 마우스 (BALB/cAnNCr1Cr1j, 암컷, 찰스 리버 래보러토리즈 재팬 인크.)의 몸체 우측면에 피하로 이식하였다. 이식 8일 후, 전자 디지털 캘리퍼 (디지털 (TM) 캘리퍼; 미투토요 코포레이션)를 사용하여 관심 종양의 짧은 및 긴 직경을 측정하였다. 하기 식을 사용하여 종양 부피 TV를 계산하였다.

[0300] 종양 부피 TV (mm<sup>3</sup>) = 긴 직경 (mm) x 짧은 직경 (mm) x 짧은 직경 (mm) / 2.

[0301] 투여의 제1일의 종양 부피에 기초하여, 군별화를 수행하여 종양 부피의 평균값이 거의 동일하게 하였다. 각각의 렌바티닙 단독 치료군, 동시 조합 치료군, 렌바티닙 이어서 PD-1 Ab 군에 대하여, 렌바티닙 메실레이트의 1 mg/ml 용액을 주사용수 (오즈카 파마슈티칼 캄파니, 리미티드)를 사용하여 제조하고 0.2 mL/20 g 마우스 체중의 용량으로 14일 동안 1일 1회 경구로 투여하였다. PD-1 Ab 단독 치료군 및 동시 조합 치료군에 대하여, PBS로 희석된, 2.5 mg/mL의 항-마우스-PD-1 항체 (클론: RMP1-14, 바이오엑셀, 카탈로그#: BE0146)를 함유하는 0.2 mL의 투여 샘플을 3일마다 1회 총 5회 (제1일, 제4일, 제7일, 제10일, 및 제13일, 군별화의 날을 제1일로 설정함) 복강내로 투여 (500 µg/마리의 투여량)하였다. 렌바티닙 이어서 PD-1 Ab 군에 대하여, 동일한 용량의 항-마우스 PD-1 항체를 3일마다 1회 제8일부터 총 3회 (제8일, 제11일, 제14일) 복강내로 투여하였다.

[0302] 대조군에, 오즈카 주사용수를 0.2 mL/20 g 마우스 체중의 용량으로 14일 동안 1일 1회 경구로 투여하였다. 마우스 5마리를 포함하는 각각의 군을 사용하여 실험을 수행하였다. 최종 투여 다음 날 (제15일)에, 각 종양 부피 TV를 대조군, 렌바티닙 투여 군, 항-마우스-PD-1 항체 투여 군, 및 조합 투여 군에 대하여 결정하였다. 종양 부피를 대수적으로 변환시킴으로써 획득된 값을 사용하여 통계적 분석을 수행하였다.

[0303] 상기 실험과 일치하게, 렌바티닙 및 항-PD-1의 조합은 둘 사이의 상승작용적 효과를 입증한다. 예상외로, 단지 7일 동안만 렌바티닙을 투여한 후에 렌바티닙 및 항-PD-1을 투여하는 것은 종양 부피를 감소시키는 데 있어서 렌바티닙 및 항-PD-1의 조합 투여보다 훨씬 더 큰 효과를 나타내었다.

[0304] 실시예 2: 렌바티닙 메실레이트 및 항-PD-L1 항체의 공-투여에 의한 항종양 효과

[0305] 10% FBS 및 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 RPMI1640 배양 배지를 사용하여 마우스 결장 암종 세포주 CT26.WT (ATCC 번호: CRL-2638)를 배양하였다. 헵크 평형 염 용액 (HBSS)을 사용하여  $3.0 \times 10^7$  개 세포/mL의 농도를 갖는 세포 현탁액을 제조하였다. 세포 현탁액을 0.1 mL의 용량으로 각 7-주령 마우스 (BALB/cAnNCr1Cr1j, 암컷, 찰스 리버 래보러토리즈 재팬 인크.)의 몸체의 우측면에 피하로 이식하였다. 이식 8 일 후, 전자 디지털 캘리퍼 (디지털 (TM) 캘리퍼; 미투도요 코포레이션)를 사용하여 관심 종양의 짧은 및 긴 직경을 측정하였다. 하기 식을 사용하여 종양 부피 TV를 계산하였다.

[0306] 종양 부피 TV ( $\text{mm}^3$ ) = 긴 직경 (mm) x 짧은 직경 (mm) x 짧은 직경 (mm) / 2.

