



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0102059
(43) 공개일자 2019년09월02일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
C07K 14/71 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2827 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7022795
- (22) 출원일자(국제) 2018년01월05일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2019년08월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/012604
- (87) 국제공개번호 WO 2018/129331
국제공개일자 2018년07월12일
- (30) 우선권주장
62/443,698 2017년01월07일 미국(US)
62/581,978 2017년11월06일 미국(US)

- (71) 출원인
메르크 패트ент 게엠베하
독일 64293 다틈스타트 프랑크푸르터 스트라세 250
- (72) 발명자
두솔트, 이자벨
미국 02494 매사추세츠주 니덤 센트럴 애비뉴 620
엘 바와브, 사메르
독일 60486 프랑크푸르트 암 아민 로미셔 렁 5
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

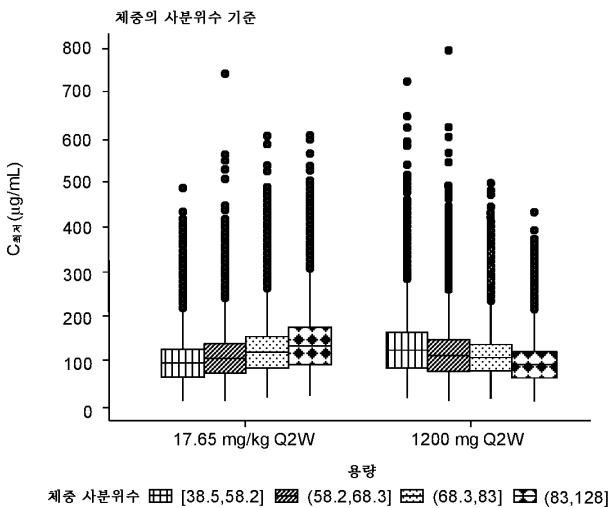
전체 청구항 수 : 총 41 항

(54) 발명의 명칭 표적화된 TGF-β 억제를 위한 투약 레지멘 및 투여 형태

(57) 요약

본 개시내용은 일반적으로 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1) 및 형질전환 성장 인자 β (TGFβ)를 표적화하는 이중기능적 단백질의 체중 비의존성 (BW-비의존성) 투약 레지멘 및 투여 형태에 관한 것이다.

대 표 도 - 도8c



(52) CPC특허분류

C07K 14/71 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
A61K 2039/54 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2319/00 (2013.01)
C07K 2319/02 (2013.01)

(72) 발명자

부그메이스터, 율리아

미국 01890 매사추세츠주 왈체스터 헤밍웨이 스트
리트 90

칸델왈, 아카쉬

독일 64347 그리샤임 아우구스트 베벨 슈트라쎄 61

명세서

청구범위

청구항 1

암의 치료 또는 종양 성장의 억제를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법이며, 대상체에게 적어도 500 mg의 용량의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 투여하는 것을 포함하며,

여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,

여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고,

여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인

방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 용량이 500 mg 내지 2400 mg인 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 용량이 1200 mg 내지 1800 mg인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1200 mg인 방법.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 용량이 1800 mg인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여되는 것인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질이 정맥내 투여에 의해 투여되는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 정맥내 투여가 단백질을 포함하는 제제를 포함하는 사전충전된 백, 사전충전된 펜 또는 사전충전된 시린지로 수행되는 것인 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 암 또는 종양이 비소세포 폐암, 흑색종, 췌장암, 결장직장암, 난소암, 교모세포종, 위암, 담도암, 식도암 (편평 세포 암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 및 두부 또는 경부의 편평세포 암종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 암 또는 종양이 결장직장암, 유방암, 난소암, 췌장암, 위암, 전립선암, 신암, 자궁경부암, 골수종, 림프종, 백혈병, 갑상선암, 자궁내막암, 자궁암, 방광암, 신경내분비암, 두경부암, 간암, 비인두암, 고환암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 흑색종, 기저 세포 피부암, 편평 세포 피부암, 응기성 피부섬유육종, 메르켈 세포 암종, 교모세포종, 신경교종, 육종, 중피종, 및 골수이형성 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 종양이 진행된 고형 종양인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 종양이 선행 치료에 대해 불응성 및/또는 저항성인 방법.

청구항 15

500 mg - 2400 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제이며,

여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,

여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 가변 영역을 포함하고,

여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인

정맥내 약물 전달 제제.

청구항 16

제15항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 정맥내 약물 전달 제제.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 1200 mg의 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제.

청구항 18

제15항 또는 제16항에 있어서, 1200 mg 내지 2400 mg의 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제.

청구항 19

제15항 또는 제16항에 있어서, 1800 mg의 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제.

청구항 20

제15항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 백, 펜 또는 시린지에 함유되는 것인 정맥내 약물 전달 제제.

청구항 21

제20항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 정맥내 약물 전달 제제.

청구항 22

제15항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 동결건조 제제 또는 액체 제제인 정맥내 약물 전달 제제.

청구항 23

500 mg - 2400 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 제제를 포함하는 약물 전달 장치이며,

여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,

여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고,

여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인

약물 전달 장치.

청구항 24

제23항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별 번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 약물 전달 장치.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 1200 mg의 단백질을 포함하는 약물 전달 장치.

청구항 26

제23항 또는 제24항에 있어서, 1200 mg 내지 2400 mg의 단백질을 포함하는 약물 전달 장치.

청구항 27

제23항 또는 제24항에 있어서, 1800 mg의 단백질을 포함하는 약물 전달 장치.

청구항 28

제23항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 장치가 백, 펜 또는 시린지인 약물 전달 장치.

청구항 29

제28항에 있어서, 백이튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 약물 전달 장치.

청구항 30

500 mg - 2400 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 제제를 집합적으로 포함하는 1개 이상의 용기를 포함하는 키트이며,

여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,

여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고,

여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인

키트.

청구항 31

제30항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 키트.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 용기가 1200 mg의 단백질을 집합적으로 포함하는 것인 키트.

청구항 33

제30항 또는 제31항에 있어서, 용기가 1200 내지 2400 mg의 단백질을 집합적으로 포함하는 것인 키트.

청구항 34

제30항 또는 제31항에 있어서, 용기가 1800 mg의 단백질을 집합적으로 포함하는 것인 키트.

청구항 35

제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 동결건조 제제 또는 액체 제제인 키트.

청구항 36

제15항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 암의 치료 또는 종양 성장의 억제를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는데 사용하기 위한, 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

청구항 37

제36항에 있어서, 암 또는 종양이 비소세포 폐암, 흑색종, 췌장암, 결장직장암, 난소암, 교모세포종, 위암, 담도암, 식도암 (편평 세포 암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 및 두부 또는 경부의 편평세포 암종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

청구항 38

제36항에 있어서, 암 또는 종양이 결장직장암, 유방암, 난소암, 췌장암, 위암, 전립선암, 신암, 자궁경부암, 골수종, 림프종, 백혈병, 갑상선암, 자궁내막암, 자궁암, 방광암, 신경내분비암, 두경부암, 간암, 비인두암, 고환암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 흑색종, 기저 세포 피부암, 편평 세포 피부암, 응기성 피부섬유육종, 메르켈 세포 암종, 교모세포종, 신경교종, 육종, 중피종, 및 골수이형성 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

청구항 39

제36항에 있어서, 종양이 진행된 고형 종양인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

청구항 40

제36항에 있어서, 종양이 선행 치료에 대해 불응성인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

청구항 41

제36항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 대상체에게 2주마다 1회 투여되는 것인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 2017년 1월 7일에 출원된 미국 출원 번호 62/443,698 및 2017년 11월 6일에 출원된 미국 출원 번호 62/581,978에 대한 이익 및 우선권을 주장하며, 이를 출원 각각의 내용은 모든 목적을 위해 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 개시내용의 분야

[0004] 본 개시내용은 일반적으로 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1) 및 형질전환 성장 인자 β (TGF β)를 표적화하는 이중기능적 단백질의 체중 비의존성 (BW-비의존성) 투약 레지멘 및 투여 형태에 관한 것이다.

배경기술

[0005] 프로그램화된 사멸 1 (PD-1)/PD-L1 축은 종양 면역 회피를 위한 중요한 메카니즘이다. 항원을 만성적으로 감지하는 이팩터 T 세포는 PD-1 발현에 의해 표시되는 소진된 표현형을 띠며, 이러한 상태 하에 종양 세포가 PD-L1을 상향조절함으로써 관여한다. 추가적으로, 종양 미세환경에서, 골수 세포, 대식세포, 실질 세포 및 T 세포는 PD-L1을 상향조절한다. 상기 축의 차단이 이를 T 세포에서의 이팩터 기능을 회복시킨다.

[0006] 본원에 참조로 포함되는, 미국 특히 출원 공개 번호 US 20150225483 A1에는 항-프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1) 항체와 TGF β 중화 "트랩"으로서의 종양 성장 인자 베타 수용체 II형 (TGF β RII)의 가용성 세포외 도메인을 단일 분자로 조합한 이중기능적 융합 단백질이 기재되어 있다. 구체적으로, 상기 단백질은 인간 TGF β RII의 세포외 도메인에 가요성 글리신-세린 링커를 통해 유전자 융합된, 항-PD-L1의 2개의 이뮤노글로불린 경쇄 및 항-PD-L1의 중쇄를 포함하는 2개의 중쇄로 이루어진 이종사량체이다 (도 1 참조). 이러한 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자는 종양 미세환경에서 2가지의 주요 면역억제 메카니즘을 표적화하도록 설계된다. 미국 특히 출원 공개 번호 US 20150225483 A1에는 환자의 체중에 기반한 용량으로의 트랩 분자의 투여가 기재되어 있다.

발명의 내용

[0007] 본 개시내용은 PD-L1 및 TGF β 를 표적화하는 이중기능적 단백질의 투여를 위한 개선된 투약 레지멘을 제공한다. 구체적으로, 다양한 투약 빈도로 투여되는 적어도 500 mg의 이중기능적 단백질의 투여를 수반하는 체중 비의존성 (BW-비의존성) 투약 레지멘 및 관련된 투여 형태가 항종양 및 항암 치료제로서 사용될 수 있다. BW-비의존성 투약 레지멘은, 모든 환자가 체중에 상관없이 종양 부위에서 적절한 약물 노출을 가질 것을 보장한다.

[0008] 본 개시내용의 이중기능적 단백질 (항-PD-L1/TGF β 트랩 분자)은 제1 및 제2 폴리펩티드를 포함한다. 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편 (예를 들어, 가용성 단편)을 포함한다. 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 항체 또는 항체 단편)에 결합하는 항원 결합 부위를 형성한다. 본 개시내용의 이중기능적 단백질이 2개의 표적, 즉, (1) 대부분 막 결합되어 있는 PD-L1 및 (2) 혈액 및 간질 중에 가용성이 TGF β 에 결합하기 때문에, BW-비의존성 투약 레지멘은 종양 부위에서의 PD-L1을 억제하는데 효과적일 뿐만 아니라 TGF β 를 억제하기에도 충분한 용량을 요구한다.

[0009] 한 측면에서, 본 개시내용은 비소세포 폐암, 흑색종, 췌장암, 결장직장암 (예를 들어, 선행치료된 결장직장암 (CRC)), 난소암, 교모세포종, 위암 (예를 들어, 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암), 담도암, 식도암 (편평 세포 암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 및 두부 또는 경부의 편평세포 암종과 같은 암의 치료 또는 종양의 억제를 제공한다.

[0010] 본 개시내용은 또한 암을 치료하는데 사용하거나 또는 종양 성장을 억제하는데 사용하기 위한 상기 기재된 이중기능적 단백질을 특색으로 한다. 암 또는 종양은 결장직장암 (예를 들어, 선행치료된 결장직장암 (CRC)), 유방암, 난소암, 췌장암, 위암 (예를 들어, 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암), 전립선암, 신암, 자궁경부암, 골수종, 럼프종, 백혈병, 갑상선암, 자궁내막암, 자궁암, 방광암, 신경내분비암, 두경부암, 간암, 비인두암, 고환암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 흑색종, 기저 세포 피부암, 편평 세포 피부암, 용기성 피부섬유육종, 메르켈 세포 암종, 교모세포종, 신경교종, 육종, 중피종, 및 골수이형성 증후군으로부터 선택될 수 있다. 상기 용도는 방사선의 투여 또는 화학요법제, 생물제제 또는 백신의 투여를 추가로 포함할 수 있다.

[0011] 본 개시내용은 또한 TGF β 의 국부적인 고갈을 촉진하는 방법을 특색으로 한다. 방법은 상기 기재된 단백질을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 단백질은 용액 중의 TGF β 에 결합하고, 세포 표면 상의 PD-L1에 결합하며, 결합된 TGF β 를 세포 (예를 들어, 암 세포) 내로 운반한다.

[0012] 본 개시내용은 또한 세포 (예를 들어, 암 세포 또는 면역 세포) 내 SMAD3 인산화를 억제하는 방법이며, 종양 미세환경에서 세포를 상기 기재된 단백질에 노출시키는 것을 포함하는 방법을 특색으로 한다.

- [0013] 본 개시내용은 또한 종양 성장을 억제하거나 또는 암을 치료하는 방법을 특색으로 한다. 방법은 종양을 상기 기재된 단백질에 노출시키는 것을 포함한다. 방법은 종양을 방사선에 또는 화학요법제, 생물제제 또는 백신에 노출시키는 것을 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 종양 또는 암은 결장직장암 (예를 들어, 선행치료된 결장직장암 (CRC)), 유방암, 난소암, 췌장암, 위암 (예를 들어, 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암), 전립선암, 신암, 자궁경부암, 골수종, 림프종, 백혈병, 갑상선암, 자궁내막암, 자궁암, 방광암, 신경내분비암, 두경부암, 간암, 비인두암, 고환암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 흑색종, 기저 세포피부암, 편평 세포 피부암, 융기성 피부섬유육종, 메르켈 세포 암종, 교모세포종, 신경교종, 육종, 중피종, 및 골수이형성 증후군으로부터 선택된다.
- [0014] "TGF β RII" 또는 "TGF β 수용체 II"는 야생형 인간 TGF β 수용체 2형 이소형 A 서열 (예를 들어, NCBI 참조 서열 (RefSeq) 수탁 번호 NP_001020018의 아미노산 서열 (서열식별번호: 8))을 갖는 폴리펩티드 또는 야생형 인간 TGF β 수용체 2형 이소형 B 서열 (예를 들어, NCBI RefSeq 수탁 번호 NP_003233의 아미노산 서열 (서열식별번호: 9))을 갖는 폴리펩티드, 또는 서열식별번호: 8 또는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 실질적으로 동일한 서열을 갖는 것을 의미한다. TGF β RII는 야생형 서열의 TGF β -결합 활성의 적어도 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 25%, 35%, 50%, 75%, 90%, 95% 또는 99%를 보유할 수 있다. 발현된 TGF β RII의 폴리펩티드는 신호 서열이 없다.
- [0015] "TGF β 에 결합할 수 있는 TGF β RII의 단편"은 NCBI RefSeq 수탁 번호 NP_001020018 (서열식별번호: 8) 또는 NCBI RefSeq 수탁 번호 NP_003233 (서열식별번호: 9), 또는 서열식별번호: 8 또는 서열식별번호: 9와 실질적으로 동일한 서열의, 야생형 수용체 또는 상응하는 야생형 단편의 TGF β -결합 활성의 적어도 일부 (예를 들어, 적어도 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 25%, 35%, 50%, 75%, 90%, 95% 또는 99%)를 보유하는 적어도 20개 (예를 들어, 적어도 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 175 또는 200개) 아미노산 길이의 임의의 부분을 의미한다. 전형적으로 이러한 단편은 가용성 단편이다. 예시적인 이러한 단편은 서열식별번호: 10의 서열을 갖는 TGF β RII 세포외 도메인이다.
- [0016] "실질적으로 동일한"이란 참조 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 바람직하게는 60%, 70%, 75% 또는 80%, 보다 바람직하게는 85%, 90% 또는 95%, 가장 바람직하게는 99%의 아미노산 서열 동일성을 나타내는 폴리펩티드를 의미한다. 비교 서열의 길이는 일반적으로 적어도 10개의 아미노산, 바람직하게는 적어도 15개의 인접 아미노산, 보다 바람직하게는 적어도 20, 25, 50, 75, 90, 100, 150, 200, 250, 300 또는 350개의 인접 아미노산, 가장 바람직하게는 전장 아미노산 서열일 것이다.
- [0017] "환자"는 인간 또는 비-인간 동물 (예를 들어, 포유동물)을 의미한다. "환자", "대상체", "그를 필요로 하는 환자" 및 "그를 필요로 하는 대상체"는 본 개시내용에서 상호교환가능하게 사용되며, 본 개시내용에서 제공된 방법 및 조성물을 사용한 투여에 의해 치료될 수 있는 질환 또는 상태를 앓고 있거나 또는 이에 걸리기 쉬운 살아있는 유기체를 지칭한다.
- [0018] 본 개시내용에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료", 및 다른 문법적 등가물은 질환, 상태 또는 증상의 완화, 약화, 호전, 또는 방지, 추가의 증상의 방지, 증상의 기저 대사 원인의 호전 또는 방지, 질환 또는 상태의 억제, 예를 들어, 질환 또는 상태의 발생 정지, 질환 또는 상태의 경감, 질환 또는 상태의 퇴행 유발, 질환 또는 상태에 의해 유발된 상태의 경감, 또는 질환 또는 상태의 중단을 포함하며, 예방을 포함하도록 의도된다. 상기 용어는 치료적 이익 및/또는 예방적 이익을 달성하는 것을 추가로 포함한다. 치료적 이익은 치료하려는 기저 장애의 근절 또는 호전을 의미한다. 또한, 치료적 이익은, 환자가 여전히 기저 장애를 앓을 수도 있지만, 기저 장애와 연관된 생리학적 증상 중 1종 이상의 근절 또는 호전에 의해 환자에서 개선이 관찰되는 것으로 달성된다.
- [0019] "암"은 비정상적인 방식으로 증대하는 세포들의 집합체를 의미한다. 본원에 사용된 용어 "암"은 백혈병, 암종 및 육종을 포함한, 포유동물에서 발견되는 모든 유형의 암, 신생물, 악성 또는 양성 종양을 지칭한다. 예시적인 암은 유방암, 난소암, 결장암, 간암, 신장암, 폐암, 췌장암, 교모세포종을 포함한다. 추가의 예는 뇌암, 폐암, 비소세포 폐암, 흑색종, 육종, 전립선암, 자궁경부암, 위장암, 두경부암, 자궁암, 중피종, 전이성 골암, 수모세포종, 호지킨병, 비-호지킨 림프종, 다발성 골수종, 신경모세포종, 횡문근육종, 원발성 혈소판증가증, 원발성 마크로글로불린혈증, 요로 방광암, 전암성 피부 병변, 고환암, 림프종, 갑상선암, 신경모세포종, 식도암, 비뇨생식관 암, 악성 고칼슘혈증, 자궁내막암, 부신 피질암, 및 내분비 및 외분비 췌장의 신생물을 포함한다.
- [0020] 본 명세서의 상세한 설명 및 청구범위 전반에 걸쳐 단어 "포함하다" 및 상기 단어의 다른 형태, 예컨대 "포함하는" 및 "포함한다"는 비제한적으로 포함하는 것을 의미하며, 예를 들어, 다른 구성요소를 제외하도록 의도되지

않는다.

[0021] "공동-투여하다"란 본원에 기재된 조성물이 추가의 요법의 투여와 동시에, 그의 직전에, 또는 그의 직후에 투여되는 것을 의미한다. 본 개시내용의 단백질 및 조성물은 환자에게 단독으로 투여될 수 있거나 또는 제2, 제3 또는 제4 치료제(들)와 공동-투여될 수 있다. 공동-투여는 개별적으로 또는 조합하여 단백질 또는 조성물 (1종 초과의 치료제)의 동시적 또는 순차적 투여를 포함하도록 의도된다.

[0022] 용어 "어느 하나의"는 단수로 제한되도록 의도되지 않는다. 특정 실시양태에서, 용어 "어느 하나의"는 복수 형태를 지칭할 수도 있다. 본 개시내용 전반에 걸쳐 사용된 단수 형태는, 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는 한, 복수 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "조성물"이라는 언급은 단일 조성물 뿐만 아니라, 복수의 이러한 조성물을 포함한다.

[0023] "재구성된" 제제는 동결건조 제제를 수성 담체 중에 용해시켜, 이중기능적 분자가 재구성된 제제 중에 용해되도록 하여 제조된 것이다. 재구성된 제제는 그를 필요로 하는 환자에 대한 정맥내 투여 (IV)에 적합하다.

[0024] 용어 "약"은 제제의 제조 및 질환 또는 장애의 치료에서 작용제의 효능을 변화시키지 않는, 작용제의 농도 또는 양에서의 임의의 최소한의 변경을 지칭한다. 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 수치 값 또는 데이터 포인트의 ±15%를 포함할 수 있다.

[0025] 본 개시내용에서 범위는 "약"으로 수식된 하나의 특정한 값에서부터 및/또는 "약"으로 수식된 또 다른 특정한 값까지로 표현될 수 있다. 이러한 범위가 표현되는 경우에, 또 다른 측면은 하나의 특정한 값에서부터 및/또는 다른 특정한 값까지를 포함한다. 유사하게, 선행하는 "약"의 사용에 의해 값이 근사값으로서 표현되는 경우에, 특정한 값은 또 다른 측면을 형성하는 것으로 이해된다. 추가로, 각각의 범위의 종점은 다른 종점과 관련하여 및 다른 종점과 독립적으로 둘 다 유의한 것으로 이해된다. 또한, 본 개시내용에 개시된 다수의 값이 존재하며, 각각의 값이 또한 자체의 그 값 뿐만 아니라 "약"으로 수식된 그 특정한 값으로 개시되는 것으로 이해된다. 또한, 본 출원 전반에 걸쳐, 데이터는 다수의 상이한 포맷으로 제공되며, 이러한 데이터는 종점 및 시작점 및 데이터 포인트의 임의의 조합에 대한 범위를 나타내는 것으로 이해된다. 예를 들어, 특정한 데이터 포인트 "10" 및 특정한 데이터 포인트 "15"가 개시된다면, 10 내지 15 뿐만 아니라 10 및 15 초과, 이상, 미만, 이하, 및 그와 동일한 것이 개시된 것으로 간주된다는 것이 이해된다. 또한, 2개의 특정한 단위 사이의 각각의 단위가 또한 개시된 것으로 이해된다. 예를 들어, 10 및 15가 개시된다면, 11, 12, 13, 및 14가 또한 개시된 것이다.

[0026] "등장성" 제제는 인간 혈액과 본질적으로 동일한 삼투압을 갖는 것이다. 등장성 제제는 일반적으로 약 250 내지 350 mOsmol/KgH₂O의 삼투압을 가질 것이다. 용어 "고장성"은 인간 혈액의 삼투압을 초과하는 삼투압을 갖는 제제를 기재하는데 사용된다. 등장성은, 예를 들어, 증기압 또는 빙결 유형 삼투압계를 사용하여 측정될 수 있다.

[0027] 용어 "완충제"는, 수성 용액에 첨가되는 경우에, 산 또는 알칼리 첨가 시 또는 용매로의 화석 시 pH 변동에 대해 용액을 보호할 수 있는 1종 이상의 구성요소를 지칭한다. 포스페이트 완충제 이외에도, 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제 등이 사용될 수 있으며, 이러한 경우에, 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대이온으로서 작용할 수 있다.

[0028] "산"은 수성 용액 중에서 수소 이온을 산출하는 물질이다. "제약상 허용되는 산"은, 이들이 제제화되는 농도 및 방식에서 비독성인 무기 및 유기 산을 포함한다.

[0029] "염기"는 수성 용액 중에서 히드록실 이온을 산출하는 물질이다. "제약상 허용되는 염기"는, 이들이 제제화되는 농도 및 방식에서 비-독성인 무기 및 유기 염기를 포함한다.

[0030] "동결건조보호제"는, 관심 단백질과 조합되는 경우에, 동결건조 및 후속 저장 시 단백질의 화학적 및/또는 물리적 불안정성을 방지 또는 감소시키는 분자이다.

[0031] "보존제"는 박테리아 작용을 감소시키며, 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있는 작용제이다. 보존제의 첨가는, 예를 들어, 다화-사용 (다중-용량) 제제의 제조를 가능하게 할 수 있다. 잠재적 보존제의 예는 옥타데실디메틸 벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤즈알코늄 클로라이드 (알킬 기가 장쇄 화합물인 알킬벤질디메틸암모늄 클로라이드의 혼합물), 및 벤제토늄 클로라이드를 포함한다. 다른 유형의 보존제는 방향족 알콜 예컨대 페놀, 부틸 및 벤질 알콜, 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레조르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올 및 m-크레졸을 포함한다.

[0032]

"계면활성제"는 소수성 부분 (예를 들어, 알킬 쇄) 및 친수성 부분 (예를 들어, 카르복실 및 카르복실레이트 기) 둘 다를 함유하는 표면 활성 분자이다. 계면활성제가 본 발명의 제제에 첨가될 수 있다. 본 발명의 제제에 사용하기에 적합한 계면활성제는 폴리소르베이트 (예를 들어 폴리소르베이트 20 또는 80); 폴록사머 (예를 들어 폴록사머 188); 소르비탄 에스테르 및 유도체; 트리톤; 나트륨 라우렐 술페이트; 나트륨 옥틸 글리코시드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-술포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸- 또는 세틸-베타인; 라우르아미도프로필-, 코카미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필베타인 (예를 들어, 라우로아미도프로필); 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필-디메틸아민; 나트륨 메틸 코코일- 또는 이나트륨 메틸 올레일-타우레이트; 및 모나쿼트(MONAQUAT)TM 시리즈 (모나 인더스트리즈, 잉크.(Mona Industries, Inc.), 뉴저지주 패터슨), 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 및 에틸렌 및 프로필렌 글리콜의 공중합체 (예를 들어, 플루로닉스, PF68 등)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0033]

본 개시내용의 다른 실시양태 및 세부사항이 본원 하기에 제시된다.