[0307] 투여의 제1일의 종양 부피에 기초하여, 군별화를 수행하여 종양 부피의 평균값이 거의 동일하게 하였다. 렌바티닙 메실레이트의 1 mg/ml 용액을 주사용수 (오즈카 파마슈티칼 캄파니, 리미티드)를 사용하여 제조하고, 0.2 mL/20 g 마우스 체중의 용량으로 14일 동안 1일 1회 경구로 투여하였다. PBS로 희석된, 2.5 mg/mL의 항-마우스-PD-L1 항체를 함유하는 0.2 mL의 투여 샘플을 3일마다 1회 총 5회 (제1일, 제4일, 제7일, 제10일, 및 제13일, 군별화의 날을 제1일로 설정함) 복강내로 투여 (500  $\mu\text{g}$ /마리의 투여량)하였다. 대조군에, 오즈카 주사용수를 0.2 mL/20 g 마우스 체중의 용량으로 14일 동안 1일 1회 경구로 투여하였다. 마우스 5마리를 포함하는 각각의 군을 사용하여 실험을 수행하였다. 최종 투여 다음 날 (제15일)에, 각 종양 부피 TV를 대조군, 렌바티닙 투여 군, 항-마우스-PD-L1 항체 투여 군, 및 조합 투여 군에 대하여 결정하였다. 종양 부피를 대수적으로 변환시킴으로써 획득된 값을 사용하여 통계적 분석을 수행하였다.

[0308] 피하 CT26.WT 이식 모델에서, 렌바티닙 메실레이트 및 항-마우스-PD-L1 항체의 조합은 단독으로 투여된 어느 것보다 유의하게 더 높은 항종양 효과를 나타내었다. 예를 들어, 조합군은 렌바티닙 또는 항-PD-L1로의 치료를 받은 군보다 적어도 2배 더 적은 종양 부피를 가졌다. 종양 부피의 매일 변화는 표 2에 제시된다. 게다가 최종 투여 다음 날 종양 부피는 도 8에 제시된다.

[0309] 표 2

	제1일	제4일	제8일	제11일
대조군	153	456	1320	1990
렌바티닙 군	154	472	1172	1555
항-PD-L1 항체 군	153	380	962	1557
조합군	154	358	635	720

[0310]

[0311] 도 10은 대조군, 개별 렌바티닙 또는 PD-L1, 렌바티닙 및 PD-L1의 조합에 대한 투여후 일수에 의해 플롯팅된 종양 부피의 그래프를 보여준다. PD-L1의 렌바티닙과의 조합은 종양 부피와 관련하여 상승작용적 효과를 나타내었다. 효과는 치료 시작 4일 후에 뚜렷해지고 제8일 및 제11일에 매우 현저해지며, 조합된 렌바티닙 및 PD-L1 치료를 받은 마우스는 제11일에 대조군의 종양 부피의 거의 3분의 1 크기의 종양 부피를 보인다.

[0312] 참고문헌

1. Sharpe, A.H, Wherry, E.J., Ahmed R., and Freeman G.J. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nature Immunology* (2007); 8:239-245.
2. Dong H *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med.* 2002 Aug;8(8):793-800.
3. Yang *et al.* PD-1 interaction contributes to the functional suppression of T-cell responses to human uveal melanoma cells in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 Jun;49(6 (2008): 49: 2518-2525.
4. Ghebeh *et al.* The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia* (2006) 8: 190-198.
5. Hamanishi J *et al.* Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proceeding of the National Academy of Sciences* (2007): 104: 3360-3365.
6. Thompson RH *et al.* Significance of B7-H1 overexpression in kidney cancer. *Clinical genitourin Cancer* (2006): 5: 206-211.
7. Nomi, T, Sho, M., Akahori, T., *et al.* Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death- 1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research* (2007);13:2151-2157.

[0313]

8. Ohigashi Y et al. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand 2 expression in human esophageal cancer. *Clin. Cancer Research* (2005); 11: 2947-2953.
  
9. Inman *et al.* PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata: associations with localized stage progression. *Cancer* (2007); 109: 1499-1505.
  
10. Shimauchi T *et al.* Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and nonneoplastic CD4+ T-cells in adult T-cell Leukemia/ Lymphoma. *Int. J. Cancer* (2007); 121:2585-2590.
  