도면의 간단한 설명

[0034]

도 1은 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4\text{Gly}$ (서열식별번호: 11) 링커를 통해 TGF β 수용체 II의 2개의 세포외 도메인 (ECD)에 융합된 1개의 항-PD-L1 항체를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 개략적 도면이다.

도 2는 항-PD-L1/TGF β 트랩이 PD-L1 및 TGF β 둘 다에 동시에 결합하는 것을 입증하는 2-단계 ELISA의 그래프를 제시한다.

도 3은 항-PD-L1/TGF β 트랩이 IL-2 수준의 현저한 증가를 유도한다는 것을 제시하는 그래프이다.

도 4a는 항-PD-L1/TGF β 트랩에 대한 반응으로 생체내 TGF β 1의 고갈을 제시하는 그래프이다. 선 그래프는 범례에 나타내어진 바와 같이, 나이브, 이소형 대조군 및 3가지의 상이한 용량을 나타낸다. 도 4b는 항-PD-L1/TGF β 트랩에 대한 반응으로 생체내 TGF β 2의 고갈을 제시하는 그래프이다. 선 그래프는 범례에 나타내어진 바와 같이, 나이브, 이소형 대조군 및 3가지의 상이한 용량을 나타낸다. 도 4c는 항-PD-L1/TGF β 트랩에 대한 반응으로 생체내 TGF β 3의 고갈을 제시하는 그래프이다. 선 그래프는 범례에 나타내어진 바와 같이, 나이브, 이소형 대조군 및 3가지의 상이한 용량을 나타낸다. 도 4d는 항-PD-L1/TGF β 트랩에 의한 PD-L1의 점유율이 EMT-6 종양 시스템에서의 수용체 결합 모델을 지지한다는 것을 제시하는 그래프이다.

도 5는 Detroit 562 이종이식편 모델에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩 대조군 (항-PD-L1(mut)/TGF β)의 항종양 효능을 제시하는 그래프이다.

도 6a는 클리어런스와 체중 사이의 관계를 제시하는 산점도이다. 선은 CL과 BW 사이의 관계를 입증하는 회귀선을 나타낸다. 도 6b는 분포 용적 (V)과 체중 사이의 관계를 제시하는 산점도이다. 선은 V와 BW 사이의 관계를 입증하는 회귀선을 나타낸다.

도 7a는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{avg} 분포의 박스-플롯이다. 도 7b는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 노출 AUC 분포의 박스-플롯이다. 도 7c는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다. 도 7d는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다.

도 7e는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{avg} 분포의 박스-플롯이다. 도 7f는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 노출 AUC 분포의 박스-플롯이다. 도 7g는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다. 도 7h는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다.

도 8a는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한

체중 사분위수에서의 C_{avg} 분포의 박스-플롯이다. 도 8b는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 체중 사분위수에서의 노출 (AUC) 분포의 박스-플롯이다. 도 8c는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 체중 사분위수에서의 $C_{최저}$ 분포의 박스-플롯이다. 도 8d는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 체중 사분위수에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다.

도 8e는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 체중 사분위수에서의 C_{avg} 분포의 박스-플롯이다. 도 8f는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 체중 사분위수에서의 노출 (AUC) 분포의 박스-플롯이다. 도 8g는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 체중 사분위수에서의 $C_{최저}$ 분포의 박스-플롯이다. 도 8h는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 체중 사분위수에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다.

도 9a는 예측된 종양 부피 대 관찰된 종양 부피를 제시하는 PK-효능 모델에 대한 적합도의 산점도이다. 도 9b는 조건부 가중 잔차 (GWRES) 대 투약 후 시간을 제시하는 PK-효능 모델에 대한 적합도의 산점도이다.

도 10a ~10c는 마우스의 종양 퇴행과 연관된 용량 및 스케줄에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 예측된 PK 및 PD-L1 수용체 점유율 ("RO")을 제시하는 그래프이다. 도 10a는 예측된 혈장 농도 대 시간을 제시하는 그래프이다. 도 10b는 PBMC에서의 예측된 PD-L1 RO 대 시간을 제시하는 그래프이다. 도 10c는 종양에서의 예측된 PD-L1 RO 대 시간을 제시하는 그래프이다.

그림 11a ~11c는 마우스의 종양 정체와 연관된 용량 및 스케줄에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 예측된 PK 및 PD-L1 수용체 점유율 ("RO")을 제시하는 그래프이다. 도 11a는 예측된 혈장 농도 대 시간을 제시하는 그래프이다. 도 11b는 PBMC에서의 예측된 PD-L1 RO 대 시간을 제시하는 그래프이다. 도 11c는 종양에서의 예측된 PD-L1 RO 대 시간을 제시하는 그래프이다.

그림 12a~12b는 68 kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 다양한 투약 레지멘에 대한 전체 집단에서의 시뮬레이션 노출 분포 (도 12a: $C_{평균}$, 도 12b: $C_{최저}$)의 박스-플롯이다.

도 13은 이전에 진행성 질환 (1차 불응성 및 획득 저항성 질환 둘 다)을 갖는 환자가 유의한 질환 안정화를 달성하였다는 것을 입증하는 스파이더 플롯이다. 질환 반응 및 질환 안정화를 갖는 환자는 이러한 연구를 개시하기 전에 다양한 선행 치료를 받은 것으로 주지되었고, 심지어 시험을 시작하기 직전에 다양한 치료를 받았으며, 이는 선행 PDX 노출을 갖는 환자의 이질적 집단에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩의 임상 활성을 시사한다 (흑색 삼각형: 치료-중단 대상체; 흑색 다이아몬드: 새로운 병변의 최초 발생).

도 14는 항-PD-1/PD-L1 치료법으로 치료된 환자에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 효능의 막대 그래프를 제시한다. 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 효능이 선행 항-PD-1/PD-L1에 대해 불응성 (흑색 막대) 및 저항성 (백색 막대)으로 확인된 일부 환자 집단에서 관찰되었다 (직경의 합계에서의 백분율 변화의 대략 0의 값 또는 음의 값이 효능을 나타냄).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 체중-비의존성 투약 레지멘

분자의 다양한 전임상 및 임상 평가 결과에 의해 확인된, 적어도 500 mg의 본원에 기재된 이중기능적 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 투여를 수반하는 체중-비의존성 투약 레지멘이 개발되었다. 2가지 연구가 분자의 안전성, 내약성 및 약동학을 조사하며, 치료된 환자의 혈액으로부터 수득된 말초 혈액 단핵 세포 상의 PD-L1 표적 점유율의 평가 및 TGF β 1, TGF β 2 및 TGF β 3의 농도의 측정을 포함하였다. 이를 평가는 총 350명의 대상체 (고령 종양의 1, 3, 10 및 20 mg/kg의 용량 증량 코호트 및 선택된 종양 유형의 3 mg/kg, 10 mg/kg, 500 mg 및 1200 mg의 확장 코호트)로부터의 데이터에 기반하였다. 분석 시 데이터 컷-오프 일자에, 중앙 치료 지속기간은 대략 28일이었다.

[0037] PK/효능 모델 (마우스 모델)

종양 모델에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 효능을 결정하기 위한 실험을 또한 수행하였다. EMT-6 이종이식

편으로부터의 효능 결과를 사용하여 PK/효능 모델을 확립하였다. 마우스에서의 확립된 PK 모델을 사용하여 효능 실험 설정을 위한 항-PD-L1/TGF β 트랩 혈장 노출을 시뮬레이션하였다. 추정 파라미터가 표 1에 기록되어 있다. 추정 K_{C50} 값은 55.3 $\mu\text{g/mL}$ 였다. 이 값은 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 최대 항종양 활성의 50%가 달성될 수 있는 평균 혈장 농도를 나타낸다.

[0039] 모델의 기본 진단법 플롯은 모델 설정오류를 드러내지 않았다. 모델 예측은 종양 부피 분포를 포착할 수 있다 (도 9a). 조건부 가중 잔차는 추세 없이 평균이 0이고 분산이 1인 정규 분포이다 (도 9b). 이어서, PK/효능 모델을 사용하여 상이한 용량에서의 인간 예측 농도-시간 프로파일을 통한 종양 성장 억제 (TGI)를 시뮬레이션하였다.

표 1: EMT-6 이종이식편 마우스에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자에 대한 마우스 PK/효능 모델 파라미터

파라미터	추정치	Std	CV%	%IIV
$K_g (\text{h}^{-1})$	0.068	0.0005	0.82	40
$K_t (\text{h}^{-1})$	0.055	0.0024	4.4	76
$K_{C50} (\text{ng/mL})$	55324.6	522.3	4.4	232
K_{max}	2	0.09	1	93
기준선 (mm^3)	88.3	0.87	1	47

[0041]

[0042] PD-L1 점유율에 기반한 반응 분석 (마우스 모델에서)

[0043] 효능 실험을 사용하여, 마우스에서의 반응을 분석하여 종양 퇴행 또는 종양 정체에 의해 분류하고, PK 및 PD-L1 수용체 점유율 (RO)을 통합형 PK/RO 모델에 기반하여 예측하였다. 상기 접근법은 종양에서의 95% 초과의 PD-L1 RO와 연관된 40 내지 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자 혈장 농도가 종양 퇴행에 도달하는데 요구된다는 것을 입증하였다 (도 9a-9b). 말초에서의 95% 초과의 PD-L1 RO와 연관된 10 내지 40 $\mu\text{g/mL}$ 의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자 혈장 농도가 종양 정체에 도달하는데 요구된다 (도 10a-10c).

[0044] 마우스에서의 반응 분석 및 예측 PK/RO는, 마우스에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자에 대한 PK/RO/효능을 요약한 도 11a-11c로 이어진다. 95%의 PD-L1 RO는 단지 약 65%의 예상/추정 TGI와 함께 40 $\mu\text{g/mL}$ 의 혈장 농도에서 달성된다. 농도를 40 $\mu\text{g/mL}$ 을 초과하여 증가시키면 종양 성장 억제의 추가의 증가가 초래된다. 95%의 종양 성장 억제가 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 평균 혈장 농도에서 달성된다.

[0045] 하기 기재된 집단 PK 모델에 따르면, 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 평균 농도를 유지하기 위해서는 2주마다 1회 투여되는 적어도 500 mg의 균일 용량이 요구되는 한편, 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 C_{max} 를 유지하기 위해서는 2주마다 1회 투여되는 약 1200 mg의 균일 용량이 요구된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200, 약 1300, 약 1400, 약 1500, 약 1600, 약 1700, 약 1800, 약 1900, 약 2000, 약 2100, 약 2200, 약 2300, 약 2400 등)의 본 개시내용의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)이 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자가 2주마다 1회 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자가 3주마다 1회 대상체에게 투여된다.

[0046] 실시양태에서, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg 등)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 대상체에게 투여된다.

[0047] 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 2주마다 1회 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 3주마다 1회 대상체에게 투여된다.

[0048] 인간에서의 약동학 (PK) 분석 샘플링

[0049] 약동학 (PK) 데이터 분석을 위한 혈청 샘플을 제1 용량의 시작 전에 및 제1 용량 후 하기 시점: 제1일에 주입 직후 및 주입 시작으로부터 4시간 후; 제2일에 제1일 주입 종료로부터 적어도 24시간 후; 및 제8일 및 제15일에 수집하였다. 선택된 후속 투약 경우에는 투약전, 주입 종료 및 주입 종료로부터 2 내지 8시간 후에 샘플을 제

15일, 제29일, 제43일에 수집하였다. 그 후의 시점 제57일, 제71일 및 제85일에는, 투약전 샘플을 수집하거나 또는 수집해야 하며, 이어서 12주까지는 6주마다 1회 PK 샘플링하고, 그 뒤에는 12주마다 1회 PK 샘플링하였다. 확장기에는 간헐적 PK 샘플링을 수행하였다.

[0050] 체중-비의존성 투약 레지멘의 확립

노출에서의 보다 적은 변동성을 달성하고, 투약 오차를 줄이며, 용량 준비에 필요한 시간을 줄이고, mg/kg 투약과 비교하여 약물 낭비를 줄임으로써, 유리한 치료 결과를 가능하게 하는, 임상 및 전임상 데이터에 의해 확인된, 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 투여를 위한 새로운 체중-비의존성 투약 레지멘이 창출되었다. 한 실시양태에 따르면, 환자의 체중에 상관없이 적어도 500 mg의 균일 용량이 투여될 수 있다. 또 다른 실시양태에 따르면, 환자의 체중에 상관없이 적어도 1200 mg의 균일 용량이 투여될 수 있다. 전형적으로, 이러한 용량은 반복적으로, 예컨대, 예를 들어 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여될 것이다.

상기 기재된 "인간에서의 PK 분석 샘플링"으로부터의 PK 데이터를 사용하여 집단 PK 모델을 생성하고 가능한 투약 레지멘의 시뮬레이션을 수행하였다. 문헌 [Gastonguay, M., Full Covariate Models as an Alternative to Methods Relying on Statistical Significance for Inferences about Covariate Effects: A Review of Methodology and 42 Case Studies, (2011) p. 20, Abstract 2229]에 기재된, 완전 모델 접근법으로서 공지된 모델링 방법을 시뮬레이션으로부터 입수된 집단 모델 데이터에 적용하여 하기 특색을 갖는 파라미터를 입수하였다: 2-구획 PK 모델, 선형 제거, CL, V1 및 V2에 관한 IIV, 혼합 가산 및 비례 잔차 오차, CL 및 V1에 관한 전체 공변량 모델. 하기 기준선 공변량을 최종 모델에 포함시켰다: 연령, 체중, 성별, 인종, 알부민, CRP, 혈소판 카운트, eGFR, 간 손상, ECOG 스코어, 중양 크기, 종양 유형 및 생물제제로의 선행 치료. 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)의 약동학의 대표 파라미터 추정치의 하기 추정치를 입수하였다: 클리어런스 (CL) 0.0177 L/h (6.2%), 중심 분포 용적 (V1) 3.64 L (8.81%), 말초 분포 용적 (V2) 0.513 L (25.1%) 및 구획간 클리어런스 (Q) 0.00219 L/h (17.8%). 환자간 변동성은 CL의 경우에는 22%, V1의 경우에는 20%, V2의 경우에는 135%였다. 체중은 CL 및 V1 둘 다에 관한 관련 공변량이었다. 균일 투약 접근법을 지지하기 위해, 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)의 노출 변동성에 대한 투약 전략의 영향을 탐구하였다. 구체적으로, 2주마다 1회 1200 mg의 균일 투약 접근법 대 2주마다 1회 17.65 mg/kg (68 kg 대상체에 대한 2주마다 1회 1200 mg에 상응함) 또는 2주마다 1회 15 mg/kg (80 kg 대상체에 대한 1200 mg에 상응함)의 BW-조정된 투약 접근법을 사용한 노출 분포를 비교하기 위한 시뮬레이션을 수행하였다. 2주마다 1회 500 mg의 균일 투약 접근법 대 2주마다 1회 7.35 mg/kg의 BW-조정된 투약 접근법 (68 kg 대상체에 대한 2주마다 1회 500 mg에 상응함)을 사용한 노출 분포를 비교하기 위한 추가의 시뮬레이션을 수행하였다. 추가로, 3주마다 1회 하기 균일 용량을 평가하기 위한 시뮬레이션을 수행하였다: 1200 mg, 1400 mg, 1600 mg, 1800 mg, 2000 mg, 2200 mg, 2400 mg, 2600 mg, 2800 mg, 3000 mg.

하기 시뮬레이션 방법론을 사용하였다: 파라미터 추정치의 N=200 세트를 파라미터 추정치의 다변량 정규 분포로부터, 최종 PK 모델 분산-공분산 행렬을 사용하여 도출하였다. 각각의 파라미터 추정치에 대해, 200개의 IIV 추정치를 \$OMEGA 다변량 정규 분포로부터 도출하여, 총 40000개 (200 x 200)의 대상을 초래하였다. 최초 데이터세트 (N=380)를 대체와 함께 재샘플링하여 매칭된 공변량의 40000개 세트를 생성하고, 정상-상태 노출 메트릭스 (AUC, C_{avg}, C_{최저} 및 C_{max})를 각각의 투약 레지멘에 대해 생성하였다.

시뮬레이션은 넓은 BW 스펙트럼에 걸쳐, 노출에서의 변동성이 고정 투약에 비해 BW-기반 투약에서 약간 더 높다는 것을 제시하였다. 68 kg의 중앙 체중에 대해 17.65 mg/kg 및 1200 mg 균일 용량 또는 7.35 mg/kg 및 500 mg 균일 용량에서의 노출 분포의 예가 각각 도 7a 및 7b에 제시되어 있다. 시뮬레이션은 또한 환자 집단 전체에 걸쳐 체중 사분위수에서의 노출 분포의 반대 추세를 제시하였다: 저체중 환자는 고정 투약으로 보다 높은 노출을 갖는 반면, 고체중 환자는 BW-조정 투약으로 보다 높은 노출을 갖는다.

68 kg의 중앙 체중에 대한 17.65 mg/kg 및 1200 mg 균일 용량 또는 7.35 mg/kg 및 500 mg 균일 용량에서의 체중 사분위수에서의 노출 분포의 예가 각각 도 8a 및 8b에 제시되어 있다.

인간에서의 효과적인 용량/투약 레지멘 및 노출의 확립: 항-PD-L1/TGF β 트랩의 2주마다 1회 (q2w) 투약 이후 2차 비소세포 폐암 (2L NSCLC)에서의 예비 용량-반응 및 노출-반응

한 측면에서, 용량-반응 및 노출-반응 평가는 2L NSCLC의 치료에서 500 mg 또는 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩을 2주마다 1회 (q2w) 투여한 80명의 대상체 (코호트당 n=40)로부터의 데이터에 기반한다. 대상체의 용량-반응 및 노출-반응을 평가하였다. 분석 시 데이터 컷-오프일에, 총 17명의 대상체가 여전히 치료 중이었으며,

35.2주 (범위, 1.3-47.3주)의 중앙 추적 기간을 가졌다. 조사자-평가된 미화증 전체 반응률 (ORR)은 25.0% (500 mg ORR, 22.5%; 1200 mg ORR, 27.5%)였으며, 500 mg에서 9건의 부분 반응 (PR)이 확인되었고, 1200 mg에서 1건의 완전 반응 (CR) 및 10건의 PR이 확인되었다. 임상 활성을 PD-L1 발현 수준에 따라 관찰하는데, ≥80%의 PD-L1 종양 발현을 갖는 환자 (7명의 환자)에서 1200 mg에서의 71.4%의 ORR이 주지되었다. 가장 흔한 치료-관련 유해 사건 (TRAE)은 소양증 (18.8%), 반점구진성 발진 (17.5%), 감소된 식욕 (12.5%) 및 무력증 (11.3%)이었다. 등급 ≥3 TRAE가 20명의 환자 (25%)에서 발생하였다. 치료-관련 사망은 발생하지 않았다.

[0058] 노출-반응 평가를 위해, 상기 기재된 집단 PK 모델을 사용하여 이들 80명 환자로부터의 투약 및 공변량 정보에 기반하여 1차 사이클 노출을 예측하였다. 구체적으로, 단일 용량 후의 AUC 및 $C_{\text{최저}, \text{sd}}$ 를 집단 PK 파라미터의 경험적 베이즈 추정법을 사용하여 모든 대상체에 대해 예측하였다 (표 2 및 3).

표 2: 코호트에 따른 예측된 $AUC_{0-336h, \text{sd}}$ 의 요약

코호트	중앙값 ($\text{mg}^*\text{h/L}$)	2.5-97.5 백분위수($\text{mg}^*\text{h/L}$)
500 mg q2w	27346	14561-59193
1200 mg q2w	64981	47449-84799

[0060]

$AUC_{0-336h, \text{sd}}$ =집단 PK 모델을 사용하여 예측된, 단일 용량 이후 0-336 hr. 기간 동안의 AUC.

표 3: 코호트에 따른 예측된 $C_{\text{최저}, \text{sd}}$ 의 요약

코호트	중앙값 ($\mu\text{g/mL}$)	2.5-97.5 백분위수 ($\mu\text{g/mL}$)
500 mg q2w	31.82	9.803-100.6
1200 mg q2w	78.76	51.25-136.2

[0063]

$C_{\text{최저}, \text{sd}}$ =집단 PK 모델을 사용하여 예측된, 단일 용량 이후의 $C_{\text{최저}}$.

[0064] 500mg q2w 및 1200 mg q2w 코호트에 대해 예측된 노출 데이터를 조합하여, 하기 표 4 및 표 5에 제시된 바와 같이, 예측된 노출의 각각의 사분위수에서의 반응률을 계산하였다. 이들 예비 데이터는 1200 mg q2w가 500 mg q2w에 비해 더 유리한 효능 프로파일을 제공할 수 있다는 것을 시사한다. 게다가, 이들 데이터는 1200 mg q2w 투약 레지メン으로 달성된 노출의 범위가 2L NSCLC에서의 반응과 연관있으며 (RECIST v1.1), 이러한 노출 범위가 하기 실시예에 제시된 바와 같이 대안적 투약 레지멘을 설계하는데 사용될 수 있다는 것을 시사한다 (도 12).

[0065] 표 4: 2주마다 1회 500 mg 또는 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩으로 치료된 2L NSCLC 대상체에서의 $AUC_{0-336h, \text{sd}}$ 에 따른 관찰된 반응률

$AUC_{0-336h, \text{sd}}$ 사분위수	500 mg 코호트 내 반응자의 수	1200 mg 코호트 내 반응자의 수	사분위수당 반응자의 총수	총 반응률
0-25%	2/20	0/0	2/20	10%
25-50%	5/18	0/2	5/20	25%
50-75%	1/1	4/19	5/20	25%
75-100%	0/1	6/19	6/20	30%

[0066]

$AUC_{0-336h, \text{sd}}$ =집단 PK 모델을 사용하여 예측된, 단일 용량 이후 0-336 hr. 기간 동안의 AUC.

[0067] 표 5: 2주마다 1회 500 mg 또는 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩으로 치료된 2L NSCLC 대상체 (용량 균당 n=40)에서의 $C_{\text{최저}, \text{sd}}$ 에 따른 관찰된 반응률.

$C_{\text{최저}, \text{sd}}$ 사분위수	500 mg 코호트 내 반응자의 수	1200 mg 코호트 내 반응자의 수	반응자의 총수	총 반응률
0-25%	1/20	0/0	1/20	5%
25-50%	5/15	0/5	5/20	25%
50-75%	1/3	3/17	4/20	20%
75-100%	1/2	7/18	8/20	40%

[0068]

- [0071] $C_{\text{최저}, \text{sd}}$ =집단 PK 모델을 사용하여 예측된, 단일 용량 이후의 $C_{\text{최저}}$.
- [0072] 다양한 투약 빈도를 갖는 투약 레지멘의 확립
- [0073] 멀 빈번한 투여를 가능하게 하고/거나 병용 의약과의 투여 스케줄의 조정을 가능하게 하는, 다양한 투약 빈도를 갖는 데이터 레지멘을 생성하였다. 구체적으로, 상기 기재된 예비 집단 PK 모델링 및 시뮬레이션 방법론을 사용하여, 다양한 투약 레지멘에 대한 노출을 시뮬레이션하고 노출에 기반하여 레지멘을 비교하였다.
- [0074] 이들 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회 투여되는 적어도 500 mg의 균일 용량은 대표 대상체에 대해 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 평균 농도를 유지하도록 요구되는 한편, 2주마다 1회 투여되는 약 1200 mg의 균일 용량은 약 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 $C_{\text{최저}}$ 를 유지하도록 요구된다.
- [0075] C_{avg} 에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 1200 mg은 3주마다 1회의 1800 mg에 해당되는 한편 (도 12a), $C_{\text{최저}}$ 에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 1200 mg은 3주마다 1회의 2800 mg에 해당된다 (도 12b). 또한 C_{avg} 에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 500 mg은 3주마다 1회의 750 mg에 해당되고; $C_{\text{최저}}$ 에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 500 mg은 3주마다 1회의 1,167 mg에 해당된다.
- [0076] 암 표적으로서의 TGF β
- [0077] 본 개시내용은 특정 종양 세포 또는 면역 세포의 외부 표면 상에서 발견되는 세포성 면역 체크포인트 수용체를 표적화하는 항체 모이어티에 테더링된 가용성 시토카인 수용체 (TGF β RII)를 사용하여 TGF β 를 포착함으로써 종양 미세환경에서의 TGF β 의 국부적인 감소를 가능하게 한다. 면역 체크포인트 단백질에 대한 본 개시내용의 항체 모이어티의 예는 항-PD-L1이다. 본 명세서에서 때때로 "항체-시토카인 트랩"이라 지칭되는, 이러한 이중기능적 분자는, 항-수용체 항체 및 시토카인 트랩이 물리적으로 연결되기 때문에, 정확하게 효과적이다. 이에 따른 이점 (예를 들어, 항체 및 수용체를 별개의 분자로서 투여하는 것 대비)은, 부분적으로, 시토카인이 자가분비 및 주변분비 기능을 통해 국부 환경에서 우세하게 기능하기 때문이다. 항체 모이어티는 국부 면역억제성 자가분비 또는 주변분비 효과를 중화함으로써 그것이 가장 효과적일 수 있는 종양 미세환경으로 시토카인 트랩을 향하게 한다. 게다가, 항체의 표적이 항체 결합 시 내재화되는 경우에, 시토카인/시토카인 수용체 복합체의 클리어런스를 위한 효과적인 메카니즘이 제공된다. 항체-매개 표적 내재화가 PD-L1에 대해 제시되었고, 항-PD-L1/TGF β 트랩은 항-PD-L1과 유사한 내재화 속도를 갖는 것으로 제시되었다. 이는 첫째로, 항-TGF β 항체가 완전히 중화되지 않았을 수도 있고; 둘째로, 항체가 시토카인의 반감기를 연장하는 담체로서 작용할 수 있기 때문에 항-TGF β 항체를 사용하는 것에 비해 뚜렷한 이점이다.
- [0078] 실제로, 하기 기재된 바와 같이, 항-PD-L1/TGF β 트랩으로의 치료는 종양 세포 상의 PD-L1과 면역 세포 상의 PD-1 사이의 상호작용 및 종양 미세환경에서의 TGF β 의 중화의 동시 차단으로 인해 상승작용적 항종양 효과를 도출한다. 이론에 얹매이지는 않지만, 이는 아마도 2가지의 주요 면역 회피 메카니즘을 동시에 차단하는 것과, 추가적으로 단일 분자 개체에 의한 종양 미세환경에서의 TGF β 의 고갈로부터 얻어지는 상승작용적 효과 때문일 것이다. 이러한 고갈은 (1) 종양 세포의 항-PD-L1 표적화; (2) TGF β 트랩에 의한 종양 미세환경에서의 TGF β 자가분비/주변분비의 결합; 및 (3) 결합된 TGF β 의 PD-L1 수용체-매개 세포내이입을 통한 파괴에 의해 달성된다. 게다가, Fc (IgG의 결정화 단편)의 C-말단에 융합된 TGF β RII는 Fc의 N-말단에 TGF β RII가 위치한 TGF β RII-Fc보다 수배 더 강력하였다.
- [0079] TGF β 는 암의 분자상 지킬 및 하이드로서의 그의 모순적인 역할로 인해 암 면역요법에서 다소 모호한 표적이었다 (Bierie et al., Nat. Rev. Cancer, 2006; 6:506-20). 일부 다른 시토카인과 같이, TGF β 활성을 발생 단계 및 상황 의존적이다. 실제로, TGF β 는 종양 촉진인자 또는 종양 억제인자로서 작용하여, 종양 개시, 진행 및 전이에 영향을 미칠 수 있다. TGF β 의 이러한 이중 역할의 기저 메카니즘은 여전히 불명확하다 (Yang et al., Trends Immunol. 2010; 31:220-227). Smad-의존성 신호전달이 TGF β 의 성장 억제 신호전달을 매개하는 반면, Smad 비의존성 경로는 그의 종양-촉진 효과에 기여하는 것으로 상정되어 있음에도 불구하고, Smad-의존성 경로가 종양 진행에도 수반된다는 것을 제시하는 데이터가 또한 존재한다 (Yang et al., Cancer Res. 2008; 68:9107-11).
- [0080] TGF β 리간드 및 수용체 둘 다는 치료 표적으로서 집중적으로 연구된 바 있다. 3종의 리간드 이소형, 즉 TGF β 1, 2 및 3이 존재하며, 이들 모두는 동종이량체로서 존재한다. 또한 3종의 TGF β 수용체 (TGF β R)가 존재하며, 이들은 TGF β R I형, II형 및 III형으로 칭해진다 (Lopez-Casillas et al., J Cell Biol. 1994; 124:557-68). TGF β RI은 신호전달 쇄이며, 리간드에 결합할 수 없다. TGF β RII는 높은 친화도로 리간드 TGF β 1 및 3에 결합

하지만, TGF β 2에는 결합하지 않는다. TGF β RII/TGF β 복합체는 TGF β RI을 동원하여, 신호전달 복합체를 형성한다 (Won et al., Cancer Res. 1999; 59:1273-7). TGF β RIII은 TGF β 가 그의 신호전달 수용체에 결합하는 것의 양성 조절자이며, 모든 3종의 TGF β 이소형에 높은 친화도로 결합한다. 세포 표면 상에서, TGF β /TGF β RIII 복합체는 TGF β RII에 결합하고, 이어서 TGF β RI을 동원하며, 이는 TGF β RIII을 대체하여 신호전달 복합체를 형성한다.

[0081] 3종의 상이한 TGF β 이소형 모두가 동일한 수용체를 통해 신호를 전달하지만, 이들은 생체 내에서 차등 발현 패턴 및 비-중첩 기능을 갖는 것으로 공지되어 있다. 3종의 상이한 TGF- β 이소형 녹아웃 마우스는 구별되는 표현형을 가지며, 이는 수많은 비-보상 기능을 나타낸다 (Bujak et al., Cardiovasc Res. 2007; 74:184-95). TGF β 1 널 마우스는 조혈 및 혈관생성 결함을 가지고, TGF β 3 널 마우스는 폐 발생 및 결함있는 구개발생을 나타내는 한편, TGF β 2 널 마우스는 다양한 발달 이상을 제시하며, 다중 심장 변형이 가장 현저하다 (Bartram et al., Circulation. 2001; 103:2745-52; Yamagishi et al., Anat Rec. 2012; 295:257-67). 게다가, TGF β 는 혀혈 및 재관류 손상 후의 심근 손상의 회복에서의 주요 역할에 연루된다. 성인 심장에서, 심근세포는 TGF β 를 분비하고, 이는 자가분비물로서 작용하여 자발적인 박동수를 유지시킨다. 중요하게는, 심근세포에 의해 분비되는 TGF β 의 70-85%가 TGF β 2이다 (Roberts et al., J Clin Invest. 1992; 90:2056-62). TGF β RI 키나제 억제제로의 치료에 의해 제기된 심장독성 우려에도 불구하고, 본 출원인은 원숭이에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩에 있어서, 심장독성을 포함한 독성의 결여를 관찰하였다.

[0082] TGF β 를 중화시키는 치료 접근법은 가용성 수용체 트랩으로서의 TGF β 수용체의 세포외 도메인 및 중화 항체를 사용하는 것을 포함한다. 수용체 트랩 접근법에서, 가용성 TGF β RIII은 모든 3종의 TGF β 리간드에 결합하기 때문에 확실한 선택으로 보일 수 있다. 그러나, 762개 아미노산 잔기의 세포외 도메인을 갖는, 280-330 kD 글리코사미노글리칸 (GAG)-당단백질로서 자연 발생하는 TGF β RIII은 생물요법제 개발을 위한 매우 복합적인 단백질이다. GAG가 없는 가용성 TGF β RIII이 곤충 세포에서 생산될 수 있었으며, 이는 강력한 TGF β 중화제인 것으로 제시되었다 (Vilchis-Landeros et al., Biochem J 355:215, 2001). TGF β RIII의 2개의 별개의 결합 도메인 (엔도글린-관련 및 우로모듈린-관련)은 독립적으로 발현될 수 있었지만, 이들은 가용성 TGF β RIII의 친화도보다 20 내지 100배 더 낮은 친화도 및 훨씬 감소된 중화 활성을 갖는 것으로 제시되었다 (Mendoza et al., Biochemistry. 2009; 48:11755-65). 다른 한편으로는, TGF β RII의 세포외 도메인은 단지 136개의 아미노산 잔기 길이이며, 25-35 kD의 글리코실화 단백질로서 생산될 수 있다. 추가로, 재조합 가용성 TGF β RII는 200 pM의 K_D로 TGF β 1에 결합하는 것으로 제시되었으며, 이는 세포 상의 전장 TGF β RII에 대한 50 pM의 K_D와 폐 유사하다 (Lin et al., J Biol Chem. 1995; 270:2747-54). 가용성 TGF β RII-Fc가 항암제로서 시험되었으며, 이는 종양 모델에서 확립된 뮤린 악성 중피종 성장을 억제하는 것으로 제시되었다 (Suzuki et al., Clin. Cancer Res., 2004; 10:5907-18). TGF β RII는 TGF β 2에 결합하지 않고, TGF β RIII은 TGF β RII보다 더 낮은 친화도로 TGF β 1 및 3에 결합하기 때문에, TGF β RIII의 엔도글린 도메인과 TGF β RII의 세포외 도메인의 융합 단백질이 박테리아에서 생산되었고, 이는 TGF β RII 또는 RIII보다 더 효과적으로 세포 기반 검정에서 TGF β 1 및 2의 신호전달을 억제하는 것으로 제시되었다 (Verona et al., Protein Eng Des Sel. 2008; 21:463-73).

[0083] TGF β 리간드의 모든 3종의 이소형을 중화시키는 또 다른 접근법은 범-중화 항-TGF β 항체, 또는 수용체가 TGF β 1, 2 및 3에 결합하는 것을 차단하는 항-수용체 항체를 스크리닝하는 것이다. TGF β 의 모든 이소형에 대해 특이적인 인간 항체인, GC1008이 진행성 악성 흑색종 또는 신세포 암종 환자에 대해 I상/II상 연구 중에 있다 (Morris et al., J Clin Oncol 2008; 26:9028 (Meeting abstract)). 치료가 안전하며 내약성이 좋은 것으로 밝혀졌지만, 단지 제한된 임상 효능이 관찰되었고, 따라서 면역학적 효과의 추가의 특징화 없이는 항-TGF β 요법의 중요성을 해석하기가 어려웠다 (Flavell et al., Nat Rev Immunol. 2010; 10:554-67). 또한 임상에서 시험된 TGF β -이소형-특이적 항체가 존재하였다. TGF β 1에 대해 특이적인 항체인, 메텔리무맙이 녹내장 수술에 있어서 과도한 수술후 반흔형성을 방지하기 위한 치료법으로서 2상 임상 시험에서 시험되었고; TGF β 2에 대해 특이적인 항체인, 레르델리무맙은 안전하긴 하지만, 3상 연구에서 눈 수술 후 반흔형성을 개선시키는데 비효과적인 것으로 밝혀졌다 (Khaw et al., Ophthalmology 2007; 114:1822-1830). 또한, 수용체가 모든 3종의 TGF β 이소형에 결합하는 것을 차단하는 항-TGF β RII 항체, 예컨대 항-인간 TGF β RII 항체 TR1 및 항-마우스 TGF β RII 항체 MT1은 마우스 모델에서 원발성 종양 성장 및 전이에 대해 어느 정도의 치료 효능을 제시한 바 있다 (Zhong et al., Clin Cancer Res. 2010; 16:1191-205). 그러나, 항체 TR1 (LY3022859)의 최근 I상 연구에서, 25 mg (균일 용량) 이상으로의 용량 증량은, 예방적 치료에도 불구하고, 제어되지 않는 시토카인 방출로 인해 불안전한 것으로 간주되었다 (Tolcher et al., Cancer Chemother Pharmacol 2017; 79:673-680). 지금까지, 종종 폐 독성인 TGF β 신호전달의 소분자 억제제를 포함한, TGF β 표적화 항암 치료에 관한 연구의 대부분은 거의 전임

상 단계이고, 얻어진 항종양 효능이 제한적이었다 (Calone et al., *Exp Oncol.* 2012; 34:9-16; Connolly et al., *Int J Biol Sci.* 2012; 8:964-78).

[0084] 본 개시내용의 항체-TGF β 트랩은 TGF β 에 결합할 수 있는 인간 TGF β 수용체 II (TGF β RII)의 적어도 일부분을 함유하는 이중기능적 단백질이다. 특정 실시양태에서, TGF β 트랩 폴리펩티드는 TGF β 에 결합할 수 있는 인간 TGF β 수용체 2형 이소형 A (서열식별번호: 8)의 가용성 부분이다. 특정 실시양태에서, TGF β 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 8의 아미노산 73-184를 적어도 함유한다. 특정 실시양태에서, TGF β 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 8의 아미노산 24-184를 함유한다. 특정 실시양태에서, TGF β 트랩 폴리펩티드는 TGF β 에 결합할 수 있는 인간 TGF β 수용체 2형 이소형 B (서열식별번호: 9)의 가용성 부분이다. 특정 실시양태에서, TGF β 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 9의 아미노산 48-159를 적어도 함유한다. 특정 실시양태에서, TGF β 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 9의 아미노산 24-159를 함유한다. 특정 실시양태에서, TGF β 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 9의 아미노산 24-105를 함유한다.

[0085] 작용 메카니즘

[0086] 치료 항체로 탈-억제를 위해 T 세포 억제 체크포인트를 표적화하는 접근법은 집중적인 연구 분야이다 (검토를 위해, 문헌 [Pardoll, *Nat Rev Cancer.* 2012; 12:253-264] 참조). 하나의 접근법에서, 항체 모이어티 또는 그의 항원 결합 단편은 T 세포 상의 T 세포 억제 체크포인트 수용체 단백질, 예컨대, 예를 들어: CTLA-4, PD-1, BTLA, LAG-3, TIM-3 또는 LAIR1을 표적화한다. 또 다른 접근법에서, 항체 모이어티는 항원 제시 세포 및 종양 세포 (자가 면역 회피를 위해 이들 반대-수용체 중 일부를 동원함) 상의 반대-수용체, 예컨대 예를 들어: PD-L1 (B7-H1), B7-DC, HVEM, TIM-4, B7-H3 또는 B7-H4를 표적화한다.

[0087] 본 개시내용은 자신의 항체 모이어티 또는 그의 항원 결합 단편을 통해 탈-억제를 위해 T 세포 억제 체크포인트를 표적화하는 항체 TGF β 트랩을 고려한다. 이를 위해, 본 출원인은 TGF β 트랩을, 다양한 T 세포 억제 체크포인트 수용체 단백질을 억제하는 항체, 예컨대 항-PD-1, 항-PD-L1, 항-TIM-3 및 항-LAG3과 조합한 것의 항종양 효능을 시험하였다.

[0088] 프로그램화된 사멸 1 (PD-1)/PD-L1 축은 종양 면역 회피를 위한 중요한 메카니즘이다. 항원을 만성적으로 감지하는 이펙터 T 세포는 PD-1 발현에 의해 표시되는 소진된 표현형을 띠며, 이러한 상태 하에 종양 세포가 PD-L1을 상향조절함으로써 관여한다. 추가적으로, 종양 미세환경에서, 골수 세포, 대식세포, 실질 세포 및 T 세포는 PD-L1을 상향조절한다. 상기 축의 차단이 이들 T 세포에서의 이펙터 기능을 회복시킨다. 항-PD-L1/TGF β 트랩은, 종양 미세환경에서 아폽토시스 호중구, 골수-유래 억제 세포, T 세포 및 종양을 포함한 세포에 의해 생산된 억제성 시토카인인, TGF β (1, 2 및 3 이소형)에도 또한 결합한다. 가용성 TGF β RII에 의한 TGF β 의 억제는 CD8+ T 세포 항종양 효과의 증가와 연관된 방식으로 악성 종피종을 감소시켰다. 활성화된 CD4+ T 세포 및 Treg 세포에 의해 생산되는 TGF β 1의 부재는 종양 성장을 억제하며 마우스를 자발성 암으로부터 보호하는 것으로 제시되었다. 따라서, TGF β 는 종양 면역 회피에 있어서 중요해 보인다.

[0089] TGF β 는 정상 상피 세포 상에서 성장 억제 효과를 가져, 상피 세포 항상성의 조절인자로서 기능하며, 이는 초기 발암 동안 종양 억제인자로서 작용한다. 종양이 악성으로 진행됨에 따라, 종양 상의 TGF β 의 성장 억제 효과는 1종 이상의 TGF β 경로 신호전달 구성요소에서의 돌연변이를 통해 또는 종양원성 재프로그램화를 통해 소실된다. TGF β 억제에 대한 감수성이 소실되면, 종양은 계속해서 높은 수준의 TGF β 를 생산하며, 이는 종양 성장을 촉진하는 작용을 한다. TGF β 시토카인은 다양한 암 유형에서 과다발현되며, 이는 종양 병기와 상관관계가 있다. 종양 미세환경에서 종양 세포 자체, 미성숙 골수 세포, 조절 T 세포 및 기질 섬유모세포를 포함한 많은 유형의 세포가 TGF β 를 생산하고; 이들 세포는 집합적으로 세포외 기질에 TGF β 의 거대 저장소를 생성한다. TGF β 신호전달은 전이를 촉진하며, 혈관신생을 자극하며, 선천성 및 적응성 항종양 면역을 억제함으로써 종양 진행에 기여한다. 전반적으로 면역억제 인자로서, TGF β 는 활성화된 세포독성 T 세포 및 NK 세포의 이펙터 기능을 직접적으로 하향-조절하며, 나이브 CD4+ T 세포의 면역억제 조절 T 세포 (Treg) 표현형으로의 분화를 강력하게 유도한다. 추가로, TGF β 는 대식세포 및 호중구를, 면역억제 시토카인의 생산과 연관된 상처-치유 표현형으로 분극화시킨다. 치료 전략으로서, TGF β 활성의 중화는 효과적인 항종양 면역을 회복시키며, 전이를 차단하며, 혈관신생을 억제함으로써 종양 성장을 제어하는 잠재력을 갖는다.

[0090] 이들 경로를 조합하면, PD-1 또는 PD-L1 및 TGF β 가 항종양 접근법으로서 매력적이다. 공동으로 PD-1 및 TGF β 차단은 전염증성 시토카인을 회복시킬 수 있다. 항-PD-L1/TGF β 트랩은, 예를 들어, 완전 인간 IgG1 항-PD-L1 항체의 각각의 중쇄의 C 말단에 글리신/세린 링커를 통해 공유 연결된 인간 TGF β 수용체 TGF β RII의 세포외 도메인을 포함한다. 반응은 분명하지만, 효과 크기 증가의 여지가 있는 PD-1/PD-L1 클래스에 대해 새로 드러난

상황을 고려하면, 보완적 면역 조정 단계의 공동-표적화가 종양 반응을 개선시킬 것이라고 추정된다. 유사한 TGF-표적화제로서, TGF β 1, 2 및 3을 표적화하는 모노클로날 항체인 프레솔리무맙은 흑색종을 갖는 대상체에 대한 I상 시험에서 종양 반응의 초기 증거를 제시하였다.

- [0091] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 항-PD-L1/TGF β 트랩 (트랩 대조군 "항-PDL-1(mut)/ TGF β 트랩")의 TGF β RII 부분이 항종양 활성을 도출한다는 것을 입증하는 실험을 제공한다. 예를 들어, Detroit 562 인간 인두 암 종 모델에서의 피하 이식 이후, 항-PDL-1(mut)/ TGF β 트랩은 25 μ g, 76 μ g 또는 228 μ g이 투여되는 경우에 종양 부피의 용량-의존성 감소를 도출하였다 (도 5).
- [0092] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 PD-L1 및 TGF β 둘 다에 동시에 결합된다는 것을 입증하는 실험을 제공한다 (도 2).
- [0093] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질 (예를 들어 항-PD-L1/TGF β 트랩)이 시험관내에서 PD-L1 및 TGF β 의존성 신호전달을 억제한다는 것을 입증하는 실험을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 초항원 자극 이후 IL-2 유도 검정에 의해 측정된 바와 같이 PD-L1-매개 면역 억제의 차단을 통해 시험관내에서 T 세포 이팩터 기능을 증대시킨다는 것을 입증하는 실험을 제공한다 (도 3). 대략 100 ng/ml에서, 본 개시내용의 단백질은 시험관내에서 IL-2 수준의 현저한 증가를 유도하였다 (도 3).
- [0094] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질 (예를 들어 항-PD-L1/TGF β 트랩)이 생체내에서 혈액으로부터의 TGF β 의 고갈을 유발한다는 것을 입증하는 실험을 제공한다. JH 마우스에 동소 이식된 EMT-6 유방암 세포의 55 μ g 또는 164 μ g 또는 492 μ g의 본 개시내용의 단백질로의 치료는 TGF β 1 (도 4a), TGF β 2 (도 4b) 및 TGF β 3 (도 4c)의 효율적이며 특이적인 고갈을 초래하였다. 게다가, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 PD-L1 표적을 점유한다는 것을 입증하는 실험을 제공하며, 이는 본 개시내용의 단백질이 EMT-6 종양 시스템에서의 수용체 결합 모델에 적합하다는 개념을 지지한다 (도 4d).
- [0095] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 PD-L1 및 TGF β 에 효율적으로, 특이적으로 및 동시에 결합되고, 다양한 마우스 모델에서 강력한 항종양 활성을 보유하며, 종양 성장 및 전이를 억제하며, 뿐만 아니라 생존을 연장시키고, 장기 보호 항종양 면역을 부여한다는 것을 입증하는 실험을 제공한다.
- [0096] 최초 인간 대상 I상 용량 증량 연구에서, 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자의 약동학의 모니터링 이외에도, 특히 TGF β 시토카인에 대한 작용 메카니즘이 조사되었다.
- [0097] 환자를 2주마다 1회 약 0.3, 약 1, 약 3, 약 10 또는 약 20 mg/kg의 5가지 용량 수준에서 정맥내로 투여하는 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자로 치료하고, 최대 85일 동안 샘플로부터 PK 분석을 수행하였다. CD3+ PBMC에서의 PD-L1 표적 점유율을 투약전, 제2일 (D2), D15 및 D43에 수집한 환자 혈액으로부터 유동 세포측정법에 의해 측정하였다. 추가로, TGF β 1-3 및 전염증성 시토카인의 혈액 수준을 분석학적으로 검증된 루미넥스 비드- 및 ECLIA-기반 다중 면역검정을 사용하여 추가의 시점과 함께 이들 시점에서 측정하였다. 한 측면에서, 환자를 상기 기재된 것들을 포함하여, 2주마다 약 30 mg/kg 또는 약 40 mg/kg의 용량으로 6가지 용량 수준에서 정맥내로 투여하는 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자로 치료할 수 있다. 6가지 용량 수준으로 치료된 환자의 PK 분석을 최대 6번째 용량 이후까지의 샘플로부터 수행할 수 있다. CD3+ PBMC에서의 PD-L1 표적 점유율을 또한 투약전, 제2일 (D2), D15, D43 및 최대 D85에 수집한 환자 혈액으로부터 유동 세포측정법에 의해 측정할 수 있다. 추가로, TGF β 1-3 및 전염증성 시토카인의 혈액 수준을 분석학적으로 검증된 루미넥스 비드- 및 ECLIA-기반 다중 면역검정을 사용하여 추가의 시점, 예를 들어, D8과 함께 이들 시점에서 측정하였다.
- [0098] 결과는 1차 사이클 동안 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자 PK 노출이 처음 85일의 치료 이내에 유의한 축적 없이, 3 내지 20 mg/kg에서 거의 용량-비례 방식으로 증가하였다는 것을 나타낸다. 투약 구간에 걸쳐 유지된 3mg/kg - 20 mg/kg에서 PD-L1 표적 점유율은 약 80%였다. 추가로 0.3 - 20 mg/kg에서 IFN γ 의 적지만 (D2에 1.7배) 유의한 유도가 있었다 ($p=0.001$, $n=19$). 1-20 mg/kg의 용량 수준에 대해 모든 시점에서 혈액 내 TGF β 1, TGF β 2 및 TGF β 3의 수준은 각각 최소 99%, 92% 및 91%만큼 감소되었다. 0.3 mg/kg의 보다 낮은 용량에서, TGF β 1-3 수준은 D2 및 D8에 고갈되었지만, D15에서는 그렇지 않았다. 더욱이, 추가로 약물 PK 수준과 TGF β 트랩핑 사이에 밀접한 상관관계가 있었다. 따라서, 완전한 TGF β 1-3 트랩핑이 1 mg/kg 이상의 약물 용량 수준에서 달성되었다.
- [0099] 항-PD-L1 항체
- [0100] 본 개시내용은 관련 기술분야에 기재된, 임의의 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다. 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 29E2A3 항체 (바이오레전드(Biolegend), 카탈로그 번호 329701)는 상업적으로 입수

가능하다. 항체는 모노클로날 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체일 수 있다. 항체 단편은 Fab, F(ab')₂, scFv 및 Fv 단편을 포함하며, 이들은 하기에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0101] 예시적인 항체가 PCT 공개 WO 2013/079174에 기재되어 있다. 이들 항체는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3 서열을 포함한 중쇄 가변 영역 폴리펩티드를 포함할 수 있으며, 여기서:

[0102] (a) HVR-H1 서열은 X₁YX₂MX₃ (서열식별번호: 21)이고;

[0103] (b) HVR-H2 서열은 SIYPSGGX₄TFYADX₅VKG (서열식별번호: 22)이고;

[0104] (c) HVR-H3 서열은 IKLGTVTTVX₆Y (서열식별번호: 23)이고;

[0105] 추가로 여기서: X₁은 K, R, T, Q, G, A, W, M, I, 또는 S이고; X₂는 V, R, K, L, M, 또는 I이고; X₃은 H, T, N, Q, A, V, Y, W, F, 또는 M이고; X₄는 F 또는 I이고; X₅는 S 또는 T이고; X₆은 E 또는 D이다.

[0106] 한 실시양태에서, X₁은 M, I, 또는 S이고; X₂는 R, K, L, M 또는 I이고; X₃은 F 또는 M이고; X₄는 F 또는 I이고; X₅는 S 또는 T이고; X₆은 E 또는 D이다.

[0107] 또 다른 실시양태에서, X₁은 M, I, 또는 S이고; X₂는 L, M, 또는 I이고; X₃은 F 또는 M이고; X₄는 I이고; X₅는 S 또는 T이고; X₆은 D이다.

[0108] 또 다른 실시양태에서, X₁은 S이고; X₂는 I이고; X₃은 M이고; X₄는 I이고; X₅는 T이고; X₆은 D이다.

[0109] 또 다른 측면에서, 폴리펩티드는 하기 식에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 중쇄 프레임워크 서열을 추가로 포함한다: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4).

[0110] 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열 또는 인간 배선 프레임워크 서열로부터 유래된다.

[0111] 추가 측면에서, 프레임워크 서열 중 적어도 1개는 하기의 것이다:

[0112] HC-FR1은 EVQLLESGGGLVQPGQSLRLSCAASGFTFS (서열식별번호: 24)이고;

[0113] HC-FR2는 WVRQAPGKGLEWVS (서열식별번호: 25)이고;

[0114] HC-FR3은 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열식별번호: 26)이고;

[0115] HC-FR4는 WGQGTLTVSS (서열식별번호: 27)이다.

[0116] 추가 측면에서, 중쇄 폴리펩티드는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함한 가변 영역 경쇄와 추가로 조합되며, 여기서:

[0117] (a) HVR-L1 서열은 TGTX₇X₈DVGX₉YNYVS (서열식별번호: 28)이고;

[0118] (b) HVR-L2 서열은 X₁₀VX₁₁X₁₂RPS (서열식별번호: 29)이고;

[0119] (c) HVR-L3 서열은 SSX₁₃TX₁₄X₁₅X₁₆X₁₇RV (서열식별번호: 30)이고;

[0120] 추가로 여기서: X₇은 N 또는 S이고; X₈은 T, R, 또는 S이고; X₉는 A 또는 G이고; X₁₀은 E 또는 D이고; X₁₁은 I, N 또는 S이고; X₁₂는 D, H 또는 N이고; X₁₃은 F 또는 Y이고; X₁₄는 N 또는 S이고; X₁₅는 R, T 또는 S이고; X₁₆은 G 또는 S이고; X₁₇은 I 또는 T이다.