11. Gao *et al.* Overexpression of PD-L1 significantly associates with tumor aggressiveness and postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma. *Clinical Cancer Research* (2009) 15: 971-979.
  
12. Nakanishi J. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol Immunother.* (2007) 56: 1173- 1182.
  
13. Hino *et al.* Tumor cell expression of programmed cell death-1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer* (2010); 00: 1-9.
  
14. Ghebeh H. Foxp3+ tregs and B7-H1+/PD-1+ T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients: implication for immunotherapy. *BMC Cancer.* 2008 Feb 23;8:57.
  
15. Ahmadzadeh M et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* (2009) 114: 1537-1544.

[0314]

16. Thompson RH et al. PD-1 is expressed by tumor infiltrating cells and is associated with poor outcome for patients with renal carcinoma. *Clinical Cancer Research* (2007) 15: 1757-1761.
17. 미국 특허 출원 공개 번호 2004-053908.
18. 미국 특허 출원 공개 번호 2004-253205.
19. 미국 특허 출원 공개 번호 2010-105031.
20. 미국 특허 출원 공개 번호 2009-209580.
21. 미국 특허 출원 공개 번호 2009-264464.
22. 미국 특허 출원 공개 번호 2004-259834.

23. Iwai et al., PNAS, 2002, 99 (19), 12293-7.

[0315]

[0316]

본원에 인용된 모든 참고문헌은 각각의 개별 공보, 데이터베이스 엔트리 (예를 들어, 진뱅크 서열 또는 진ID 엔트리), 특허 출원, 또는 특허가 구체적이고도 개별적으로 참조로 포함된다고 나타내는 바와 동일한 정도로 참조로 포함된다. 이러한 참조로 포함된다는 진술은 심지어 이러한 인용에 참조로 포함된다는 명확한 진술이 바로 이어지지 않는 경우에도, 37 C.F.R. § 1.57(b)(1)에 따라 출원인에 의해, 각각의 및 모든 개별 공보, 데이터베이스 엔트리 (예를 들어, 진뱅크 엔트리 또는 진ID 엔트리), 특허 출원 또는 특허 (이들 각각은 37 C.F.R. § 1.57(b)(2)에 따라 명백하게 확인됨)에 관한 것으로 의도된다. 명세서 내에, 존재하는 경우, 참조로 포함된다는 명확한 진술을 포함시키는 것은 참조로 포함된다는 이 일반적 진술을 어떠한 방식으로도 약화시키지 않는다. 본원의 참고문헌의 인용은 이러한 참고문헌이 선행 기술과 관련이 있음을 인정하는 것으로 의도되지 않거나 또는 이들 공보 또는 문헌의 내용 또는 일자로서 어떠한 인정도 받지 않아야 한다.

도면

도면1

hPD-1.08A 경쇄 CDR1 (SEQ ID NO: 1)

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Phe Ser Tyr Leu His

hPD-1.08A 경쇄 CDR2 (SEQ ID NO: 2)

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

hPD-1.08A 경쇄 CDR3 (SEQ ID NO: 3)

Gln His Ser Trp Glu Leu Pro Leu Thr

hPD-1.08A 중쇄 CDR1 (SEQ ID NO: 4)

Ser Tyr Tyr Leu Tyr

hPD-1.08A 중쇄 CDR2 (SEQ ID NO: 5)

Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Ser Glu Lys Phe Lys Ser

hPD-1.08A 중쇄 CDR3 (SEQ ID NO: 6)

Arg Asp Ser Asn Tyr Asp Gly Gly Phe Asp Tyr

도면2

hPD-1.09A 경쇄 CDR1 (SEQ ID NO: 7)

Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His

hPD-1.09A 경쇄 CDR2 (SEQ ID NO: 8)

Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser

hPD-1.09A 경쇄 CDR3 (SEQ ID NO: 9)

Gln His Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr

hPD-1.09A 중쇄 CDR1 (SEQ ID NO: 10)

Asn Tyr Tyr Met Tyr

hPD-1.09A 중쇄 CDR2 (SEQ ID NO: 11)

Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys Asn

hPD-1.09A 중쇄 CDR3 (SEQ ID NO: 12)

Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr

도면3

109A-H 중쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 13)