[0121] 또 다른 실시양태에서, X₇은 N 또는 S이고; X₈은 T, R 또는 S이고; X₉는 A 또는 G이고; X₁₀은 E 또는 D이고; X₁₁은 N 또는 S이고; X₁₂는 N이고; X₁₃은 F 또는 Y이고; X₁₄는 S이고; X₁₅는 S이고; X₁₆은 G 또는 S이고; X₁₇은 T이다.

[0122] 또 다른 실시양태에서, X₇은 S이고; X₈은 S이고; X₉는 G이고; X₁₀은 D이고; X₁₁은 S이고; X₁₂는 N이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 S이고; X₁₅는 S이고; X₁₆은 S이고; X₁₇은 T이다.

[0123] 추가 측면에서, 경쇄는 하기 식에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 경쇄 프레임워크 서열을 추가로 포함한다:

(LC-FR1MHVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4).

- [0124] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열 또는 인간 배선 프레임워크 서열로부터 유래된다.
- [0125] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 람다 경쇄 서열이다.
- [0126] 추가 측면에서, 프레임워크 서열 중 적어도 1개는 하기의 것이다:
- [0127] LC-FR1은 QSALTQPASVSGSPGQSITISC (서열식별번호: 31)이고;
- [0128] LC-FR2는 WYQQHPGKAPKLMY (서열식별번호: 32)이고;
- [0129] LC-FR3은 GVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC (서열식별번호: 33)이고;
- [0130] LC-FR4는 FGTGTVTVL (서열식별번호: 34)이다.
- [0131] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서:
- [0132] (a) 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3을 포함하며, 여기서 추가로: (i) HVR-H1 서열은 X₁YX₂MX₃ (서열식별번호: 21)이고; (ii) HVR-H2 서열은 SIYPSGGX₄TFYADX₅VKG (서열식별번호: 22)이고; (iii) HVR-H3 서열은 IKLGTVTTVX₆Y (서열식별번호: 23)이고;
- [0133] (b) 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함하며, 여기서 추가로: (iv) HVR-L1 서열은 TGTX₇X₈DVGX₉YNVVS (서열식별번호: 28)이고; (v) HVR-L2 서열은 X₁₀VX₁₁X₁₂RPS (서열식별번호: 29)이고; (vi) HVR-L3 서열은 SSX₁₃TX₁₄X₁₅X₁₆X₁₇RV (서열식별번호: 30)이고; 여기서 X₁은 K, R, T, Q, G, A, W, M, I, 또는 S이고; X₂는 V, R, K, L, M, 또는 I이고; X₃은 H, T, N, Q, A, V, Y, W, F, 또는 M이고; X₄는 F 또는 I이고; X₅는 S 또는 T이고; X₆은 E 또는 D이고; X₇은 N 또는 S이고; X₈은 T, R, 또는 S이고; X₉는 A 또는 G이고; X₁₀은 E 또는 D이고; X₁₁은 I, N 또는 S이고; X₁₂는 D, H, 또는 N이고; X₁₃은 F 또는 Y이고; X₁₄는 N 또는 S이고; X₁₅는 R, T, 또는 S이고; X₁₆은 G 또는 S이고; X₁₇은 I 또는 T이다.
- [0134] 한 실시양태에서, X₁은 M, I, 또는 S이고; X₂는 R, K, L, M, 또는 I이고; X₃은 F 또는 M이고; X₄는 F 또는 I이고; X₅는 S 또는 T이고; X₆은 E 또는 D이고; X₇은 N 또는 S이고; X₈은 T, R, 또는 S이고; X₉는 A 또는 G이고; X₁₀은 E 또는 D이고; X₁₁은 N 또는 S이고; X₁₂는 N이고; X₁₃은 F 또는 Y이고; X₁₄는 S이고; X₁₅는 S이고; X₁₆은 G 또는 S이고; X₁₇은 T이다.
- [0135] 또 다른 실시양태에서, X₁은 M, I, 또는 S이고; X₂는 L, M, 또는 I이고; X₃은 F 또는 M이고; X₄는 I이고; X₅는 S 또는 T이고; X₆은 D이고; X₇은 N 또는 S이고; X₈은 T, R 또는 S이고; X₉는 A 또는 G이고; X₁₀은 E 또는 D이고; X₁₁은 N 또는 S이고; X₁₂는 N이고; X₁₃은 F 또는 Y이고; X₁₄는 S이고; X₁₅는 S이고; X₁₆은 G 또는 S이고; X₁₇은 T이다.
- [0136] 또 다른 실시양태에서, X₁은 S이고; X₂는 I이고; X₃은 M이고; X₄는 I이고; X₅는 T이고; X₆은 D이고; X₇은 S이고; X₈은 S이고; X₉는 G이고; X₁₀은 D이고; X₁₁은 S이고; X₁₂는 N이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 S이고; X₁₅는 S이고; X₁₆은 S이고; X₁₇은 T이다.
- [0137] 추가 측면에서, 중쇄 가변 영역은 (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (LC-FR1 MHVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상의 프레임워크 서열을 포함한다.
- [0138] 추가 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열 또는 인간 배선 서열로부터 유래된다.
- [0139] 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기의 것이다:
- [0140] HC-FR1은 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (서열식별번호: 24)이고;

- [0141] HC-FR2는 WVRQAPGKGLEWVS (서열식별번호: 25)이고;
- [0142] HC-FR3은 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열식별번호: 26)이고;
- [0143] HC-FR4는 WGQQTLVTVSS (서열식별번호: 27)이다.
- [0144] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 람다 경쇄 서열이다.
- [0145] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기의 것이다:
- [0146] LC-FR1은 QSALTQPASVSGSPGQSITISC (서열식별번호: 31)이고;
- [0147] LC-FR2는 WYQQHPGKAPKLMY (서열식별번호: 32)이고;
- [0148] LC-FR3은 GVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC (서열식별번호: 33)이고;
- [0149] LC-FR4는 FGTGTKVTVL (서열식별번호: 34)이다.
- [0150] 추가 측면에서, 중쇄 가변 영역 폴리펩티드, 항체 또는 항체 단편은 적어도 C_H1 도메인을 추가로 포함한다.
- [0151] 보다 구체적인 측면에서, 중쇄 가변 영역 폴리펩티드, 항체 또는 항체 단편은 C_H1, C_H2, 및 C_H3 도메인을 추가로 포함한다.
- [0152] 추가 측면에서, 가변 영역 경쇄, 항체 또는 항체 단편은 C_L 도메인을 추가로 포함한다.
- [0153] 추가 측면에서, 항체는 C_H1, C_H2, C_H3, 및 C_L 도메인을 추가로 포함한다.
- [0154] 추가의 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 뮤린 불변 영역을 추가로 포함한다.
- [0155] 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0156] 추가의 구체적 측면에서, 인간 또는 뮤린 불변 영역은 IgG1이다.
- [0157] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 특색으로 하며, 여기서:
- [0158] (a) 중쇄는 SYIMM (서열식별번호: 35), SIYPSGGITFYADTVKG (서열식별번호: 36), 및 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3을 포함하고,
- [0159] (b) 경쇄는 TGTSSDVGGYNVVS (서열식별번호: 38), DVSNRPS (서열식별번호: 39), 및 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함한다.
- [0160] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.
- [0161] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 특색으로 하며, 여기서:
- [0162] (a) 중쇄는 MYMMM (서열식별번호: 41), SIYPSGGITFYADSVKG (서열식별번호: 42), 및 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3을 포함하고,
- [0163] (b) 경쇄는 TGTSSDVGVAYNYVS (서열식별번호: 43), DVSNRPS (서열식별번호: 39), 및 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함한다.
- [0164] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.
- [0165] 추가 측면에서, 본 개시내용에 따른 항체 또는 항체 단편에서, HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3의 서열과 비교하여, 적어도 하기와 같이 밑줄로 강조된 아미노산은 변화없이 유지되고:
- [0166] (a) HVR-H1 내 SYIMM (서열식별번호: 35),

- [0167] (b) HVR-H2 내 SIYPSGGITFYADTVKG (서열식별번호: 36),
- [0168] (c) HVR-H3 내 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37);
- [0169] 추가로 여기서, HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3의 서열과 비교하여, 적어도 하기와 같이 밀줄로 강조된 아미노산은 변화없이 유지된다:
- [0170] (a) HVR-L1 TGTSSDVGGYNVVS (서열식별번호: 38)
- [0171] (b) HVR-L2 DVSNRPS (서열식별번호: 39)
- [0172] (c) HVR-L3 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40).
- [0173] 또 다른 측면에서, 중쇄 가변 영역은 (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4)와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4)와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상이 프레임워크 서열을 포함한다.
- [0174] 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 배선 서열로부터 유래된다.
- [0175] 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기의 것이다:
- [0176] HC-FR1은 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (서열식별번호: 24)이고;
- [0177] HC-FR2는 WVRQAPGKGLEWVS (서열식별번호: 25)이고;
- [0178] HC-FR3은 RFTISRDNSKNLTYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열식별번호: 26)이고;
- [0179] HC-FR4는 WGQGTLVTVSS (서열식별번호: 27)이다.
- [0180] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 람다 경쇄 서열로부터 유래된다.
- [0181] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기의 것이다:
- [0182] LC-FR1은 QSALTQPASVSGSPGQSITISC (서열식별번호: 31)이고;
- [0183] LC-FR2는 WYQQHPGKAPKLMY (서열식별번호: 32)이고;
- [0184] LC-FR3은 GVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDDEADYYC (서열식별번호: 33)이고;
- [0185] LC-FR4는 FGTGKVTVL (서열식별번호: 34)이다.
- [0186] 추가의 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 뮤린 불변 영역을 추가로 포함한다.
- [0187] 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0188] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 특색으로 하며, 여기서:
- [0189] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 가지고:
- EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMVWRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITF
YADWKGRFTISRDNSKNLTYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLV
TVSS (SEQ ID NO: 44)
- [0190] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다:
- QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNVSWYQQHPGKAPKLMYDVSN
RPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL (SEQ
ID NO: 45)
- [0193] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.
- [0194] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 제공하며, 여기서:

- [0195] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 가지고:
- EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYMMMWVRQAPGKGLEVWSSIYPSGGI
TFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARIKLGTVTVDYWG
QGTLTVVSS (SEQ ID NO: 46)
- [0196] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다:
- QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNR
PSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDAEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL (SEQ
ID NO: 47)
- [0198] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.
- [0200] 또 다른 실시양태에서, 항체는 인간, 마우스 또는 시노몰구스 원숭이 PD-L1에 결합한다. 구체적 측면에서, 항체는 인간, 마우스 또는 시노몰구스 원숭이 PD-L1과 각각의 인간, 마우스 또는 시노몰구스 원숭이 PD-1 수용체 사이의 상호작용을 차단할 수 있다.
- [0201] 또 다른 실시양태에서, 항체는 인간 PD-L1에 5×10^{-9} M 이하의 KD로, 바람직하게는 2×10^{-9} M 이하의 KD로, 보다 더 바람직하게는 1×10^{-9} M 이하의 KD로 결합한다.
- [0202] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 인간 PD-L1의 잔기 Y56 및 D61을 포함하는 기능적 에피토프에 결합하는 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다.
- [0203] 구체적 측면에서, 기능적 에피토프는 인간 PD-L1의 E58, E60, Q66, R113, 및 M115를 추가로 포함한다.
- [0204] 보다 구체적인 측면에서, 항체는 인간 PD-L1의 잔기 54–66 및 112–122를 포함하는 입체형태적 에피토프에 결합한다.
- [0205] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 PD-L1에의 결합에 대해 본원에 기재된 바와 같은 본 개시내용에 따른 항체와 교차-경쟁하는 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다.
- [0206] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 임의의 상기 기재된 항-PD-L1 항체를, 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체와 조합하여 포함하는 단백질 및 폴리펩티드를 특색으로 한다.
- [0207] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 서열, 또는 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산을 특색으로 한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 항-PD-L1 항체의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 서열을 코딩하는 단리된 핵산을 제공하며, 여기서:
- [0208] (a) 중쇄는 SYIMM (서열식별번호: 35), SIYPSGGITFYADTVKG (서열식별번호: 36), 및 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37)에 대해 각각 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3 서열을 포함하거나, 또는
- [0209] (b) 경쇄는 TGTSSDVGGYNVVS (서열식별번호: 38), DVSNRPS (서열식별번호: 39), 및 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40)에 대해 각각 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3 서열을 포함한다.
- [0210] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%이다.

[0211]

추가 측면에서, 중쇄에 대한 핵산 서열은 하기의 것이고:

atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgctc cttaaaggccag	60
gtgcagctgc tggaaatccgg cggaggactg gtgcagccctg gcggctccct gagactgtct	120
tgcgccgcct ccggcttcac cttctccagc tacatcatga tgtgggtgct acaggccccct	180
ggcaaggggcc tggaaatgggt gtcctccatc taccctcccg gcggcatcac cttctacgccc	240
gacaccgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg	300
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgccc gatcaagctg	360
ggcaccgtga ccaccgtgga ctactgggc cagggcaccc tggtgacagt gtcctccgccc	420
tccaccaagg gcccattcggt cttcccccctg gcacccctcct ccaagagcac ctctgggggc	480
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttcccg aaccggtgac ggtgtcgtgg	540
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccg ctgtcctaca gtcctcagga	600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac	660
atctgcaacg tgaatcacaac gcccagcaac accaagggtgg acaagaaaagt tgagccaaa	720
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccc tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg	780
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgaatctcccg gacccttgag	840
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtag	900
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc	960
acgtaccgtg tggtcagcgt ctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	1020
tacaagtgcg aggtctccaa caaaggccctc ccagccccca tcgagaaaaac catctccaa	1080
gccaaagggc agcccccaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcagc ggatgagctg	1140
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc	1200
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgc tccctgtctg	1260
gactccgacg gtcctttctt cctctatacg aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	1320
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgtatg catgaggctc tgcacaaccca ctacacgcag	1380
aagagccctc ccctgtcccc gggtaaa	1407

(SEQ ID NO: 48)

[0212]

경쇄에 대한 핵산 서열은 하기의 것이다:

atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgctc cttaaaggccag	60
tccgcctga cccagccctgc ctccgtgtct ggctcccccgc gccagttcat caccatcagc	120
tgcaccggca cttccagcga cgtggccggc tacaactacg tgccttggtt tgcagcagcac	180
cccgcaagg ccccccaagct gatgatctac gacgtgtcca accggccctc cggcgtgtcc	240
aacagattct cccgctccaa gtccggcaac accgcctccc tgaccatcag cggactgcag	300
gcagaggacg agggccacta ctactgctcc tcctacacct cctccagcac cagagtgttc	360
ggcaccggca caaaagtgcg cgtgtgggc cagcccaagg ccaacccaaac cgtgacactg	420
ttccccccat cctccgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggctcg cctgtatctca	480
gatttctatc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaaggctg atggctcccc agtgaaggcc	540
ggcgtggaaa ccaccaagcc ctccaagcag tccacaaca aatacgcgc ctcctccctac	600
ctgtccctga cccccgagca gtggaaagtcc caccggctt acagctgcca ggtcacacac	660
gagggctcca ccgtggaaaa gaccgtcgcc cccaccgagt gctca	705

(SEQ ID NO: 49)

[0214]

항-PD-L1/TGF β 트랩에 사용될 수 있는 추가의 예시적인 항-PD-L1 항체는 미국 특허 출원 공개 US 2010/0203056

[0215]

에 기재되어 있다. 본 개시내용의 한 실시양태에서, 항체 모이어티는 YW243.55S70이다. 본 개시내용의 또 다른 실시양태에서, 항체 모이어티는 MPDL3289A이다.

[0216] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

(a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 가지고:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGS
TYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGF DYWGQGTL
VTVSS (SEQ ID NO: 12)

[0218] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:
13)

[0220] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

[0221] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 가지고:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGS
TYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGF DYWGQGTL
VTVSA (SEQ ID NO: 14)

[0222] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:
13)

[0223] 항-PD-L1/TGF β 트랩에 사용될 수 있는 추가의 예시적인 항-PD-L1 항체는 미국 특허 공개 US 7,943,743에 기재되어 있다.

[0224] 본 개시내용의 한 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MDX-1105이다.

[0225] 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MEDI-4736이다.

[0226] 불변 영역

[0227] 본 개시내용의 단백질 및 펩티드는 이뮤노글로불린의 불변 영역, 또는 불변 영역의 단편, 유사체, 변이체, 돌연변이체 또는 유도체를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 인간 이뮤노글로불린 중쇄, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 다른 클래스로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 CH2 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 CH2 및 CH3 도메인을 포함하거나, 또는 힌지-CH2-CH3을 포함한다. 대안적으로, 불변 영역은 힌지 영역, CH2 도메인 및/또는 CH3 도메인을 모두 또는 일부 포함할 수 있다.

[0228] 한 실시양태에서, 불변 영역은 Fc 수용체에 대한 친화도를 감소시키거나 또는 Fc 이펙터 기능을 감소시키는 돌연변이를 함유한다. 예를 들어, 불변 영역은 IgG 중쇄의 불변 영역 내의 글리코실화 부위를 제거하는 돌연변이를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1의 Leu234, Leu235, Gly236, Gly237, Asn297, 또는 Pro331 (아미노산은 EU 명명법에 따라 넘버링됨)에 상응하는 아미노산 위치에서의 돌연변이, 결실 또는 삽입을 함유한다. 특정한 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1의 Asn297에 상응하는 아미노산 위치에서의 돌연변이를 함유한다. 대안적 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1의 Leu281, Leu282, Gly283, Gly284, Asn344, 또는 Pro378에 상응하는 아미노산 위치에서의 돌연변이, 결실 또는 삽입을 함유한다.

[0229] 일부 실시양태에서, 불변 영역은 인간 IgG2 또는 IgG4 중쇄로부터 유래된 CH2 도메인을 함유한다. 바람직하게

는, CH2 도메인은 CH2 도메인 내의 글리코실화 부위를 제거하는 돌연변이를 함유한다. 한 실시양태에서, 돌연변이는 IgG2 또는 IgG4 중쇄의 CH2 도메인 내의 Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열 내 아스파라긴을 변경시킨다. 바람직하게는, 돌연변이는 아스파라긴을 글루타민으로 변화시킨다. 대안적으로, 돌연변이는 Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열 내 페닐알라닌 및 아스파라긴 둘 다를 변경시킨다. 한 실시양태에서, Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열은 Gln-Ala-Gln-Ser (서열식별번호: 16) 아미노산 서열로 대체된다. Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열 내 아스파라긴은 IgG1의 Asn297에 상응한다.

[0233] 또 다른 실시양태에서, 불변 영역은 CH2 도메인, 및 힌지 영역의 적어도 일부를 포함한다. 힌지 영역은 이뮤노글로불린 중쇄, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 다른 클래스로부터 유래될 수 있다. 바람직하게는, 힌지 영역은 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 다른 적합한 클래스로부터 유래된다. 보다 바람직하게는, 힌지 영역은 인간 IgG1 중쇄로부터 유래된다. 한 실시양태에서, IgG1 힌지 영역의 Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys (서열식별번호: 17) 아미노산 서열 내 시스테인이 변경된다. 특정 실시양태에서, Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys (서열식별번호: 17) 아미노산 서열은 Pro-Lys-Ser-Ser-Asp-Lys (서열식별번호: 18) 아미노산 서열로 대체된다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 제1 항체 이소형으로부터 유래된 CH2 도메인 및 제2 항체 이소형으로부터 유래된 힌지 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, CH2 도메인은 인간 IgG2 또는 IgG4 중쇄로부터 유래되는 한편, 힌지 영역은 변경된 인간 IgG1 중쇄로부터 유래된다.

[0234] Fc 부분과 비-Fc 부분의 접합부 근처에서의 아미노산의 변경은 Fc 융합 단백질의 혈청 반감기를 현저히 증가시킬 수 있다 (PCT 공개 WO 0158957, 그의 개시내용이 본원에 참조로 포함됨). 따라서, 본 개시내용의 단백질 또는 폴리펩티드의 접합부 영역은, 이뮤노글로불린 중쇄 및 에리트로포이에틴의 자연-발생 서열 대비, 바람직하게는 접합부 지점으로부터 약 10개 아미노산 이내에 존재하는 변경을 함유할 수 있다. 이를 아미노산 변화는 소수성의 증가를 유발할 수 있다. 한 실시양태에서, 불변 영역은 C-말단 리신 잔기가 대체된 IgG 서열로부터 유래된다. 바람직하게는, IgG 서열의 C-말단 리신은 비-리신 아미노산, 예컨대 알라닌 또는 류신으로 대체되어, 혈청 반감기를 추가로 증가시킨다. 또 다른 실시양태에서, 불변 영역은, 불변 영역의 C-말단 근처에서의 Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 아미노산 서열이 잠재적인 접합부 T-세포 에피토프를 제거하도록 변경된 IgG 서열로부터 유래된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 아미노산 서열은 Ala-Thr-Ala-Thr (서열식별번호: 20) 아미노산 서열로 대체된다. 다른 실시양태에서, Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 세그먼트 내의 아미노산은 다른 아미노산 예컨대 글리신 또는 프롤린으로 대체된다. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 다른 이뮤노글로불린 클래스 분자의 C-말단 근처에서의 Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 세그먼트의 아미노산 치환을 발생시키는 상세한 방법이 미국 특허 공개 번호 20030166877에 기재되어 있으며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0235] 본 개시내용을 위한 적합한 힌지 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 및 다른 이뮤노글로불린 클래스로부터 유래될 수 있다. IgG1 힌지 영역은 3개의 시스테인을 가지며, 이 중 2개는 이뮤노글로불린의 2개의 중쇄 사이의 디숤피드 결합에 수반된다. 이를 동일한 시스테인은 Fc 부분 사이의 효율적이며 일관적인 디숤피드 결합 형성을 가능하게 한다. 따라서, 본 개시내용의 힌지 영역은 IgG1, 예를 들어 인간 IgG1로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 인간 IgG1 힌지 영역 내의 제1 시스테인은 또 다른 아미노산, 바람직하게는 세린으로 돌연변이된다. IgG2 이소형 힌지 영역은 4개의 디숤피드 결합을 가지며, 이들은 재조합 시스템에서 분비 동안 올리고머화 및 가능하게는 부정확한 디숤피드 결합을 촉진하는 경향이 있다. 적합한 힌지 영역이 IgG2 힌지로부터 유래될 수 있고; 바람직하게는 처음 2개의 시스테인이 각각 또 다른 아미노산으로 돌연변이된다. IgG4의 힌지 영역은 쇄간 디숤피드 결합을 비효율적으로 형성하는 것으로 공지되어 있다. 그러나, 본 개시내용을 위한 적합한 힌지 영역이, 바람직하게는 중쇄-유래된 모이어티 사이의 디숤피드 결합의 정확한 형성을 증대시키는 돌연변이를 함유하는 IgG4 힌지 영역으로부터 유래될 수 있다 (Angal S, et al. (1993) Mol. Immunol., 30:105-8).