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys  
 Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg  
 Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly  
 Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr  
 Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 Cys Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 Thr Val Thr Val Ser Ser

409A-H 중쇄 전장 (SEQ ID NO: 14)

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys  
 Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg  
 Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly  
 Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr  
 Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
 Cys Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro  
 Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His  
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val  
 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
 Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

도면4

K09A-L-11 경쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 15)

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala  
 Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

K09A-L-16 경쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 16)

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
 Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

K09A-L-17 경쇄 가변 영역 (SEQ ID NO: 17)

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
 Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

도면5a

K09A-L-11 경쇄 전장 (SEQ ID NO: 18)

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

K09A-L-16 경쇄 전장 (SEQ ID NO: 19)

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

도면5b

K09A-L-17 경쇄 전장 (SEQ ID NO: 20)

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala  
 Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His  
 Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr  
 Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr  
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser  
 Arg Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val  
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp  
 Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp  
 Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val  
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

도면6

웹브롤리주담

중쇄 (SEQ ID NO: 21)

QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYMYWVRQA PGQGLEWMGG 50  
 INPSNGGTNF NEKFKNRVTL TTDSSTTAY MELKSLQFDD TAVYYCARRD 100  
 YRFDMGFYDW GQGTITVTVSS ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK 150  
 DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT 200  
 YTCNVDPKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT 250  
 LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY 300  
 RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT 350  
 LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS 400  
 DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK 447

경쇄 (SEQ ID NO: 22)

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASKGVS TSGYSYLHWY QQKPGQAPRL 50  
 LIYLASYLEG GVPARFSGSG SGTDFLTIS SLEPEDFAVY YCQHSRDLPL 100  
 TFGGGTKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVCLL NNFYPREAKV 150  
 QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYLSL STLTLKADY EKHKVYACEV 200  
 THQGLSSPVT KSFNRGEC 219

도면7

니볼루담

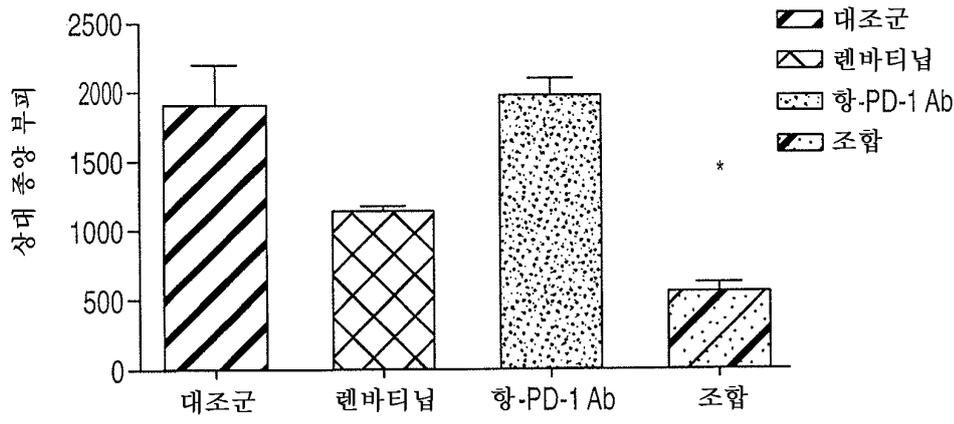
중쇄 (SEQ ID NO: 23)

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL DCKASGITFS NSGMHWVRQA PGKGLEWVAV 50  
 IWYDGSKRYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED TAVYYCATND 100  
 DYWGQGTLLV VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC LVKDYFPEPV 150  
 TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG TKTYTCNVDH 200  
 KPSNTKVDKR VESKYGPPCP PCPAPEFLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP 250  
 EVTCVVVDVS QEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STYRVVSVLT 300  
 VLHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPSSIEKTIS KAKQPREPQ VYTLPPSQEE 350  
 MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTPPV LDSDGSFFLY 400  
 SRLTVDKSRW QEGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLGK 440

경쇄 (SEQ ID NO: 24)

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SYLAWYQQKQ GQAPRLLIYD 50  
 ASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ SSNWPRFTGQ 100  
 GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV 150  
 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT LSKADYKHK VYACEVTHQG 200  
 LSSPVTKSFN RGEK 214