[0236] 본 개시내용에 따르면, 불변 영역은 상이한 항체 이소형으로부터 유래된 CH2 및/또는 CH3 도메인 및 힌지 영역을 함유할 수 있으며, 즉, 하이브리드 불변 영역일 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 불변 영역은 IgG2 또는 IgG4로부터 유래된 CH2 및/또는 CH3 도메인 및 IgG1로부터 유래된 돌연변이체 힌지 영역을 함유한다. 대안적으로, 또 다른 IgG 서브클래스로부터의 돌연변이체 힌지 영역이 하이브리드 불변 영역에 사용된다. 예를 들어, 2개의 중쇄 사이의 효율적인 디숤피드 결합을 가능하게 하는 IgG4 힌지의 돌연변이체 형태가 사용될 수 있다. 또한 처음 2개의 시스테인이 각각 또 다른 아미노산으로 돌연변이된, IgG2 힌지로부터 돌연변이체 힌지가 유래될 수 있다. 이러한 하이브리드 불변 영역의 어셈블리는 미국 특허 공개 번호 20030044423에 기재되어 있으며, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

- [0237] 본 개시내용에 따르면, 불변 영역은 본원에 기재된 1개 이상의 돌연변이를 함유할 수 있다. Fc 부분에서의 돌연변이의 조합은 이중기능적 분자의 연장된 혈청 반감기 및 증가된 생체내 효력에 대해 상가적 또는 상승작용적 효과를 가질 수 있다. 따라서, 하나의 예시적 실시양태에서, 불변 영역은 (i) Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 아미노산 서열이 Ala-Thr-Ala-Thr (서열식별번호: 20) 아미노산 서열로 대체된, IgG 서열로부터 유래된 영역; (ii) 리신을 대신하는 C-말단 알라닌 잔기; (iii) 상이한 항체 이소형으로부터 유래된 CH2 도메인 및 힌지 영역, 예를 들어, IgG2 CH2 도메인 및 변경된 IgG1 힌지 영역; 및 (iv) IgG2-유래된 CH2 도메인 내의 글리코실화 부위를 제거하는 돌연변이, 예를 들어, IgG2-유래된 CH2 도메인 내의 Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열을 대신하는 Gln-Ala-Gln-Ser (서열식별번호: 16) 아미노산 서열을 함유할 수 있다.
- [0238] 항체 단편
- [0239] 본 개시내용의 단백질 및 폴리펩티드는 또한 항체의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다. 예시적인 항체 단편은 scFv, Fv, Fab, F(ab')₂, 및 단일 도메인 VH 단편 예컨대 낙타류 기원의 단편을 포함한다.
- [0240] 단일-쇄 항체 (scFv)라고도 공지되어 있는, 단일-쇄 항체 단편은, 전형적으로 항원 또는 수용체에 결합하는 채조합 폴리펩티드이고; 이들 단편은 1개 이상의 상호연결하는 링커의 존재 또는 부재 하에 항체 가변 경쇄 서열 (V_L)의 적어도 1개의 단편에 테더링된 항체 가변 중쇄 아미노산 서열 (V_H)의 적어도 1개의 단편을 함유한다. 이러한 링커는, V_L 및 V_H 도메인이 연결될 때, 단일-쇄 항체 단편이 유래된 전체 항체의 표적 분자 결합-특이성을 유지하도록 하는 V_L 및 V_H 도메인의 적절한 3차원 폴딩이 발생하는 것을 보장하도록 선택된 짧은 가요성 웨პ티드일 수 있다. 일반적으로, V_L 또는 V_H 서열의 카르복실 말단이 이러한 웨პ티드 링커에 의해 상보적 V_L 또는 V_H 서열의 아미노산 말단에 공유 연결된다. 분자 클로닝, 항체 파지 디스플레이 라이브러리 또는 유사한 기술에 의해 단일-쇄 항체 단편이 생성될 수 있다. 이들 단백질은 진핵 세포 또는 박테리아를 포함한 원핵 세포에서 생산될 수 있다.
- [0241] 단일-쇄 항체 단편은 본 명세서에 기재된 전체 항체의 가변 영역 또는 CDR 중 적어도 1개를 갖는 아미노산 서열을 함유하지만, 이들 항체의 불변 도메인 중 일부 또는 모두는 결여되어 있다. 이들 불변 도메인은 항원 결합에 필요하지는 않지만, 전체 항체 구조의 주요 부분을 구성한다. 따라서, 단일-쇄 항체 단편은 불변 도메인의 일부 또는 모두를 함유하는 항체를 사용하는 것과 연관된 문제 중 일부를 극복할 수 있다. 예를 들어, 단일-쇄 항체 단편은 생물학적 분자와 중쇄 불변 영역 사이의 바람직하지 않은 상호작용, 또는 다른 원치 않는 생물학적 활성이 없는 경향이 있다. 추가적으로, 단일-쇄 항체 단편은 전체 항체보다 상당히 더 작으며, 따라서 전체 항체보다 더 큰 모세관 투과성을 가질 수 있으므로, 단일-쇄 항체 단편이 표적 항원-결합 부위에 보다 효율적으로 국재화되고 결합될 수 있다. 또한, 항체 단편은 원핵 세포에서 비교적 대규모로 생산될 수 있으며, 따라서 그의 생산을 용이하게 할 수 있다. 게다가, 단일-쇄 항체 단편의 비교적 작은 크기는 이들이 수용자에서 면역 반응을 유발할 가능성을 전체 항체보다 더 낮게 한다.
- [0242] 전체 항체의 것과 동일하거나 또는 비슷한 결합 특징을 갖는 항체 단편이 또한 존재할 수 있다. 이러한 단편은 Fab 단편 또는 F(ab')₂ 단편 중 하나 또는 둘 다를 함유할 수 있다. 항체 단편은 전체 항체의 6개의 CDR 모두를 함유할 수 있지만, 이러한 영역 모두보다 적은, 예컨대 3, 4 또는 5개의 CDR을 함유하는 단편이 또한 기능적이다.
- [0243] 제약 조성물
- [0244] 본 개시내용은 또한 치료 유효량의 본원에 기재된 단백질을 함유하는 제약 조성물을 특색으로 한다. 조성물은 다양한 약물 전달 시스템으로의 사용을 위해 제제화될 수 있다. 1종 이상의 생리학상 허용되는 부형제 또는 담체가 또한 적절한 제제화를 위해 조성물에 포함될 수 있다. 본 개시내용에서 사용하기에 적합한 제제는 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985]에서 확인된다. 약물 전달 방법의 간략한 검토를 위해서는, 예를 들어, 문헌 [Langer (Science 249:1527-1533, 1990)]을 참조한다.
- [0245] 한 측면에서, 본 개시내용은 500 mg - 2000 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하며, 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고, 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부

위를 형성하는 것인 정맥내 약물 전달 제제를 제공한다.

[0246] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 단백질 산물은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다.

[0247] 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 500 mg 내지 약 2400 mg 용량 (예를 들어, 약 500 mg 내지 약 2300 mg, 약 500 mg 내지 약 2200 mg, 약 500 mg 내지 약 2100 mg, 약 500 mg 내지 약 2000 mg, 약 500 mg 내지 약 1900 mg, 약 500 mg 내지 약 1800 mg, 약 500 mg 내지 약 1700 mg, 약 500 mg 내지 약 1600 mg, 약 500 mg 내지 약 1500 mg, 약 500 mg 내지 약 1400 mg, 약 500 mg 내지 약 1300 mg, 약 500 mg 내지 약 1200 mg, 약 500 mg 내지 약 1100 mg, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약 500 mg 내지 약 900 mg, 약 500 mg 내지 약 800 mg, 약 500 mg 내지 약 700 mg, 약 500 mg 내지 약 600 mg, 약 600 mg 내지 2400 mg, 약 700 mg 내지 2400 mg, 약 800 mg 내지 2400 mg, 약 900 mg 내지 2400 mg, 약 1000 mg 내지 2400 mg, 약 1100 mg 내지 2400 mg, 약 1200 mg 내지 2400 mg, 약 1300 mg 내지 2400 mg, 약 1400 mg 내지 2400 mg, 약 1500 mg 내지 2400 mg, 약 1600 mg 내지 2400 mg, 약 1700 mg 내지 2400 mg, 약 1800 mg 내지 2400 mg, 약 1900 mg 내지 2400 mg, 약 2000 mg 내지 2400 mg, 약 2100 mg 내지 2400 mg, 약 2200 mg 내지 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 2400 mg)의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 500 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 500 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 1200 mg 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 본 개시내용의 단백질 산물을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 본 개시내용의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 본 개시내용의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함할 수 있다.

내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물을 포함할 수 있다.

[0248] 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 525 mg, 약 550 mg, 약 575 mg, 약 600 mg, 약 625 mg, 약 650 mg, 약 675 mg, 약 700 mg, 약 725 mg, 약 750 mg, 약 775 mg, 약 800 mg, 약 825 mg, 약 850 mg, 약 875 mg, 약 900 mg, 약 925 mg, 약 950 mg, 약 975 mg, 약 1000 mg, 약 1025 mg, 약 1050 mg, 약 1075 mg, 약 1100 mg, 약 1125 mg, 약 1150 mg, 약 1175 mg, 약 1200 mg, 약 1225 mg, 약 1250 mg, 약 1275 mg, 약 1300 mg, 약 1325 mg, 약 1350 mg, 약 1375 mg, 약 1400 mg, 약 1425 mg, 약 1450 mg, 약 1475 mg, 약 1500 mg, 약 1525 mg, 약 1550 mg, 약 1575 mg, 약 1600 mg, 약 1625 mg, 약 1650 mg, 약 1675 mg, 약 1700 mg, 약 1725 mg, 약 1750 mg, 약 1775 mg, 약 1800 mg, 약 1825 mg, 약 1850 mg, 약 1875 mg, 약 1900 mg, 약 1925 mg, 약 1950 mg, 약 1975 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 또는 약 2400 mg의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함할 수 있다.

[0249] 본 개시내용의 정맥내 약물 전달 제제는 백, 펜 또는 시린지에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 백은 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 동결건조 제제 또는 액체 제제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 냉동-건조 (동결건조)될 수 있으며, 약 12-60개의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 냉동-건조될 수 있으며, 약 45 mg의 냉동-건조 제제가 1개의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 약 40 mg - 약 100 mg의 냉동-건조 제제가 1개의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 12, 27 또는 45개의 바이알로부터의 냉동 건조 제제가 조합되어 정맥내 약물 제제 중의 단백질의 치료 용량을 얻는다. 특정 실시양태에서, 제제는 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물의 액체 제제일 수 있으며, 약 250 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알 (예를 들어, 약 250 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1900 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1800 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1700 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1600 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1500 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1400 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1300 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1100 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 900 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 800 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 700 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 600 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 500 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 400 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 300 mg/바이알, 약 300 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 400 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 500 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 600 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 700 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 800 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 900 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1000 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1100 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1200 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1300 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1400 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1500 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1600 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1700 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1800 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 또는 약 1900 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알)로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있으며, 약 600 mg/바이알로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있으며, 약 1800 mg/바이알로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있으며, 약 250 mg/바이알로 저장될 수 있다.

[0250] 본 개시내용은 제제를 형성하는 완충 용액 중에 치료 유효량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함하는 액체 수성 제약 제제를 제공한다.

[0251] 이들 조성물은 통상적인 멸균 기술에 의해 멸균될 수 있거나 또는 멸균 여과될 수 있다. 생성된 수성 용액은 그대로 사용되도록 패키징될 수 있거나 또는 동결건조될 수 있으며, 동결건조 제제는 투여 전에 멸균 수성 담체와 조합된다. 제제의 pH는 전형적으로 3 내지 11, 보다 바람직하게는 5 내지 9 또는 6 내지 8, 가장 바람직하게는 7 내지 8, 예컨대 7 내지 7.5일 것이다. 생성된 고체 형태의 조성물은 다수의 단일 용량 단위로 패키징될 수 있으며, 이들 각각은 고정 양의 상기 언급된 작용제 또는 작용제들을 함유한다. 고체 형태의 조성물은 또한

가변적인 양으로 용기에 패키징될 수 있다.

[0252] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을, 만니톨, 시트르산 1수화물, 시트르산나트륨, 인산이나트륨 2수화물, 인산이수소나트륨 2수화물, 염화나트륨, 폴리소르베이트 80, 물, 및 수산화나트륨과 조합하여 포함하는, 연장된 보관 수명을 갖는 제제를 제공한다.

[0253] 특정 실시양태에서, pH-완충 용액 중에 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함하는 수성 제제가 제조된다. 본 발명의 완충제는 약 4 내지 약 8, 예를 들어, 약 4 내지 약 8, 약 4.5 내지 약 8, 약 5 내지 약 8, 약 5.5 내지 약 8, 약 6 내지 약 8, 약 6.5 내지 약 8, 약 7 내지 약 8, 약 7.5 내지 약 8, 약 4 내지 약 7.5, 약 4.5 내지 약 7.5, 약 5 내지 약 7.5, 약 5.5 내지 약 7.5, 약 6 내지 약 7.5, 약 6.5 내지 약 7.5, 약 4 내지 약 7, 약 4.5 내지 약 7, 약 5 내지 약 7, 약 5.5 내지 약 7, 약 6 내지 약 7, 약 4 내지 약 6.5, 약 4.5 내지 약 6.5, 약 5 내지 약 6.5, 약 5.5 내지 약 6.5, 약 4 내지 약 6.0, 약 4.5 내지 약 6.0, 약 5 내지 약 6, 또는 약 4.8 내지 약 5.5 범위의 pH를 가질 수 있거나, 또는 약 5.0 내지 약 5.2의 pH를 가질 수 있다. 상기 열거된 pH의 중간 범위가 또한 본 개시내용의 일부이도록 의도된다. 예를 들어, 상한치 및/또는 하한치로서 임의의 상기 열거된 값의 조합을 사용하는 값의 범위가 포함되도록 의도된다. 상기 범위 내에서 pH를 제어할 완충제의 예는 아세테이트 (예를 들어 아세트산나트륨), 숙시네이트 (예컨대 숙신산나트륨), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트 및 다른 유기 산 완충제를 포함한다.

[0254] 특정 실시양태에서, 제제는 시트레이트 및 포스페이트를 함유하는 완충제 시스템을 포함하여, pH를 약 4 내지 약 8의 범위에서 유지한다. 특정 실시양태에서, pH 범위는 약 4.5 내지 약 6.0, 또는 약 pH 4.8 내지 약 5.5일 수 있거나, 또는 약 5.0 내지 약 5.2의 pH 범위일 수 있다. 특정 실시양태에서, 완충제 시스템은 시트르산 1수화물, 시트르산나트륨, 인산이나트륨 2수화물 및/또는 인산이수소나트륨 2수화물을 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충제 시스템은 약 1.3 mg/ml의 시트르산 (예를 들어, 1.305 mg/ml), 약 0.3 mg/ml의 시트르산나트륨 (예를 들어, 0.305 mg/ml), 약 1.5 mg/ml의 인산이나트륨 2수화물 (예를 들어, 1.53 mg/ml), 약 0.9 mg/ml의 인산이수소나트륨 2수화물 (예를 들어, 0.86), 및 약 6.2 mg/ml의 염화나트륨 (예를 들어, 6.165 mg/ml)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충제 시스템은 약 1-1.5 mg/ml의 시트르산, 약 0.25 내지 약 0.5 mg/ml의 시트르산나트륨, 약 1.25 내지 약 1.75 mg/ml의 인산이나트륨 2수화물, 약 0.7 내지 약 1.1 mg/ml의 인산이수소나트륨 2수화물, 및 6.0 내지 6.4 mg/ml의 염화나트륨을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제제의 pH는 수산화나트륨으로 조정된다.

[0255] 장성개질제로서 작용하며 항체를 안정화시킬 수 있는 폴리올이 또한 제제에 포함될 수 있다. 폴리올은 제제의 목적하는 등장성과 관련하여 달라질 수 있는 양으로 제제에 첨가된다. 특정 실시양태에서, 수성 제제는 등장성일 수 있다. 첨가되는 폴리올의 양은 또한 폴리올의 분자량과 관련하여 변경될 수 있다. 예를 들어, 모노사카라이드 (예를 들어 만니톨)는 디사카라이드 (예컨대 트레할로스)에 비해 보다 적은 양으로 첨가될 수 있다. 특정 실시양태에서, 장성 작용제로서 제제에 사용될 수 있는 폴리올은 만니톨이다. 특정 실시양태에서, 만니톨 농도는 약 5 내지 약 20 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 만니톨의 농도는 약 7.5 내지 약 15 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 만니톨의 농도는 약 10 - 약 14 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 만니톨의 농도는 약 12 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 폴리올 소르비톨이 제제에 포함될 수 있다.

[0256] 세제 또는 계면활성제가 또한 제제에 첨가될 수 있다. 예시적인 세제는 비이온성 세제 예컨대 폴리소르베이트 (예를 들어 폴리소르베이트 20, 80 등) 또는 폴록사며 (예를 들어, 폴록사며 188)를 포함한다. 첨가되는 세제의 양은 제제화된 항체의 응집을 감소시키고/거나 제제 중 미립자와의 형성을 최소화하고/거나 흡착을 감소시키도록 하는 양이다. 특정 실시양태에서, 제제는 폴리소르베이트인 계면활성제를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 세제로서 폴리소르베이트 80 또는 트윈 80을 함유할 수 있다. 트윈 80은 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄모노올레이트를 기재하기 위해 사용되는 용어이다 (문헌 [Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4th edi., 1996] 참조). 특정 실시양태에서, 제제는 약 0.1 mg/mL 내지 약 10 mg/mL, 또는 약 0.5 mg/mL 내지 약 5 mg/mL의 폴리소르베이트 80을 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약 0.1% 폴리소르베이트 80이 제제에 첨가될 수 있다.

[0257] 동결건조 제제

- [0258] 본 개시내용의 동결건조 제제는 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자 및 동결건조보호제를 포함한다. 동결건조보호제는 당, 예를 들어, 디사카라이드일 수 있다. 특정 실시양태에서, 동결건조보호제는 수크로스 또는 말토스일 수 있다. 동결건조 제제는 또한 완충제, 계면활성제, 벌킹제 및/또는 보존제 중 1종 이상을 포함할 수 있다.
- [0259] 동결건조 약물 제품의 안정화에 유용한 수크로스 또는 말토스의 양은 적어도 1:2의 단백질 대 수크로스 또는 말토스의 중량비일 수 있다. 특정 실시양태에서, 단백질 대 수크로스 또는 말토스의 중량비는 1:2 내지 1:5일 수 있다.
- [0260] 특정 실시양태에서, 제제의 pH는, 동결건조 전에, 제약상 허용되는 산 및/또는 염기의 첨가에 의해 설정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용되는 산은 염산일 수 있다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용되는 염기는 수산화나트륨일 수 있다.
- [0261] 동결건조 전에, 본 개시내용의 단백질을 함유하는 용액의 pH는 약 6 내지 약 8에서 조정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 동결건조 약물 제품의 pH 범위는 약 7 내지 약 8일 수 있다.
- [0262] 특정 실시양태에서, 염 또는 완충제 구성요소는 약 10 mM - 약 200 mM의 양으로 첨가될 수 있다. 염 및/또는 완충제는 제약상 허용되는 것이며, "염기 형성" 금속 또는 아민과 함께 다양한 공지된 산 (무기 및 유기)으로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 완충제는 포스페이트 완충제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 완충제는 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제일 수 있으며, 이러한 경우에 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대이온으로서 작용할 수 있다.
- [0263] 특정 실시양태에서, "벌킹제"가 첨가될 수 있다. "벌킹제"는 동결건조된 혼합물에 질량을 더하며, 동결건조된 케이크의 물리적 구조에 기여하는 (예를 들어, 개방 세공 구조를 유지하는, 본질적으로 균일한 동결건조된 케이크의 제조를 가능하게 함) 화합물이다. 예시적인 벌킹제는 만니톨, 글리신, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비톨을 포함한다. 본 발명의 동결건조 제제는 이러한 벌킹제를 함유할 수 있다.
- [0264] 보존제는 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어, 다회-사용 (다중-용량) 제제의 제조를 용이하게 할 수 있다.
- [0265] 특정 실시양태에서, 동결건조 약물 제품은 수성 담체로 구성될 수 있다. 본원에서 관심 수성 담체는 제약상 허용되며 (예를 들어, 인간에게 투여하기에 안전하고 비-독성임), 동결건조 후, 액체 제제의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 희석제는 멸균 주사용수 (SWFI), 정박테리아 주사용수 (BWTI), pH 완충 용액 (예를 들어 포스페이트-완충 염수), 멸균 염수 용액, 링거액 또는 텍스트로스 용액을 포함한다.
- [0266] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 동결건조 약물 제품은 멸균 주사용수, USP (SWFI) 또는 0.9% 염화나트륨 주사액, USP로 재구성된다. 재구성 동안, 동결건조 분말은 용액으로 용해된다.
- [0267] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 동결건조된 단백질 산물은 약 4.5 mL 주사용수로 구성되고 0.9% 염수 용액 (염화나트륨 용액)으로 희석된다.
- [0268] 액체 제제
- [0269] 실시양태에서, 본 개시내용의 단백질 산물은 액체 제제로서 제제화된다. 액체 제제는 고무 마개로 밀폐되고 알루미늄 크림프 셀 클로저로 밀봉된 USP / Ph Eur 유형 I 50R 바이알 내에 10 mg/mL 농도로 제공될 수 있다. 마개는 USP 및 Ph Eur에 따르는 엘라스토머로 만들어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 60 mL의 추출가능한 부피를 가능하게 하기 위해 약 61.2 mL의 단백질 산물 용액이 바이알에 충전될 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 0.9% 염수 용액으로 희석될 수 있다. 특정 실시양태에서, 바이알은 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg)로 표기된다.

1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 대상체에게 전달하기 위한 60 mL의 추출가능한 부피를 가능하게 하기 위해, 약 20 mg/mL 내지 약 50 mg/mL (예를 들어, 약 20 mg/mL, 약 25 mg/mL, 약 30 mg/mL, 약 35 mg/mL, 약 40 mg/mL, 약 45 mg/mL 또는 약 50 mg/mL)의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것)) 용액 약 61.2 mL를 함유할 수 있다.

[0270]

특정 실시양태에서, 바이알은 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 단백질 산물을 대상체에게 전달하기 위한 60 mL의 추출가능한 부피를 가능하게 하기 위해, 약 20 mg/mL 내지 약 50 mg/mL (예를 들어, 약 20 mg/mL, 약 25 mg/mL, 약 30 mg/mL, 약 35 mg/mL, 약 40 mg/mL, 약 45 mg/mL 또는 약 50 mg/mL)의 단백질 산물 용액 (서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물) 약 61.2 mL를 함유할 수 있다.

[0271]

특정 실시양태에서, 본 개시내용의 액체 제제는 안정화 수준으로 당과 조합하여 10 mg/mL 농도 용액으로서 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 수성 담체 중에 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서, 안정화제는 정맥내 투여에 바람직하지 않거나 또는 적합하지 않은 점도를 초래할 수 있는 양 이하로 첨가될 수 있다. 특정 실시양태에서, 당은 디사카라이드, 예를 들어, 수크로스일 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 또한 완충제, 계면활성제, 및 보존제 중 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0272]

특정 실시양태에서, 액체 제제의 pH는 제약상 허용되는 산 및/또는 염기의 첨가에 의해 설정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용되는 산은 염산일 수 있다. 특정 실시양태에서, 염기는 수산화나트륨일 수 있다.

[0273]

옹집 이외에도, 탈아미드화는 발효, 수화/세포 정화, 정제, 약물 물질/약물 제품 저장 동안 및 샘플 분석 동안 발생할 수 있는, 웨프티드 및 단백질의 혼란 산물을 변이체이다. 탈아미드화는 가수분해를 겪을 수 있는 숙신이미드 중간체를 형성하는 단백질로부터의 NH₃의 손실이다. 숙신이미드 중간체는 모 웨프티드의 17 u 질량 감소를 초래한다. 후속 가수분해는 18 u 질량 증가를 초래한다. 숙신이미드 중간체의 단리는 수성 조건 하에서의 불안정성으로 인해 어렵다. 이에 따라, 탈아미드화는 전형적으로 1 u 질량 증가로서 검출가능하다. 아스파라긴의 탈아미드화는 아스파르트산 또는 이소아스파르트산을 초래한다. 탈아미드화의 속도에 영향을 미치는 파라미터는 pH, 온도, 용매 유전 상수, 이온 강도, 1차 서열, 국부 폴리펩티드 입체형태 및 3차 구조를 포함한다. 웨프티드 쇄 내 Asn에 인접한 아미노산 잔기는 탈아미드화 속도에 영향을 미친다. 단백질 서열 내 Asn 다음의 Gly 및 Ser은 탈아미드화에 보다 높은 감수성을 초래한다.

[0274]

특정 실시양태에서, 본 개시내용의 액체 제제는 단백질 산물의 탈아미노화를 방지하는 pH 및 습도의 조건 하에 보존될 수 있다.

[0275]

본원에서 관심 수성 담체는 제약상 허용되며 (인간에게 투여하기에 안전하고 비-독성임), 액체 제제의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 담체는 멸균 주사용수 (SWFI), 정박테리아 주사용수 (BWF), pH 완충 용액 (예를 들어 포스페이트-완충 염수), 멸균 염수 용액, 링거액 또는 텍스트로스 용액을 포함한다.

[0276]

보존제는 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들

어, 다회-사용 (다중-용량) 제제의 제조를 용이하게 할 수 있다.

[0277] 정맥내 (IV) 제제는 특정한 경우에, 예컨대 환자가 IV 경로를 통해 모든 약물을 제공받고 있는 이식 후 입원 상태일 때 바람직한 투여 경로일 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 투여 전에 0.9% 염화나트륨 용액으로 희석된다. 특정 실시양태에서, 주사를 위한 희석된 약물 제품은 등장성이며 정맥내 주입에 의한 투여에 적합하다.

[0278] 특정 실시양태에서, 염 또는 완충제 구성요소는 10 mM - 200 mM의 양으로 첨가될 수 있다. 염 및/또는 완충제는 제약상 허용되는 것이며, "염기 형성" 금속 또는 아민과 함께 다양한 공지된 산 (무기 및 유기)으로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 완충제는 포스페이트 완충제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 완충제는 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제일 수 있으며, 이러한 경우에 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대이온으로서 작용할 수 있다.

[0279] 보존제는 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어, 다회-사용 (다중-용량) 제제의 제조를 용이하게 할 수 있다.

[0280] 본원에서 관심 수성 담체는 제약상 허용되며 (인간에게 투여하기에 안전하고 비-독성임), 액체 제제의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 담체는 멸균 주사용수 (SWFI), 정박테리아 주사용수 (BWF), pH 완충 용액 (예를 들어 포스페이트-완충 염수), 멸균 염수 용액, 링거액 또는 텍스트로스 용액을 포함한다.

[0281] 보존제는 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어, 다회-사용 (다중-용량) 제제의 제조를 용이하게 할 수 있다.

암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법

[0283] 한 측면에서, 본 개시내용은 암의 치료 또는 종양 성장의 억제를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법이며, 대상체에게 적어도 500 mg의 용량의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함한다. 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고, 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성한다.

[0284] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법은 대상체에게 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 2개의 웨프티드를 포함하는 단백질을 투여하는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 단백질은 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자이다.

[0285] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법은 대상체에게 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 용량으로 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 투여하는 것을 수반한다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자가 대상체에게 2주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩 분자가 대상체에게 3주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및

서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 대상체에게 2주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 대상체에게 3주마다 1회 투여된다.

[0286] 특정 실시양태에서, 용량은 약 500 mg, 약 525 mg, 약 550 mg, 약 575 mg, 약 600 mg, 약 625 mg, 약 650 mg, 약 675 mg, 약 700 mg, 약 725 mg, 약 750 mg, 약 775 mg, 약 800 mg, 약 825 mg, 약 850 mg, 약 875 mg, 약 900 mg, 약 925 mg, 약 950 mg, 약 975 mg, 약 1000 mg, 약 1025 mg, 약 1050 mg, 약 1075 mg, 약 1100 mg, 약 1125 mg, 약 1150 mg, 약 1175 mg, 약 1200 mg, 약 1225 mg, 약 1250 mg, 약 1275 mg, 약 1300 mg, 약 1325 mg, 약 1350 mg, 약 1375 mg, 약 1400 mg, 약 1425 mg, 약 1450 mg, 약 1475 mg, 약 1500 mg, 약 1525 mg, 약 1550 mg, 약 1575 mg, 약 1600 mg, 약 1625 mg, 약 1650 mg, 약 1675 mg, 약 1700 mg, 약 1725 mg, 약 1750 mg, 약 1775 mg, 약 1800 mg, 약 1825 mg, 약 1850 mg, 약 1875 mg, 약 1900 mg, 약 1925 mg, 약 1950 mg, 약 1975 mg, 약 2000 mg, 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg 또는 약 2400 mg일 수 있다.

[0287] 특정 실시양태에서, 용량은 2주마다 1회 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 단백질은 정맥내 투여에 의해, 예를 들어, 사전충전된 백, 사전충전된 펜 또는 사전충전된 시린지로 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 단백질은 250 ml 염수 백으로부터 정맥내로 투여되고, 정맥내 주입은 약 1시간 (예를 들어, 50 내지 80분) 동안 이루어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 백은 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결된다.