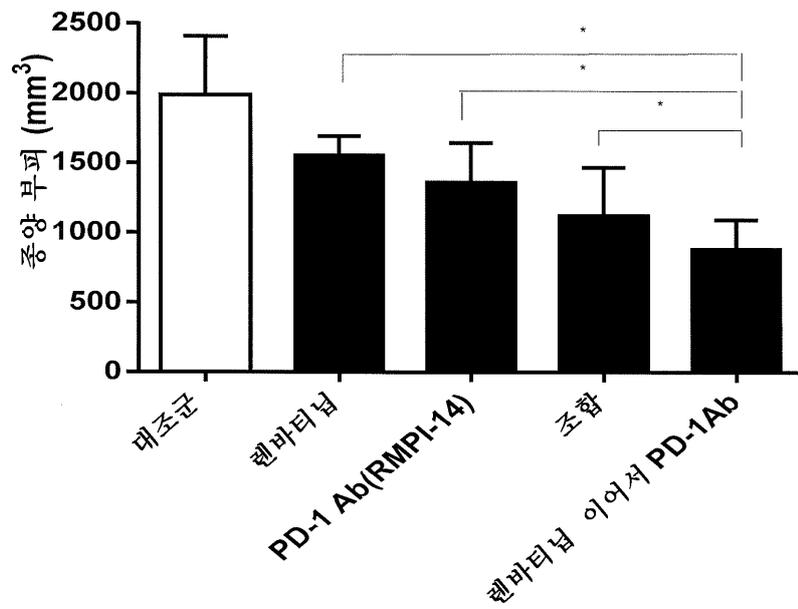
도면8



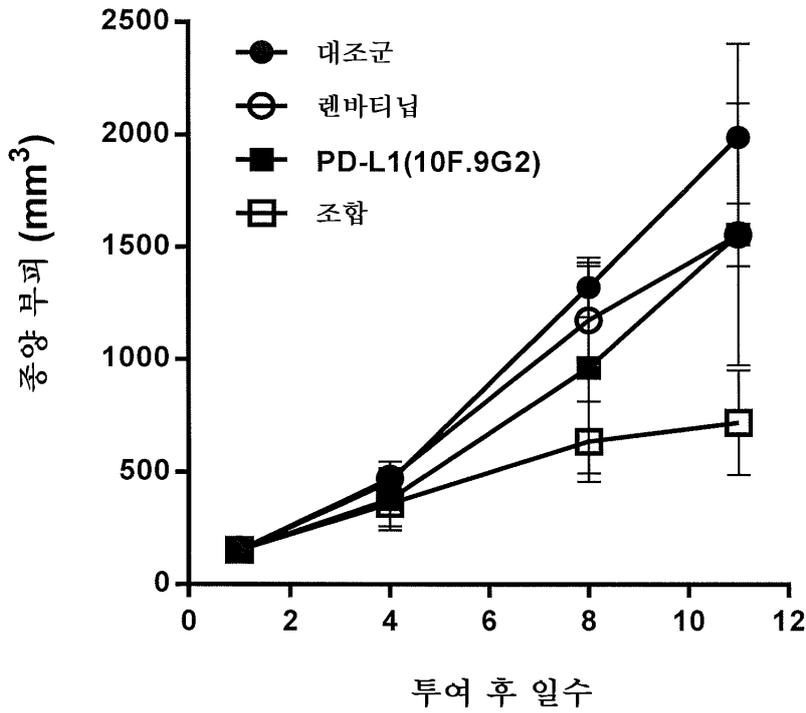
\*: P<0.05

이원 ANOVA 에 의해 분석된 상호작용

도면9



도면10



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Merck Sharp & Dohme Corp.

EISAI R&D MANAGEMENT CO. LTD

<120> COMBINATION OF A PD-1 ANTAGONIST AND A VEGFR/FGFR/RET TYROSINE KINASE INHIBITOR FOR TREATING CANCER

<130> 2135970001WO

<150> JP 2015-042683

<151> 2015-03-04

<150> 62/128232

<151> 2015-03-04

<150> JP 2015-114890

<151> 2015-06-05

<150> 62/171615

<151> 2015-06-05

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15

<212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223>  
 > Antibody Light Chain CDR  
 <400> 1  
 Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Phe Ser Tyr Leu His  
 1                    5                    10                    15