[0288] 특정 실시양태에서, 방법은, 예를 들어, 하기 중의 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제한다: 비소세포폐암, 흑색종, 췌장암, 결장직장암, 난소암, 유방암, 전립선암, 교모세포종, 위암, 담도암, 식도암 (편평 세포암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 두부 또는 경부의 편평세포 암종, 전립선암, 신암, 자궁경부암, 골수종, 림프종, 백혈병, 갑상선암, 자궁내막암, 자궁암, 방광암, 신경내분비암, 간암, 비인두암, 고환암, 소세포폐암, 기저 세포 피부암, 편평 세포 피부암, 용기성 피부섬유육종, 메르켈 세포 암종, 신경교종, 육종, 중피종, 및 골수이형성 증후군. 특정 실시양태에서, 방법은 선행치료된 환자의 암, 예를 들어 선행치료된 비소세포 폐암, 선행치료된 흑색종, 선행치료된 췌장암, 선행치료된 결장직장암, 선행치료된 난소암, 선행치료된 유방암, 선행치료된 교모세포종, 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암, 선행치료된 담도암, 선행치료된 식도암 (편평 세포 암종 또는 선암종), 선행치료된 두부 또는 경부의 선종, 선행치료된 두부 또는 경부의 편평세포 암종, 선행치료된 전립선암, 선행치료된 신암, 선행치료된 자궁경부암, 선행치료된 골수종, 선행치료된 림프종, 선행치료된 백혈병, 선행치료된 갑상선암, 선행치료된 자궁내막암, 선행치료된 자궁암, 선행치료된 방광암, 선행치료된 신경내분비암, 선행치료된 간암, 선행치료된 비인두암, 선행치료된 고환암, 선행치료된 소세포 폐암, 선행치료된 기저 세포 피부암, 선행치료된 편평 세포 피부암, 선행치료된 용기성 피부섬유육종, 선행치료된 메르켈 세포 암종, 선행치료된 신경교종, 선행치료된 육종, 선행치료된 중피종 및 선행치료된 골수이형성 증후군을 치료한다.

[0289] 특정 실시양태에서, 종양은 진행된 고형 종양이다. 특정 실시양태에서, 종양은 선행 치료에 대해 불응성이다. 특정 실시양태에서, 진행된 NSCLC를 가졌고 이전에 항-PD-1 또는 항-PD-L1 작용제 ("PDx 요법")로 치료되었고 후속적으로 규정된 질환 진행을 갖는 환자가 약 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 선행 PDx 요법에 대한 환자의 최상의 전체 반응 (BOR)이 규정되었다. 특정 실시양태에서, 선행 PDx 요법 후 진행성 질환 (PD)을 가진, 이에 따라 1차 불응성 (즉, 이들 환자 중에서 PDx 요법 개시 후에 치료로부터의 어떠한 이익도 관찰되지 않으면서 질환 진행이 관찰되었음)으로서 간주된 환자는 약 1200 mg - 약 2400 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, 획득 저항성, 즉, 환자의 질환이 초기에는 선행 PDx 요법에 반응하였지만, 환자가 궁극적으로 질환 진행 병기로 복귀한 것으로서 특징화되는 환자는 약 1200 mg 내지 약 2400 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 선행 PDx 요법에 대한 이들 환자의 BOR은 안정 질환 (SD), 부분 반응 (PR), 또는 완전 반응 (CR)이었으며, 이들 환자는 이어서 후속 질환 진행을 겪었다. 이들

NSCLC PDX-실패 서브-코호트에서 항-PD-L1/TGF β 트랩을 사용하는 것에 대한 근거는 또한 선행 PDX 요법 단독에 반응하는데 실패한 환자에서 임상 반응을 자극하기 위해, 종양 면역 활성화를 억제하는 것으로 공지된 분자인 TGF- β 를 중화시키는 것이다.

[0290]

특정 실시양태에서, 단일 차수의 백금-기반 화학요법 시 또는 그 후에 불응성, 재발성 또는 진행성 질환을 갖는 진행된 NSCLC를 갖는 환자는 약 1200 mg - 약 2400 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, 단일 차수의 백금-기반 화학요법 시 또는 그 후에 불응성, 재발성 또는 진행성 질환을 갖는 진행된 NSCLC를 갖는 환자는 2주마다 1회 약 1200 mg의 용량으로 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, 단일 차수의 백금-기반 화학요법 시 또는 그 후에 불응성, 재발성 또는 진행성 질환을 갖는 진행된 NSCLC를 갖는 환자는 약 500 mg - 약 1200 mg (예를 들어, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약 500 mg 내지 약 900 mg, 약 500 mg 내지 약 800 mg, 약 500 mg 내지 약 700 mg, 약 500 mg 내지 약 600 mg)의 용량으로 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, 단일 차수의 백금-기반 화학요법 시 또는 그 후에 불응성, 재발성 또는 진행성 질환을 갖는 진행된 NSCLC를 갖는 환자는 2주마다 1회 약 500 mg의 용량으로 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0291]

특정 실시양태에서, 과도하게 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암을 갖는 환자는 약 1200 mg - 약 2400 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴 제2 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, 과도하게 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암을 갖는 환자는 2 - 30주 동안 2주마다 1회 약 1200 mg의 용량으로 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, 치료된 환자는 적어도 3회의 선행 항암 요법을 받았다. 특정 실시양태에서, 치료된 환자는 적어도 4회의 선행 항암 요법을 받았다.

[0292]

특정 실시양태에서, 선행치료된 결장직장암 (CRC)을 갖는 환자는 약 1200 mg - 약 2400 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, 선행치료된 결장직장암 (CRC)을 갖는 환자는 2 - 38주 동안 2주마다 1회 약 1200 mg 용량의 항-PD-L1/TGF β 트랩으로 치료된다. 특정 실시양태에서, 치료된 환자는 적어도 3회의 선행 항암 요법을 받았다.

[0293]

전달 장치

- [0294] 한 측면에서, 본 개시내용은 약 500 mg - 약 3000 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 제제를 포함하며, 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고, 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인 약물 전달 장치를 제공한다.
- [0295] 특정 실시양태에서, 장치는 백, 펜 또는 시린지일 수 있다. 특정 실시양태에서, 백은 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결될 수 있다.
- [0296] 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 500 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 500 mg 내지 약 3000 mg, 약 500 mg 내지 약 2900 mg, 약 500 mg 내지 약 2800 mg, 약 500 mg 내지 약 2700 mg, 약 500 mg 내지 약 2600 mg, 약 500 mg 내지 약 2500 mg, 약 500 mg 내지 약 2400 mg, 약 500 mg 내지 약 2300 mg, 약 500 mg 내지 약 2200 mg, 약 500 mg 내지 약 2100 mg, 약 500 mg 내지 약 2000 mg, 약 500 mg 내지 약 1900 mg, 약 500 mg 내지 약 1800 mg, 약 500 mg 내지 약 1700 mg, 약 500 mg 내지 약 1600 mg, 약 500 mg 내지 약 1500 mg, 약 500 mg 내지 약 1400 mg, 약 500 mg 내지 약 1300 mg, 약 500 mg 내지 약 1200 mg, 약 500 mg 내지 약 1100 mg, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약 500 mg 내지 약 900 mg, 약 500 mg 내지 약 800 mg, 약 500 mg 내지 약 700 mg, 약 500 mg 내지 약 600 mg, 약 600 mg 내지 약 3000 mg, 약 700 mg 내지 약 3000 mg, 약 800 mg 내지 약 3000 mg, 약 900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1000 mg 내지 약 3000 mg, 약 1100 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 3000 mg 내지 약 3000 mg)의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 500 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 500 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 1200 mg 또는 약 1800 mg 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물을 포함한다.
- [0297] 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함한다. 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 500 mg, 약 525 mg, 약 550 mg, 약 575 mg, 약 600 mg, 약 625 mg, 약 650 mg, 약 675 mg, 약 700 mg, 약 725 mg, 약 750 mg, 약 775 mg, 약 800 mg, 약 825 mg, 약 850 mg, 약 875 mg, 약 900 mg, 약 925 mg, 약 950 mg, 약 975 mg, 약 1000 mg, 약 1025 mg, 약 1050 mg, 약 1075 mg, 약 1100 mg, 약 1125 mg, 약 1150 mg, 약 1175 mg, 약 1200 mg, 약 1225 mg, 약 1250 mg, 약 1275 mg, 약 1300 mg, 약 1325 mg, 약 1350 mg, 약 1375 mg, 약 1400 mg, 약 1425 mg, 약 1450 mg, 약 1475 mg, 약 1500 mg, 약 1525 mg, 약 1550 mg, 약 1575 mg, 약 1600 mg, 약 1625 mg, 약 1650 mg, 약 1675 mg, 약 1700 mg, 약 1725 mg, 약 1750 mg, 약 1775 mg, 약 1800 mg, 약 1825 mg, 약 1850 mg, 약 1875 mg, 약 1900 mg, 약 1925 mg, 약 1950 mg, 약 1975 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg 또는 약 2400 mg의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 포함할 수 있다.
- [0298] 키트
- [0299] 한 측면에서, 본 개시내용은 약 500 mg 내지 약 2400 mg (예를 들어, 약 500 mg 내지 약 2400 mg, 약 500 mg 내지 약 2300 mg, 약 500 mg 내지 약 2200 mg, 약 500 mg 내지 약 2100 mg, 약 500 mg 내지 약 2000 mg, 약

500 mg 내지 약 1900 mg, 약 500 mg 내지 약 1800 mg, 약 500 mg 내지 약 1700 mg, 약 500 mg 내지 약 1600 mg, 약 500 mg 내지 약 1500 mg, 약 500 mg 내지 약 1400 mg, 약 500 mg 내지 약 1300 mg, 약 500 mg 내지 약 1200 mg, 약 500 mg 내지 약 1100 mg, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약 500 mg 내지 약 900 mg, 약 500 mg 내지 약 800 mg, 약 500 mg 내지 약 700 mg, 약 500 mg 내지 약 600 mg, 약 600 mg 내지 약 2400 mg, 약 700 mg 내지 약 2400 mg, 약 800 mg 내지 약 2400 mg, 약 900 mg 내지 약 2400 mg, 약 1000 mg 내지 약 2400 mg, 약 1100 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질의 제제를 집합적으로 포함하는 1개 이상의 용기를 포함하며, 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고, 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인 키트를 제공한다.

[0300]

본 개시내용의 특정 실시양태에서, 용기는 약 500 mg 내지 약 2400 mg (예를 들어, 약 500 mg 내지 약 2400 mg, 약 500 mg 내지 약 2300 mg, 약 500 mg 내지 약 2200 mg, 약 500 mg 내지 약 2100 mg, 약 500 mg 내지 약 2000 mg, 약 500 mg 내지 약 1900 mg, 약 500 mg 내지 약 1800 mg, 약 500 mg 내지 약 1700 mg, 약 500 mg 내지 약 1600 mg, 약 500 mg 내지 약 1500 mg, 약 500 mg 내지 약 1400 mg, 약 500 mg 내지 약 1300 mg, 약 500 mg 내지 약 1200 mg, 약 500 mg 내지 약 1100 mg, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약 500 mg 내지 약 900 mg, 약 500 mg 내지 약 800 mg, 약 500 mg 내지 약 700 mg, 약 500 mg 내지 약 600 mg, 약 600 mg 내지 약 2400 mg, 약 700 mg 내지 약 2400 mg, 약 800 mg 내지 약 2400 mg, 약 900 mg 내지 약 2400 mg, 약 1000 mg 내지 약 2400 mg, 약 1100 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 집합적으로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 용기는 500 내지 1800 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 집합적으로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 용기는 500 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 집합적으로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 용기는 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 집합적으로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 용기는 1800 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩)을 집합적으로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제로서 제조되어 패키징되며, 약 250 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알 (예를 들어, 약 250 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 900 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 800 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 700 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 600 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 500 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 400 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 300 mg/바이알, 약 300 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 400 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 500 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 600 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 700 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 800 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알 또는 약 900 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알)로 저장된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제이며, 약 600 mg/바이알로 저장되거나, 또는 약 250 mg/바이알로 저장된다.

[0301]

특정 실시양태에서, 용기는 약 1200 mg 또는 약 1800 mg의 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물을 집합적으로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제로서 제조되어 패키징되며, 약 250 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알 (예를 들어, 약 250 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1100 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 900 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 800 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 700 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 600 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 500 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 400 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 300 mg/바이알, 약 300 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 400 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 500 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 600 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 700 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 800 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알 또는 약 900 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알)로 저장된다.

알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 800 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 900 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 1000 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 또는 약 1100 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물로 저장된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제이며, 약 1200 mg/바이알로 저장되거나, 또는 약 600 mg/바이알로 저장되거나, 또는 약 250 mg/바이알로 저장된다.

[0302] 특정 실시양태에서, 용기는 약 500 mg, 약 525 mg, 약 550 mg, 약 575 mg, 약 600 mg, 약 625 mg, 약 650 mg, 약 675 mg, 약 700 mg, 약 725 mg, 약 750 mg, 약 775 mg, 약 800 mg, 약 825 mg, 약 850 mg, 약 875 mg, 약 900 mg, 약 925 mg, 약 950 mg, 약 975 mg, 약 1000 mg, 약 1025 mg, 약 1050 mg, 약 1075 mg, 약 1100 mg, 약 1125 mg, 약 1150 mg, 약 1175 mg, 약 1200 mg, 약 1225 mg, 약 1250 mg, 약 1275 mg, 약 1300 mg, 약 1325 mg, 약 1350 mg, 약 1375 mg, 약 1400 mg, 약 1425 mg, 약 1450 mg, 약 1475 mg, 약 1500 mg, 약 1525 mg, 약 1550 mg, 약 1575 mg, 약 1600 mg, 약 1625 mg, 약 1650 mg, 약 1675 mg, 약 1700 mg, 약 1725 mg, 약 1750 mg, 약 1775 mg, 약 1800 mg, 약 1825 mg, 약 1850 mg, 약 1875 mg, 약 1900 mg, 약 1925 mg, 약 1950 mg, 약 1975 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg 또는 약 2400 mg의 본 개시내용의 단백질(예를 들어, 항-PD-L1/TGF β 트랩(예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 집합적으로 포함할 수 있다.

[0303] 특정 실시양태에서, 용기 내의 제제는 동결건조 제제 또는 액체 제제일 수 있다.

[0304] 특정 실시양태에서, 제제는 적합한 개수의 바이알을 함유하는 키트에 포장될 수 있다. 투약에 관한 정보가 포함될 수 있으며, 이는 승인된 제출 문서에 따른다. 키트는 온도 제어 장치로 모니터링되는 운반 냉장 컨테이너(2°C 내지 8°C)로 운송될 수 있다.

[0305] 제제는 사용할 때까지 2°C 내지 8°C에서 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 냉동-건조 약물 제품은 4.5 mL의 주사용수로 재구성되며 약 0.9% 염수 용액(염화나트륨 주사액)으로 희석될 수 있는 한편, 액체 제제는 약 0.9% 염수 용액으로 희석될 수 있다. 제제의 바이알은 멸균성 및 비-발열성이며, 정박테리아 보존제를 함유하지 않을 수 있다.

[0306] 특정 실시양태에서, 전달 장치는 주사기 펜이다. 주사기 펜은 사용자가 사전-측정된 용량의 의약 조성물을 피하로 또는 근육내로 자가-투여하도록 설계된 장치이다. 주사기 펜은, 그의 내측에 카트리지가 있는 하우징을 가질 수 있다. 카트리지는 의약 조성물 또는 그의 구성요소를 함유하는 1개 또는 여러 개의 챔버를 가질 수 있으며, 바늘 어셈블리에 부착되도록 적합화된다. 카트리지는 사전-혼합된 액체 의약 또는 주사 전에 혼합되는 고체 의약 및 액체를 수용할 수 있다. 하우징은 저장된 에너지원, 예를 들어, 압축 스프링을 갖는 작동 어셈블리를 보유할 수 있다. 작동 어셈블리의 활성화는 일련의 이동을 유발하며, 이에 의해 바늘이 주사기 펜으로부터 사용자 내로 연장되어, 이어서 의약 화합물이 바늘을 통하여 사용자 내로 들어가게 된다. 주사 부위로의 의약의 용량의 전달 후에, 바늘은 연장된 위치에 남아있을 수 있다. 주사기 펜이 의약 조성물의 복수의 구성요소를 별개의, 썰링된 구획에 보유하도록 설계된 유형의 것이면, 작동 어셈블리가 활성화될 때 구성요소가 혼합되도록 하는 구조가 포함될 수 있다.

[0307] 단백질 생산

[0308] 항체-시토카인 트랩 단백질은 일반적으로 단백질을 발현하도록 조작된 핵산을 함유하는 포유동물 세포를 사용하여 재조합적으로 생산된다. 적합한 세포주 및 단백질 생산 방법의 한 예가 US 20150225483 A1의 실시예 1 및 2에 기재되어 있지만, 광범위한 적합한 백터, 세포주 및 단백질 생산 방법이 항체-기반 생물제약을 생산하는데 사용되어 왔으며, 이를 항체-시토카인 트랩 단백질의 합성에 사용될 수 있다.

[0309] 치료 적응증

[0310] 본 출원에 기재된 항-PD-L1/TGF β 트랩 단백질(예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것)은 환자에서 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 감소시키는데 사용될 수 있다. 예시적인 암은 비소세포 폐암, 흑색종, 췌장암, 결장직장암(예를 들어, 선행치료된 결장직장암(CRC)), 난소암, 교모세포종, 위암(예를 들어, 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암), 담도암, 식도암(편평 세포 암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 및 두부 또는 경부의 편평세포 암종을 포함한다.

[0311] 항-PD-L1/TGF β 트랩으로 치료될 암 또는 종양은 종양에서의 PD-L1 및 TGF β 의 발현 또는 상승된 발현, 이들의 발현 수준과 예후 또는 질환 진행의 상관관계, 및 PD-L1 및 TGF β 를 표적화하는 치료법에 대한 종양의 감수성에

관한 전임상 및 임상 경험에 기반하여 선택될 수 있다. 이러한 암 또는 종양은 결장직장암, 유방암, 난소암, 췌장암, 위암, 전립선암, 신암, 자궁경부암, 방광암, 두경부암, 간암, 비소세포 폐암, 진행된 비소세포 폐암, 흑색종, 메르켈 세포 암종, 및 중피종을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0312] 실시예

[0313] 지금 일반적으로 기재되어 있는 본 개시내용은 하기 실시예를 참조하여 보다 용이하게 이해될 것이며, 이들 실시예는 단지 본 개시내용의 특정 측면 및 실시양태를 예시하려는 목적으로 포함된 것으로, 어떠한 방식으로도 본 개시내용의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0314] 실시예 1: 정맥내 약물 제제의 패키징

[0315] 항-PD-L1/TGF β 트랩의 제제를 동결건조 제제 또는 액체 제제로서 제조한다. 동결건조 제제를 제조하기 위해서는, 45 mg의 냉동-건조된 항-PD-L1/TGF β 트랩을 멸균시키고, 1개의 컨테이너에 저장한다. 이어서, 여러 개의 이러한 컨테이너를 암 또는 종양으로 진단된 대상체에게 특정한 체중 비의존성 용량을 전달하기 위한 키트에 패키징한다. 용량 요건에 따라, 키트는 12-60개의 바이알을 함유한다. 대안적으로, 제제를 액체 제제로서 제조하여 패키징하며, 250 mg/바이알 내지 1000 mg/바이알로 저장한다. 예를 들어, 제제는 액체 제제이며, 600 mg/바이알로 저장하거나, 또는 250 mg/바이알로 저장한다.

[0316] 제제는 암 또는 종양, 예를 들어, 비소세포 폐암, 흑색종, 췌장암, 결장직장암 (예를 들어, 선행치료된 결장직장암 (CRC)), 난소암, 교모세포종, 위암 (예를 들어, 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암), 담도암, 식도암 (편평 세포 암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 및 두부 또는 경부의 편평세포 암종을 치료하는데 사용된다.

[0317] 이러한 암 또는 종양으로 진단된 대상체에게 500 mg 내지 2000 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩을 함유하는 제제를 정맥내로 투여한다. 예를 들어, 대상체에게 500 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩 또는 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩을 정맥내로 투여한다. 정맥내 투여는 염수 백으로부터 이루어지고, 투여는 2주에 1회 투여이다. 대상체에게 투여되는 항-PD-L1/TGF β 트랩의 양은 대상체의 체중에 비의존성이다.

[0318] 실시예 2: BW-비의존성 투약 헤지멘

[0319] 하나의 예시적 실시양태에서, 500 mg 또는 1200 mg의 BW-비의존성 용량을 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 대상체에게 2주마다 1회 투여하였다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 즉, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행하였다. 잠재적 주입-관련 반응을 완화시키기 위해, 항히스타민제 및 파라세타몰 (아세트아미노펜)로의 예비투약 (예를 들어, 25-50 mg 디펜히드라민 및 500-650 mg 파라세타몰 [아세트아미노펜] IV 또는 경구 등가물)을 처음 2회 주입에 대해 각각의 투약 전 대략 30 내지 60분에 투여하였다. 등급 \geq 2의 주입 반응이 처음 2회 주입 동안 보이면, 예비투약을 중단하지 않았다. 예비투약으로서의 스테로이드를 허용하지 않았다.

[0320] 항-PD-L1/TGF β 트랩 요법 시 PR 또는 CR을 달성하였고, 이어서 후속적으로 요법의 중단 후 질환 진행이 발생한 대상체의 경우에, 동일한 용량 및 스케줄에서의 치료의 1회 재개시 과정 및 최대 12개월의 치료 지속기간을 허용하였다. 본 실시예에서, 대상체는 \geq 18세였고, 조직학적으로 또는 세포학적으로 판명된 전이성 또는 국부 진행된 고형 종양을 가졌으며, 이에 대해서는 어떠한 효과적인 표준 요법도 존재하지 않거나 또는 표준 요법이 실패하였다. 바람직한 대상체는 백혈구 (WBC) 카운트 \geq 3 \times 10⁹/L와 함께 절대 호중구 카운트 (ANC) \geq 1.5 \times 10⁹/L, 림프구 카운트 \geq 0.5 \times 10⁹/L, 혈소판 카운트 \geq 120 \times 10⁹/L, 및 Hgb \geq 9 g/ dL (수혈의 부재 하)에 의해 정의된 적절한 혈액학적 기능; 총 빌리루빈 수준 \leq 1.5 \times ULN, AST 수준 \leq 2.5 \times ULN, 및 ALT 수준 \leq 2.5 \times ULN에 의해 정의된 적절한 간 기능; 및 콕크로프트-가울트 식에 따라 추정된 크레아티닌 클리어런스 $>$ 50 mL/min에 의해 또는 24시간 소변 검사로부터의 크레아티닌 클리어런스의 측정치에 의해 정의된 적절한 신기능을 가졌다. 그의 종양에서 간 침범이 있는 대상체의 경우에, AST \leq 5.0 \times ULN, ALT \leq 5.0 \times ULN, 및 빌리루빈 \leq 3.0이 허용가능하였다.

[0321] 다른 실시양태에서, 특정 대상체는 하기를 가졌다:

[0322] - 단일 차수의 백금-기반 화학요법 시 또는 그 후에 재발성, 불응성 또는 진행성 질환을 가지며, 조합 면역요법으로의 선행 치료를 받지 않은, 조직학적으로 또는 세포학적으로 확증된 IIIb기 또는 IV기 NSCLC.

[0323] - 단일 차수의 선행 소라페닙 요법 (적어도 14일의 적어도 400 mg/일의 소라페닙) 후에 진행된 암을 갖는, 치유적 절제로 치료가능하지 않은 절제불가능한 또는 진행된 질환이거나 또는 소라페닙 불내성인 것으로 이전에 간

주되었던, 조직학적으로 확증된 간세포성 암종.