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Light Chain CDR

<400> 2

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1                    5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Light Chain CDR

<400> 3

Gln His Ser Trp Glu Leu Pro Leu Thr

1                    5

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Heavy Chain CDR

<400> 4

Ser Tyr Tyr Leu Tyr

1                    5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Heavy Chain CDR

<400> 5

Gly Val Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Ser Glu Lys Phe Lys

1                    5                    10                    15

Ser

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Heavy Chain CDR

<400> 6

Arg Asp Ser Asn Tyr Asp Gly Gly Phe Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Light Chain CDR

<400> 7

Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His

1                    5                    10                    15

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Light Chain CDR

<400> 8

Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser

1                    5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Light Chain CDR

<400> 9

Gln His Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr

1                    5

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Heavy Chain CDR

<400> 10

Asn Tyr Tyr Met Tyr

1                    5

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Heavy Chain CDR

<400> 11

Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys

1                    5                    10                    15

Asn

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Antibody Heavy Chain CDR

<400> 12

Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 13

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Antibody Heavy Chain Variable Region

<400> 13

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

1                    5                    10                    15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

                  100                    105                    110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

                  115                    120

<210> 14

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Antibody Heavy Chain

<400> 14

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

1                    5                    10                    15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 115 120 125  
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala  
 130 135 140  
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145 150 155 160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
 165 170 175  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys  
 195 200 205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro  
 210 215 220  
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
 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 Gln Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser



Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85 90 95

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

100 105 110

<210> 16

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Antibody Light Chain Variable Region

<400> 16

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 17

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Antibody Light Chain Variable Region

<400> 17

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

1                    5                    10                    15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

                  85                    90                    95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

                  100                    105                    110

<210> 18

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Antiboy LIght Chain

<400> 18

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 Lys Gly Val Ser Thr Ser

                  20                    25                    30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro

                  35                    40                    45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala

                  50                    55                    60



Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
 50 55 60  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser  
 65 70 75 80  
 Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95  
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 115 120 125  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 165 170 175  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 195 200 205  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215  
 <210> 20  
 <211> 218  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Humanized Antibody Light Chain  
 <400> 20  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro  
 35 40 45  
 Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
 50 55 60  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Lys Ile Ser  
 65 70 75 80  
 Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95  
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
 115 120 125  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
 130 135 140  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
 165 170 175  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 180 185 190  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 195 200 205  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215  
 <210> 21  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Humanized Antibody Heavy Chain  
 <400> 21  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1                    5                    10                    15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
                          20                    25                    30  
 Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
                          35                    40                    45  
 Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe  
                          50                    55                    60  
  
 Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                          85                    90                    95  
 Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
                          100                    105                    110  
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
                          115                    120                    125  
  
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala  
                          130                    135                    140  
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145                    150                    155                    160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
                          165                    170                    175  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
                          180                    185                    190  
  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys  
                          195                    200                    205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro  
                          210                    215                    220  
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 225                    230                    235                    240  
 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 Gln Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln 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 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415  
 Trp Gln Glu 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 Leu Gly Lys  
 435 440 445

<210> 22

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Humanized Antibody Light Chain

<400> 22

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 Lys Gly Val Ser Thr Ser  
                   20                                  25                                  30  
 Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
                   35                                  40                                  45  
  
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala  
                   50                                  55                                  60  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 65                                  70                                  75                                  80  
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
                                   85                                  90                                  95  
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
                   100                                  105                                  110  
  
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
                   115                                  120                                  125  
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
                   130                                  135                                  140  
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
 145                                  150                                  155                                  160  
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
                                   165                                  170                                  175  
  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
                   180                                  185                                  190  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
                   195                                  200                                  205  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
                   210                                  215  
 <210> 23  
 <211> 440  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 23  
 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> 24  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 24

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 25

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> mat\_peptide

<222> (19)..(290)

<400> 25

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu  
 -15 -10 -5

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr  
 -1 1 5 10

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu  
 15 20 25 30

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile  
 35 40 45

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser  
 50 55 60

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn  
 65 70 75

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr  
 80 85 90

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val  
 95 100 105 110

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val  
 115 120 125

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr  
 130 135 140

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser  
 145 150 155

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn  
 160 165 170

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr  
 175 180 185 190

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu  
 195 200 205

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His  
 210 215 220

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