- [0324] - 선행 전신 항암 요법을 받지 않은, 조직학적으로 확증된 IV기 또는 재발성 NSCLC.
- [0325] - 단독요법으로서의 백금-기반 화학요법을 받았으나 실패하였으며 질환 진행으로 실패한 환자에서의 조직학적으로 확증된 IV기 또는 재발성 NSCLC.
- [0326] - 단독요법으로서의 백금-기반 화학요법을 받았으나 실패하였으며 질환 진행으로 실패하였고, 단독요법으로서의 항-PD-1 또는 항-PD-L1을 제공받았으나 질환 진행으로 실패한 환자에서의 조직학적으로 확증된 IV기 또는 재발성 NSCLC.
- [0327] - 절제불가능한 III기 또는 전이성 (IV기) 흑색종.
- [0328] - 선행 방사선요법을 받지 않은, 절제불가능한, 진행된, 및/또는 전이성인, 조직학적으로 확증된 체장 선암종.
- [0329] - 플루오로피리미딘, 옥살리플라틴, 이리노테칸 및/또는 베마시주맙을 포함한 2차의 전신 치료 동안 또는 그 후에 진행된, 조직학적으로 확증된 결장 또는 직장의 선암종.
- [0330] - 1차의 화학요법 동안 또는 그 후에 진행된 삼중-음성 유방암.
- [0331] - 백금 및 탁산 작용제를 포함한 적어도 2종의 화학요법 페지멘으로 이전에 치료된 환자에서의 백금 저항성/불응성인 절제불가능한 전이성 질환을 갖는, 조직학적으로 확증된 상피 난소, 난관, 또는 복막 암.
- [0332] - 적어도 1회의 선행 백금-함유 화학요법 페지멘을 받았던 환자에서의 절제불가능한 (III기 또는 IV기) 질환을 갖는, 조직학적으로 확증된 재발성 또는 전이성 식도 선암종.
- [0333] - 방사선요법 및 테모졸로미드로 이전에 치료된, 조직학적으로 확증된 등급 IV 악성 신경교종.
- [0334] - 보조 (즉, 수술 후 방사선 수반), 1차 (즉, 방사선 수반), 재발성, 또는 전이성 환경에서 백금 요법의 최종 투약의 6개월 이내에 종양 진행 또는 재발이 있는, 조직학적으로 확증된 재발성 또는 전이성 편평 세포 암종 두 경부 (SCCHN) (구강, 인두, 후두), III기/IV기.
- [0335] - 진행된 질환에 대한 전신 요법으로의 표준 관리 치료 후 조직학적으로 확증된 재발성 또는 지속성 편평 세포 암종, 선편평상피 암종 또는 자궁경부 선암종.
- [0336] - 표준 요법이 존재하지 않거나 또는 표준 요법이 실패한, 조직학적으로 또는 세포학적으로 확증된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위 또는 위-식도 접합부 선암종.
- [0337] - 표준 요법이 존재하지 않거나 또는 표준 요법이 실패한, 조직학적으로 또는 세포학적으로 확증된 식도 편평 세포암.
- [0338] - 단일 차수의 전신 치료에 대해 실패했거나 또는 불내성인, 조직학적으로 또는 세포학적으로 확증된 담도암.
- [0339] 선택된 대상체는 면역자극제를 제공받으면 악화될 수 있는 활동성 결핵 또는 자가면역 질환을 갖지 않았다.
- [0340] 실시예 3: 효능 평가
- [0341] 종양 반응 평가는 CT 스캔 또는 MRI에 의해 수행된다. 기준선에서 수행된 스캔은 후속 방문 시 반복된다. 일 반적으로, 기준선에서 검출된 병변은 후속 종양 평가 방문 시 동일한 영상화 방법론 및 바람직하게는 동일한 영상화 장비를 사용하여 추적된다. 피부 전이는, 이들이 표적 병변에 대한 RECIST 1.1을 충족시킨다면, 캘리퍼에 의한 측정을 사용하여 RECIST 1.1에 따른 표적 병변으로서 사용될 수 있다.
- [0342] 실시예 4: 항-PD-1 또는 항-PD-L1 작용제로의 선행 치료에 대해 불응성 또는 저항성인 진행된 NSCLC 환자의 치료
- [0343] 목적: 단독요법으로서의 백금-기반 화학요법을 받았으나 실패하였으며 질환 진행으로 실패하였고, 단독요법으로서의 항-PD-1 또는 항-PD-L1을 제공받았으나 질환 진행으로 실패한 환자에서의 조직학적으로 확증된 IV기 또는 재발성 NSCLC를 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩 요법으로의 치료를 위해 선택하였다. 이들 NSCLC PDx-실패 서브-코호트에서 항-PD-L1/TGF β 트랩을 사용하는 것에 대한 근거는 종양 면역 활성화를 억제하는 것으로 공지된 분자인 TGF- β 의 동시 중화가 PDx 요법 단독에 반응하는데 실패한 환자에서 임상 반응을 자극할 수도 있다는 것이었다.
- [0344] 요약: 진행된 NSCLC를 가졌고 이전에 항-PD-1 또는 항-PD-L1 작용제 ("PDx 요법")로 치료되었고 후속적으로 규

정된 질환 진행을 갖는 환자를 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩의 정맥내 투여를 위해 선택하였다. 선행 PDx 요법에 대한 환자의 최상의 전체 반응 (BOR)을 규정하였다. 선행 PDx 요법 후 진행성 질환 (PD)을 갖는 환자의 서브-코호트는 "1차 불응성"으로서 간주되었으며, 즉, 이들 환자 중에서 PDx 요법 개시 후에 치료로부터의 어떠한 이익도 관찰되지 않으면서 질환 진행이 관찰되었다. 환자의 또 다른 서브-코호트는 "획득 저항성"으로서 특징화되었으며, 즉, 환자의 질환이 초기에는 선행 PDx 요법에 반응하였지만, 환자가 궁극적으로 질환 진행 병기로 복귀하였다. 획득 저항성 환자는 후속 질환 진행 전에, 선행 PDx 요법에 대한 안정 질환 (SD), 부분 반응 (PR) 또는 완전 반응 (CR)의 BOR로 특징화되었다.

[0345] 연구 설계 및 결과: 총 83명의 환자를 2주마다 1200mg의 용량으로 항-PD-L1/TGF β 트랩으로 치료하였다. 중앙 추적 기간은 27.3주였다. 1차 종점은 RECIST v1.1에 따른 BOR이고, 2차 종점은 안전성/내약성이다. 환자의 기준선 특징은 하기 표에 열거된다. 요약하면, 이는 환자의 74.7%가 3회 초과의 선행 치료 레지멘을 받은 과도하게 선행-치료된 환자 집단이었고, 해당 범위의 연령 및 성별을 포함하였다. 선행 PDx 요법에 대한 반응은 거의 균형적이었다 (1차 불응성, 43.4%; 획득 저항성, 53%). 추가적으로, 모든 환자는 치료 시작의 28일 이내에 생검이 이루어졌고, 대부분 (65.1%)이 다코(Dako) 73-10 PD-L1 검정에 기반하여 $\geq 1\%$ 종양 세포 PD-L1 발현을 갖는 것으로 주지되었다.

표 6: 환자 특징

특징, n (%)	N = 83
성별	
남성	56 (67.5)
여성	27 (32.5)
연령	
<65	46 (55.4)
≥ 65	36 (43.4)
ECOG 활동도	
0	27 (32.5)
1	54 (65.1)
2	1 (1.2)
≥ 3	0 (0.0)
누락	1 (1.2)
종양 PD-L1 발현	
$\geq 1\%$	54 (65.1)
< 1%	21 (25.3)
미지	8 (9.6)
선행 항암 약물 요법의 횟수	
0	0 (0.0)
1	0 (0.0)
2	21 (25.3)
3	26 (31.3)
≥ 4	36 (43.4)
선행 항-PD-1/PD-L1 요법에 대한 반응	
1차 불응성	36 (43.4)
획득 저항성	44 (53)
누락	3 (3.6)

[0347]

[0348] 분석 시 데이터 컷-오프 일자에, 총 2명의 환자 (2.4%)가 RECIST v1.1에 따른 조사자에 의해 확증된 반응을 가졌다. 질환 제어는 20명의 환자 (24.1%)에서 보고되었다. 독립적 방사선학적 검토에 의해, 3명의 환자 (3.6%)가 확증된 부분 반응을 가졌다. 더욱이, 추가적인 1건의 확증된 PR 및 1건의 미확증된 PR이 조사자에 의해 보고되었고, 따라서 미확증된 ORR은 4.8%로 증가하였으며; 6명의 환자는 계속 치료받았다. 반응은 선행 PDx 요법에 대해 1차 불응성 질환을 갖는 환자 및 획득 저항성을 갖는 환자에서 발생하였다.

[0349]

도 13에 제시된 바와 같이, 이전에 진행성 질환 (1차 불응성 및 획득 저항성 질환 둘 다)을 갖는 환자는 유의한 질환 안정화를 달성하였다. 질환 반응 및 질환 안정화를 갖는 환자는 이러한 연구를 개시하기 전에 다양한 선

행 치료를 받은 것으로 주지되었고, 심지어 시험을 시작하기 직전에 다양한 치료를 받았으며, 이는 선행 PDx 노출을 갖는 환자의 이질적 집단에서의 항-PD-L1/TGF β 트랩의 임상 활성을 시사한다. 반응 및 질환 제어는 시험 시작 시 PD-L1 스테이터스와 무관하게 PD-L1 고발현 및 저발현 환자 둘 다에서 및 또한 높은 또는 낮은 순환 TGF- β 1 혈장 수준을 갖는 환자에서 주지되었다.

[0350] NSCLC PDx-실패 환자에서, 항-PD-L1/TGF β 트랩은 다른 항-PD-1 또는 항-PD-L1 단독요법으로 보여진 것과 유사한 치료-관련 유해 사건 (TRAE) 비율로 환자에게 전체적으로 내약성이 좋았다. 대부분의 환자 (n=60, 72.3%)가 임의의 TRAE를 겪었으며, 보다 적은 비율 (n=19, 22.9%)이 등급 3 이상의 사건을 겪었다. 환자의 $\geq 5\%$ 에서의 TRAE를 나타내는 표는 하기에 보고되어 있다. 피로/무력증이 가장 흔하고 (36.1%, G3+ 6.0%), 그 다음으로 소양증 (21.7%, G3+ 2.4%) 및 감소된 식욕 (16.9%, G3+1.2%)이 나타난다. 1명의 환자가 치료-관련 AE (G2, 판상습진)로 인해 연구를 중단하였다. 1명의 환자가 조사자에 의해 치료 관련된 것으로 평가된 폐렴으로 사망하였다. 중요하게는, 각화극세포종 및 편평 세포 암종을 포함한 피부 병변이 5명의 환자 (6.0%)에서 발생하였고 (다른 TGF- β -억제제와 유사함), 외과적 절제에 의해 잘 관리되었다.

표 7: 치료-관련 유해 사건 (TRAE)

N = 85	임의의 등급	등급 ≥ 3
임의의 TRAE, n (%)	60 (72.3)	19 (22.9)
빈혈	5 (6.0)	1 (1.2)
관절통	6 (7.2)	1 (1.2)
감소된 식욕	14 (16.9)	1 (1.2)
설사	6 (7.2)	0 (0.0)
건성 피부	5 (6.0)	0 (0.0)
비출혈	8 (9.6)	0 (0.0)
피로/무력증	30 (36.1)	5 (6.0)
소양증	18 (21.7)	2 (2.4)
반점구진성 발진	6 (7.2)	1 (1.2)

[0352]

요약하면, 항-PD-L1/TGF β 트랩이 2가지의 면역 억제 경로: PD-L1 및 TGF- β 를 동시에 표적화하도록 설계된 획기적인 혁신 신약 이중기능적 융합 단백질인 것으로 밝혀졌다. 따라서, TGF- β 경로의 억제는 항-PD-1/PD-L1 작용제에 대한 치료 실패를 극복하는데 도움이 된다. 항-PD-L1/TGF β 트랩으로의 치료는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 요법으로의 선행 치료에 대해 1차 불응성 또는 획득 저항성인 질환을 갖는, 과도하게 선행-치료된 NSCLC를 갖는 환자에서 초기 임상 활성을 초래하였다.

[0354] 실시예 5: 선행치료된 재발성 또는 불응성 IV기 위암 환자의 치료

[0355] 목적: 과도하게 선행치료된 재발성 또는 불응성 절제불가능한 IV기 위암을 갖는 환자를 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩 요법으로의 치료를 위해 선택하였고, 안전성 및 효능을 평가하였다.

[0356] 연구 설계 및 결과: 진행성 질환, 허용되지 않는 독성 또는 시험 철회를 확증할 때까지 총 31명의 환자를 2주마다 1200 mg의 용량으로 항-PD-L1/TGF β 트랩으로 치료하였다. 코호트는 67.7%가 적어도 3회의 선행 항암 요법을 받았고 29.3%가 적어도 4회의 선행 항암 요법을 받은 과도하게 선행치료된 아시아인 환자 집단으로 이루어졌다.

[0357] 환자의 기준선 특징은 하기 표 8에 열거된다.

[0358]

표 8: 환자 특징

특징	N=31
성별, n (%)	
남성	26 (83.9)
여성	5 (16.1)
연령, 세	
중앙값	64
범위	45-82
선행 항암 요법의 횟수, n (%)	
1	4 (12.9)
2	6 (19.4)
3	12 (38.7)
≥4	9 (29.3)
ECOG 활동도, n (%)	
0	8 (25.8)
1	23 (74.2)

[0359]

[0360] 분석 시 데이터 컷-오프 일자에, 환자는 6.1주 (범위: 2-30주)의 중앙 지속기간 동안 항-PD-L1/TGF β 트랩을 제공받았다. 31명의 평가 가능한 환자 중에서, 조사자에 의해 평가된 RECIST v1.1에 따른 그의 BOR로서, 5명의 환자가 확증된 부분 반응을 가졌고, 5명의 환자가 안정 질환 (SD)을 가졌다. 전체 반응률 (ORR)은 16.1%였고, 질환 제어율 (DCR)은 32.3%였다.

[0361]

표 9: 환자 특징

	N=31
BOR, n (%)	
CR	0
PR	5 (16.1)
SD	5 (16.1)
PD	16 (51.6)
NE	5 (16.1)
ORR, n (%)	
반응률 (CR+PR)	5 (16.1)
95% CI	5.5-33.7
DCR, n (%)	
반응률 (CR+PR+SD)	10 (32.3)
95% CI	16.7-51.4

[0362]

[0363] 항-PD-L1/TGF β 트랩은 다른 항-PD-1/PD-L1 단독요법으로 보여진 것과 유사한 치료-관련 유해 사건 (TRAE) 비율로 환자에게 전체적으로 내약성이 좋았다. 14명의 환자 (45.2%)가 치료-관련 유해 사건을 겪었다. 4명의 환자 (12.9%)가 등급 3 TRAE를 겪었다. 치료-관련 등급 4 AE는 발생하지 않았다. 1건의 등급 5 사건 (총 5회 용량을 제공받았음)이 아마도 치료와 관련된 것으로 간주되었지만, 조사자에 의해 다른 개연성 있는 원인으로 기준 흉부 대동맥류의 파열이 의심되었다.

[0364]

표 10: 치료-관련 유해 사건 (TRAE)

N=31	임의의 등급	등급 ≥3
임의의 TRAE, n (%)	14 (45.2)	5 (16.1)
반점구진성 발진	6 (19.4)	1 (3.2)
빈혈	3 (9.7)	2 (6.5)
발진	3 (9.7)	1 (3.2)
설사	2 (6.5)	1 (3.2)
피로	2 (6.5)	0
주입-관련 반응	2 (6.5)	0
소양증	2 (6.5)	0
(돌연사)	1 (3.2)	1 (3.2)

[0365]

요약하면, 항-PD-L1/TGF β 트랩이 2가지의 면역 억제 경로: PD-L1 및 TGF- β 를 동시에 표적화하도록 설계된 획기적인 혁신 신약 이중기능적 융합 단백질인 것으로 밝혀졌다. TGF- β 경로의 억제는 항-PD-1/PD-L1 작용제에 대한 치료 실패를 극복하는데 도움이 될 수 있다. 항-PD-L1/TGF β 트랩으로의 치료는 과도하게 선행치료된 위암을 갖는 아시아인 환자에서 초기 임상 활성을 초래하였다.

[0366]

실시예 6: 과도하게 선행치료된 결장직장암 (CRC)을 갖는 환자의 치료

[0367]

배경 및 목적: CRC는 전세계 여성 및 남성에서 각각 두번째 및 세번째로 가장 흔한 암이다. 최근에, CRC의 4개의 컨센서스 분자생물학적 아형 (CMS)이 기재된 바 있다 - 혈관신생, 염증성, 및 면역억제 특질에 의해 특징화되는 불량-예후, 중간엽 CMS4 군 포함. TGF- β 가 이러한 면역-억제 표현형을 조정하는데 소정의 역할을 할 수 있어, 이들 환자에서 항-PD-L1/TGF β 트랩을 사용하는 것에 대한 근거를 제공하는 것으로 가정된다. 항-PD-L1 요법은 결합 미스매치 복구 (예를 들어 고빈도 미세부수체 불안정성 (MSI-H)) CRC를 갖는 환자에 대해 실질적인 활성을 제시하였지만, 전이성 CRC를 갖는 환자의 단지 약 4%만이 MSI-H 종양을 가지고, 이들 치료는 정상 미스매치 복구를 갖는 환자에서 최소 활성을 가졌다.

[0368]

연구 설계 및 결과: 총 32명의 환자를 2주마다 1200mg의 용량으로 항-PD-L1/TGF β 트랩으로 치료하였다. 중앙 치료 지속기간은 7.1주 (범위: 2-38주)였고, 분석 시 데이터 컷-오프 일자에, 2명의 환자가 여전히 적극 치료를 받고 있었다. 1차 종점은 RECIST v1.1에 따른 BOR이고, 2차 종점은 안전성/내약성이다. 환자의 기준선 특징은 하기 표에 열거된다. 요약하면, 이는 환자의 87.5%가 3회 초과의 선행 치료 레지멘을 받았고, 전반적으로 양호한 임상 스테이터스 (PS 0-1)에 있는 과도하게 선행-치료된 환자 집단이었고, 해당 범위의 연령 및 성별을 포함하였다. 종양의 대략 34%는 KRAS-돌연변이되었고, 환자의 대부분 (81.3%)이 다코 73-10 PD-L1 검정에 기반하여 <1% 종양 세포 상 PD-L1 발현을 가졌다. 종양-편측성을 데이터베이스에 전향적으로 수집하는 대신, 환자의 선행 암 수술 이력에 기반하여 결정하였다. 이러한 임상 평가를 사용하여, 종양의 40.6%가 좌측 편측성인 것으로 주지되었고, 28.1%는 우측 편측성이었으며, 31.3%는 이용가능한 데이터에 기반하여 결정할 수 없었다.

[0370]

표 11: 환자 특징

특징	N=32
성별, n (%)	
남성	16 (50.0)
여성	16 (50.0)
연령, 세 중앙값 범위	60 26-81
선행 항암 요법의 횟수, n (%)	
0	0
1	0
2	4 (12.5)
3	9 (28.1)
≥4	19 (59.4)
ECOG 활동도, n (%)	
0	11 (34.4)
1	21 (65.6)
KRAS 돌연변이 스테이터스, n (%)	
야생형	11 (34.4)
돌연변이형	21 (65.6)
종양 세포에서의 PD-L1 발현, n (%)	
≥1%	3 (9.4)
<1%	26 (81.3)
평가가능하지 않음	3 (9.4)
원발성 종양 유형, n (%)	
결장의 선암종	23 (71.9)
직장의 선암종	9 (28.1)
종양 편측성, n (%)	
좌측	13 (40.6)
우측	9 (28.1)
평가가능하지 않음	10 (31.3)

[0371]

[0372]

분석 시 데이터 컷-오프 일자에, 1명의 환자 (3.1%)가 확증된 부분 반응 (PR)를 가졌다. 추가적인 1명의 환자가 안정 질환을 가졌고, 27명의 환자가 최상의 전체 반응으로서 진행성 질환을 가졌다. 반응 기준은 독립 검토 위원회에 의해 판정되었으며, RECISTv1.1에 따라 정의되었다. PR을 갖는 환자는 정상 미스매치 복구 (즉, 미세 부수체 안정성), CMS4, KRAS 돌연변이형, 및 PD-L1+ (IHC에 의한 종양 세포 PD-L1 >1%)의 CRC를 가졌다. 이러한 환자는 코호트에서 가장 높은 종양 세포 PD-L1 발현 (20%)을 가졌다. 2017년 11월 1일자에, PR을 갖는 환자는 계속되는 부분 반응으로 여전히 연구 중이었다 (12.5개월). 추가의 환자는 5개월의 치료 동안 표적 병변에 대한 고식적 RT를 받은 결과 평가불가능한 질환으로 13개월째 치료 중이었다. 어떠한 새로운 병변도 상기 시간 이후로 발생하지 않았고, 비-표적 병변은 안정한 상태로 남아있었다. 이러한 환자의 CRC는 KRAS-돌연변이되었고; CMS 및 미세부수체 스테이터스는 미정이며, PD-L1 스테이터스는 미지이다.

[0373]

CRC 환자에서, 항-PD-L1/TGF β 트랩은 다른 항-PD-1/PD-L1 단독요법으로 보여진 것과 유사한 치료-관련 유해 사건 (TRAE) 비율로 환자에게 전체적으로 내약성이 좋았다. 대부분의 환자 (n=22, 68.8%)가 임의의 TRAE를 겪었으며, 보다 적은 비율 (n=4, 12.5%)이 등급 3 사건을 겪었다. 등급 4/5 TRAE는 없었다. 환자의 ≥5%에서의 TRAE를 나타내는 표는 하기에 보고되어 있다. 빈혈, 설사, 주입-관련 반응 및 오심이 가장 흔하였다 (모두 n=5, 15.6%). 단일 등급 3 관련 빈혈 사건 (3.1%)이 있었다. 단지 1건의 TRAE가 치료 중단 (등급 3 장염)으로 이어졌다. 사건은 질환 진행과 동시에 발생하였다.

[0374]

표 12: 치료-관련 유해 사건 (TRAE)

N=32	임의의 등급	등급 3
임의의 TRAE, n (%)	22 (68.8)	4 (12.5)
빈혈	5 (15.6)	1 (3.1)
설사	5 (15.6)	0
주입-관련 반응	5 (15.6)	0
오심	5 (15.6)	0
감소된 식욕	4 (12.5)	0
피로	3 (9.4)	1 (3.1)
근육통	3 (9.4)	0
발열	3 (9.4)	0
구토	3 (9.4)	0
복통	2 (6.3)	0
여드름양 피부염	2 (6.3)	0
권태	2 (6.3)	0
발진	2 (6.3)	0
반점구진성 발진	2 (6.3)	0
구내염	2 (6.3)	0
부신 기능부전	1 (3.1)	1 (3.1)
증가된 혈액 빌리루빈	1 (3.1)	1 (3.1)
장염	1 (3.1)	1 (3.1)

[0375]

요약하면, 항-PD-L1/TGF β 트랩이 2가지의 면역 억제 경로: TGF- β 및 PD-L1을 동시에 표적화하도록 설계된 획기적인 혁신 신약 이중기능적 융합 단백질인 것으로 밝혀졌다. 항-PD-L1/TGF β 트랩으로의 치료는 진행된 CRC를 갖는 과도하게 선행치료된 환자에서 초기 임상 활성을 초래하였고; BOR로서 1명의 환자는 지속적인 PR을 가졌고; 1명의 환자는 SD를 가졌고; 27명의 환자는 PD를 가졌다. 8.3개월 동안 계속되는 PR을 갖는 환자는 MSI, CMS4, KRAS-돌연변이형, 및 및 PD-L1+의 CRC를 가졌다. 두번째 환자는 초기 진행성 질환 후 13개월째 재발 없이 좋은 건강 상태를 유지한다.

[0377]

실시예 7: 인간에서의 효과적인 용량/투약 레지멘 및 노출의 확립: 항-PD-L1/TGF β 트랩의 2주마다 1회 (q2w) 투약 이후 2차 비소세포 폐암 (2L NSCLC)에서의 예비 용량-반응 및 노출-반응

[0378]

본 연구에서는, 진행된/재발성 NSCLC를 가지며, 백금 치료 후이고, PD-L1에 대해 비선택된 80명의 대상체에게 질환 진행, 허용되지 않는 독성 또는 시험 철회 때까지 500 mg 또는 1200 mg의 항-PD-L1/TGF β 트랩을 2주마다 1회 (q2w) 투여하였다 (코호트당 n=40). 대상체의 용량-반응 및 노출-반응을 평가하였다. 분석 시 데이터 컷-오프일에, 총 17명의 대상체가 여전히 치료 중이었으며, 35.2주 (범위, 1.3-47.3주)의 중앙 추적 기간을 가졌다. 조사자-평가된 미확증 전체 반응률 (ORR)은 25.0% (500 mg ORR, 22.5%; 1200 mg ORR, 27.5%)였으며, 500 mg에서 9건의 부분 반응 (PR)이 확인되었고, 1200 mg에서 1건의 완전 반응 (CR) 및 10건의 PR이 확인되었다. 임상 활성을 PD-L1 발현 수준에 따라 관찰하는데, $\geq 80\%$ PD-L1 종양 발현을 갖는 환자 (7명의 환자)에서 1200 mg에서의 71.4%의 ORR이 주지되었다. 가장 흔한 치료-관련 유해 사건 (TRAE)은 소양증 (18.8%), 반점구진성 발진 (17.5%), 감소된 식욕 (12.5%), 및 무력증 (11.3%)이었다. 등급 ≥ 3 TRAE가 20명의 환자 (25%)에서 발생하였다. 치료-관련 사망은 발생하지 않았다.

[0379]

노출-반응 평가를 위해, 집단 PK 모델을 사용하여 이들 80명 환자로부터의 투약 및 공변량 정보에 기반하여 1차 사이클 노출을 예측하였다. 구체적으로, 단일 용량 후의 AUC 및 $C_{\text{최저}}$ 를 집단 PK 파라미터의 경험적 베이즈 추정 법을 사용하여 모든 대상체에 대해 예측하였다 (표 2 및 3 참조). 500mg q2w 및 1200 mg q2w 코호트에 대해 예측된 노출 데이터를 조합하여, 하기 표 4 및 표 5에 제시된 바와 같이, 예측된 노출의 각각의 사분위수에서의 반응률을 계산하였다.

서열

SEQ ID NO: 1

분비된 항-PD-L1 람다 경쇄의 웨티드 서열

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPS
GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVLGQPKANP
TVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNK
YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO: 2

항-PDL1의 분비된 H 쇄의 웨티드 서열

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITF
YADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGK

SEQ ID NO: 3

항-PDL1/TGF β 트랩의 분비된 H 쇄의 웨티드 서열

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITF
YADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPGAGGGGGSGGGGGGGGG
GGGGSGIPPHVQKSVNNNDMIVTDNNNGAVKFQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCITS
ICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLHYDFILEDAASPKCIMKEKKPGETFF
MCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD

SEQ ID NO: 4

항-PD-L1 람다 경쇄의 번역 개시 코돈부터 번역 정지 코돈까지의 DNA 서열 (VL에
신행하는 리더 서열은 유로카나제 플라스미노겐 활성화제로부터의 신호 웨티드임)

atgaggcccctgtggctagactgtgtcgctgtcgacagcaaggcCAGTCGCCCTGACCCAG

[0380]

CCTGCCTCCGTGTCGGCTCCCCTGGCCAGTCCATCACCATCAGCTGCACCGGAC
CTCCAGCGACGTGGCGGCTACAACACTACGTGTCCTGGTATCAGCAGCACCCGGCA
AGGCCCCAAGCTGATGATCTACGACGTGTCACCGGCCCTCCGGCGTGTCAAC
AGATTCTCCGGCTCAAGTCGGCACACCGCCTCCCTGACCACATAGCGGACTGCA
GGCAGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCTCCTCACACCTCTCAGCACCAGAG
TGTTCGGCACCGGCACAAAAGTGACCGTGCTGggccagccaaaggccaaacccgtgcactgtcc
ccccatcctccgaggaactgcaggccacaaggccacccctggctgcctgtatctcagatttctatccaggcgccgtgaccgtggctgg
aaggctgtatgtcccccaggtaaggccggcggtggaaaccaccaagccctccaagcagtccaaacaaatacgccegtctcttac
tgtccctgaccccccggcaggcgttggaaaggccacccgttacagctgccaggcacacacgagggtccacccgtggaaaagaccgtcg
ccccacccggatgtctcaTGA

SEQ ID NO: 5

변역 개시 코돈부터 변역 정지 코돈까지의 DNA 서열 (mVK SP 리더: 밑줄친 소문자; VH: 대문자; K에서 A로의 돌연변이를 갖는 IgG1m3: 소문자; (G4S)x4-g (서열식별번호: 11) 링커: 볼드체 대문자; TGF β RII: 볼드체 밑줄친 소문자; 2개 정지 코돈: 볼드체 밑줄친 대문자)

SEQ ID NO: 6

돌연변이 A31G, D52E, R99Y를 갖는, 항-PD-L1(mut)/ TGF β 트랩의 분비된 람다 경쇄의

[0381]

폴리펩티드 서열

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSG
 VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDeadYYCSSLTSSSTYVFGTGTKVTVLGQPKANPT
 VTLFPPSSEELQANKATLVCNLSDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKY
 AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO: 7

항-PD-L1(mut)/ TGF β 트랩의 분비된 종 쇄의 폴리펩티드 서열

EVQLLESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSMYMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGI
 TFYADSVKGRTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARIKLGTVTVDYWGQGTL
 VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALTSGVHTFP
 AVLQSSGLYSLSSVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPETCVVVDVSHEDEPKFNWYVGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREP
 QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAGGGGSGGGGGSGGG
 GSAGGGGSGIPPHVQKVSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNC
 TSICEKPQEVCVAWRKNDENITLETVCHDPKLHYDFILEDAAASPKCIMKEKKPGET
 FFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD

SEQ ID NO: 8

인간 TGF β RII 이소형 A 전구체 폴리펩티드 (NCBI RefSeq 수탁 번호: NP_001020018)

MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHIN
 DMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCITSICEKPQEVCVAWRKN
 DENITLETVCHDPKLHYDFILEDAAASPKCIMKEKKPGETFFMCSSDECNDNIIFSE
 EYNTSNPDLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLM
 SEHCAIILEDERRSDISSTCANNINHTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFE
 TVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAERKTELGKQYWLTAFHAKG
 NLQEYLTRVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKND
 LTCCLCDFGLSLRDLPTLSVDDLANSGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDV
 YSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPFGSKVREHPCVESMKDNVLDRGRPEIPSFW
 LNHQGIQMVCTLTECWHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSL
 NTTK

SEQ ID NO: 9

인간 TGF β RII 이소형 B 전구체 폴리펩티드 (NCBI RefSeq 수탁 번호: NP_003233)

MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFVR
 STCDNQKSCMSNCITSICEKPQEVCVAWRKNDENITLETVCHDPKLHYDFILEDAA
 SPKCIMKEKKPGETFFMCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLVIFQVTGISLLPPLGV
 AISVIIIFCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMFSEHCAIILEDERRSDISSTCANNINHNT
 ELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDIN

LKHENILQFLTAERKTELGKQYWLTAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLSSLAR
 GIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGSLRLDPTLSVDDLAN
 SGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYE
 PPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMVCETLTECWHDPEARL
 TAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTK

SEQ ID NO: 10

인간 TGF β RII 이소형 B 세포와 도메인 폴리펩티드

IPPHVQKSVNNDMIVTDNNNGAVKFPQLCKFCDFRFSTCDNQKSCMSNCITSICEKPQE
 VCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKPGETFFMCSCSS
 DECNDNIIFSEYNTSNPD

SEQ ID NO: 11

(Gly₄Ser)₄Gly 링커

GGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGSG

SEQ ID NO: 12

항-PD-L1 항체 MPDL3289A의 분비된 중쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKGLEWVAWISPYGGS
 TYY
 ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVTV
 SS

SEQ ID NO: 13

항-PD-L1 항체 MPDL3289A의 분비된 경쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
 SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTVKEIKR

SEQ ID NO: 14

항-PD-L1 항체 YW243.55S70의 분비된 중쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKGLEWVAWISPYGGS
 TYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTL
 VTVSA

[0383]

참조로 포함

[0384]

본원에 언급된 각각의 특허 문헌 및 과학 논문의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참조로 포함된다.

[0385]

등가물

[0386]

본 개시내용은 그의 취지 또는 본질적인 특징으로부터 벗어나지 않으면서 다른 구체적 형태로 구현될 수 있다. 따라서 상기 실시양태는 모든 측면에서 본원에 기재된 본 개시내용을 제한하기보다는 예시하는 것으로 간주되어야 한다. 상이한 실시양태의 다양한 구조적 요소 및 다양한 개시된 방법 단계가 다양한 조합 및 순열로 활용될 수 있고, 모든 이러한 변형에는 본 개시내용의 형태로 간주되어야 한다. 따라서, 본 개시내용의 범주는 상기 상세한 설명보다는 첨부된 청구범위에 의해 나타내어지고, 청구범위의 의미 및 등가물의 범위 내에 속하는 모든 변화는 본원에 포함되는 것으로 의도된다.

[0387]

본 개시내용의 넘버링된 실시양태가 하기에 열거된다:

[0388]

1. 암의 치료 또는 종양 성장의 억제를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법이며, 대상체에게 적어도 500 mg의 용량의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 투여하는 것을 포함하며,

[0389]

여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사밀 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중

쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,

[0391] 여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고,

[0392] 여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인

[0393] 방법.

[0394] 2. 제1항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

[0395] 3. 제1항 또는 제2항에 있어서, 용량이 500 mg 내지 2400 mg인 방법.

[0396] 4. 제1항 또는 제2항에 있어서, 용량이 1200 mg 내지 1800 mg인 방법.

[0397] 5. 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1200 mg인 방법.

[0398] 6. 제1항 또는 제2항에 있어서, 용량이 1800 mg인 방법.

[0399] 7. 제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여되는 것인 방법.

[0400] 8. 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질이 정맥내 투여에 의해 투여되는 것인 방법.

[0401] 9. 제8항에 있어서, 정맥내 투여가 단백질을 포함하는 제제를 포함하는 사전충전된 백, 사전충전된 펜 또는 사전충전된 시린지로 수행되는 것인 방법.

[0402] 10. 제9항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 방법.

[0403] 11. 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 암 또는 종양이 비소세포 폐암, 흑색종, 혀암, 결장직장암, 난소암, 교모세포종, 위암, 담도암, 식도암 (편평 세포 암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 및 두부 또는 경부의 편평세포 암종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

[0404] 12. 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 암 또는 종양이 결장직장암, 유방암, 난소암, 혀암, 위암, 전립선암, 신암, 자궁경부암, 골수종, 립프종, 백혈병, 갑상선암, 자궁내막암, 자궁암, 방광암, 신경내분비암, 두경부암, 간암, 비인두암, 고환암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 흑색종, 기저 세포 피부암, 편평 세포 피부암, 융기성 피부섬유육종, 메르켈 세포 암종, 교모세포종, 신경교종, 육종, 중피종, 및 골수이형성 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

[0405] 13. 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 종양이 진행된 고형 종양인 방법.

[0406] 14. 제13항에 있어서, 종양이 선행 치료에 대해 불응성 및/또는 저항성인 방법.

[0407] 15. 500 mg - 2400 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제이며,

[0408] 여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,

[0409] 여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고,

[0410] 여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인

[0411] 정맥내 약물 전달 제제.

[0412] 16. 제15항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 정맥내 약물 전달 제제.

[0413] 17. 제15항 또는 제16항에 있어서, 1200 mg의 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제.

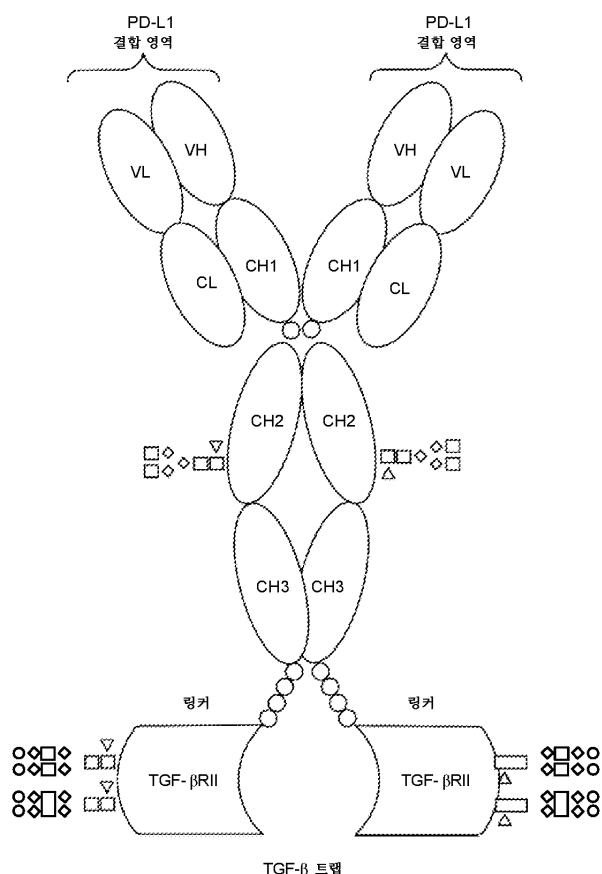
[0414] 18. 제15항 또는 제16항에 있어서, 1200 mg 내지 2400 mg의 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제.

- [0415] 19. 제15항 또는 제16항에 있어서, 1800 mg의 단백질을 포함하는 정맥내 약물 전달 제제.
- [0416] 20. 제15항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 백, 펜 또는 시린지에 함유되는 것인 정맥내 약물 전달 제제.
- [0417] 21. 제20항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 정맥내 약물 전달 제제.
- [0418] 22. 제15항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 동결건조 제제 또는 액체 제제인 정맥내 약물 전달 제제.
- [0419] 23. 500 mg - 2400 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 제제를 포함하는 약물 전달 장치이며,
- [0420] 여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,
- [0421] 여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고,
- [0422] 여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인
- [0423] 약물 전달 장치.
- [0424] 24. 제23항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 약물 전달 장치.
- [0425] 25. 제23항 또는 제24항에 있어서, 1200 mg의 단백질을 포함하는 약물 전달 장치.
- [0426] 26. 제23항 또는 제24항에 있어서, 1200 mg 내지 2400 mg의 단백질을 포함하는 약물 전달 장치.
- [0427] 27. 제23항 또는 제24항에 있어서, 1800 mg의 단백질을 포함하는 약물 전달 장치.
- [0428] 28. 제23항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 장치가 백, 펜 또는 시린지인 약물 전달 장치.
- [0429] 29. 제28항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 약물 전달 장치.
- [0430] 30. 500 mg - 2400 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 제제를 집합적으로 포함하는 1개 이상의 용기를 포함하는 키트이며,
- [0431] 여기서 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGF β)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGF β RII) 또는 그의 단편을 포함하고,
- [0432] 여기서 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고,
- [0433] 여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성하는 것인
- [0434] 키트.
- [0435] 31. 제30항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 키트.
- [0436] 32. 제30항 또는 제31항에 있어서, 용기가 1200 mg의 단백질을 집합적으로 포함하는 것인 키트.
- [0437] 33. 제30항 또는 제31항에 있어서, 용기가 1200 내지 2400 mg의 단백질을 집합적으로 포함하는 것인 키트.
- [0438] 34. 제30항 또는 제31항에 있어서, 용기가 1800 mg의 단백질을 집합적으로 포함하는 것인 키트.
- [0439] 35. 제30항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 동결건조 제제 또는 액체 제제인 키트.
- [0440] 36. 제15항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 암의 치료 또는 종양 성장의 억제를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는데 사용하기 위한, 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

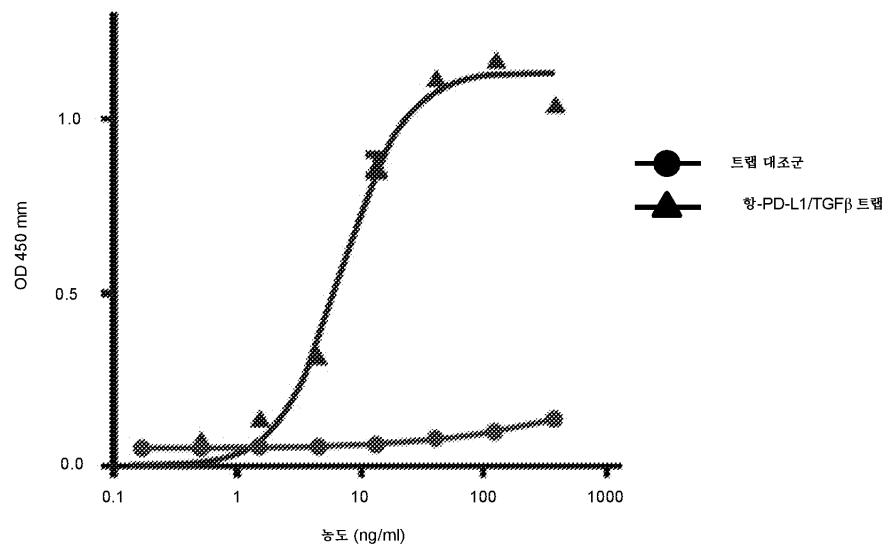
- [0441] 37. 제36항에 있어서, 암 또는 종양이 비소세포 폐암, 흑색종, 췌장암, 결장직장암, 난소암, 교모세포종, 위암, 담도암, 식도암 (편평 세포 암종 또는 선암종), 두부 또는 경부의 선종, 및 두부 또는 경부의 편평세포 암종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.
- [0442] 38. 제36항에 있어서, 암 또는 종양이 결장직장암, 유방암, 난소암, 췌장암, 위암, 전립선암, 신암, 자궁경부암, 골수종, 림프종, 백혈병, 갑상선암, 자궁내막암, 자궁암, 방광암, 신경내분비암, 두경부암, 간암, 비인두암, 고환암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 흑색종, 기저 세포 피부암, 편평 세포 피부암, 융기성 피부섬유육종, 메르켈 세포 암종, 교모세포종, 신경교종, 육종, 중피종, 및 골수이형성 증후군으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.
- [0443] 39. 제36항에 있어서, 종양이 진행된 고형 종양인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.
- [0444] 40. 제36항에 있어서, 종양이 선행 치료에 대해 불응성인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.
- [0445] 41. 제36항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 제제가 대상체에게 2주마다 1회 투여되는 것인 정맥내 약물 전달 제제, 약물 전달 장치 또는 키트.

도면

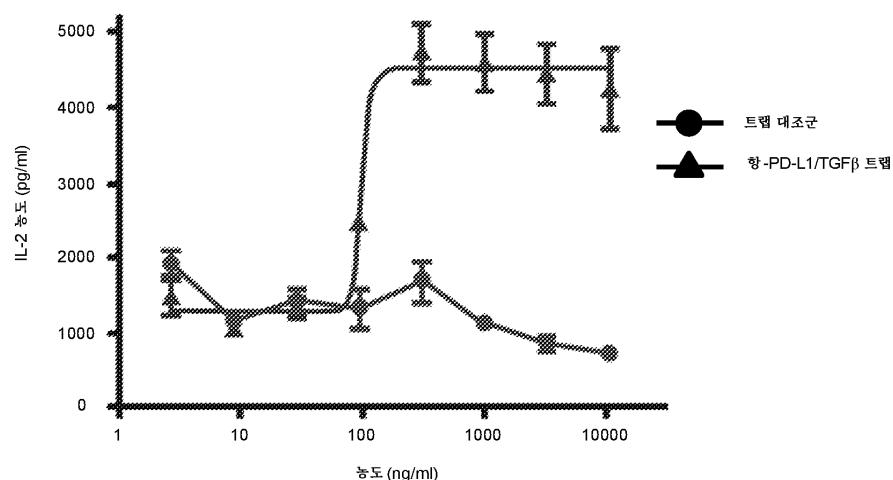
도면1



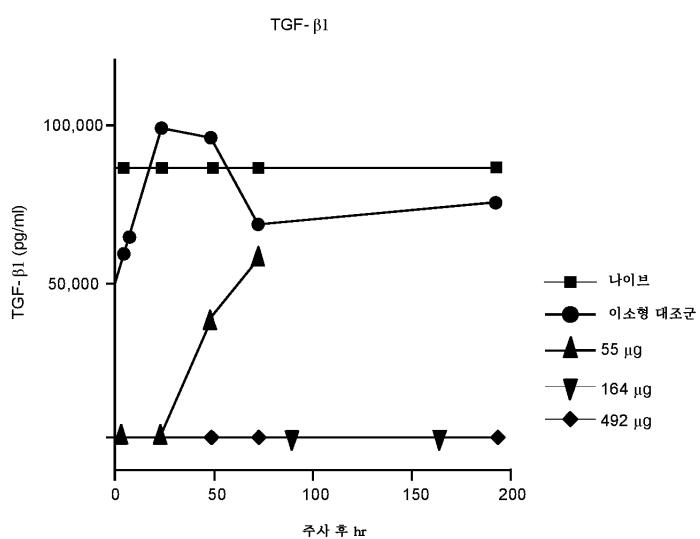
도면2



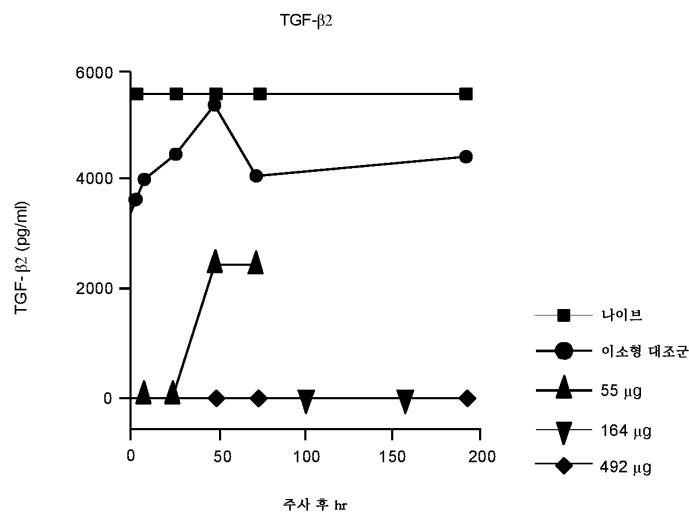
도면3



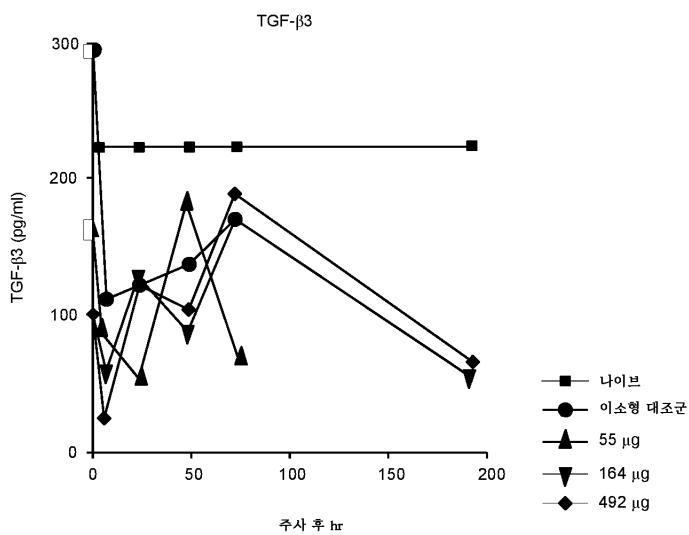
도면4a



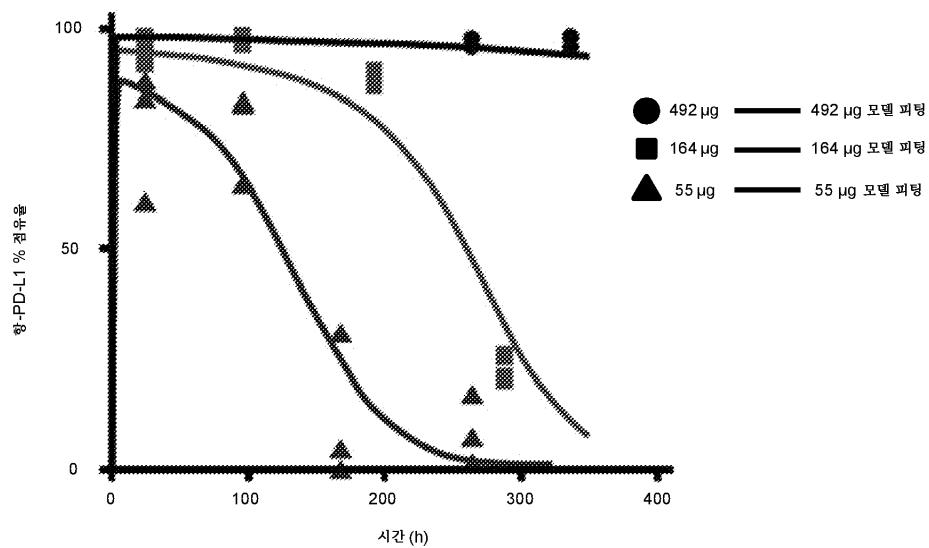
도면4b



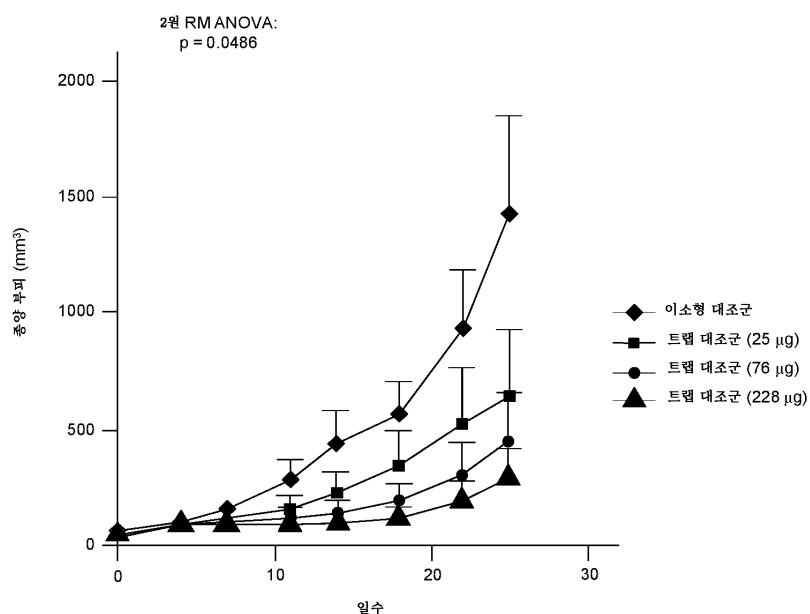
도면4c



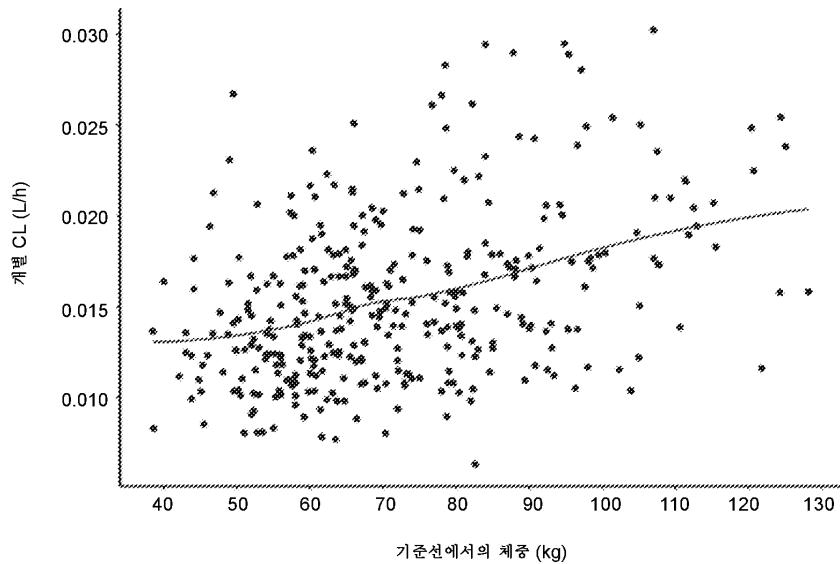
도면4d



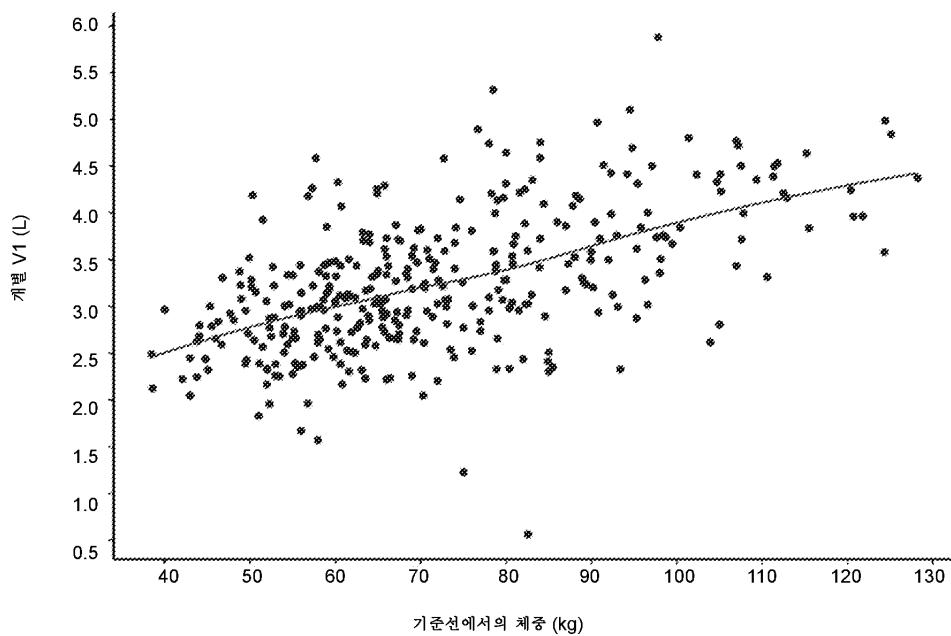
도면5



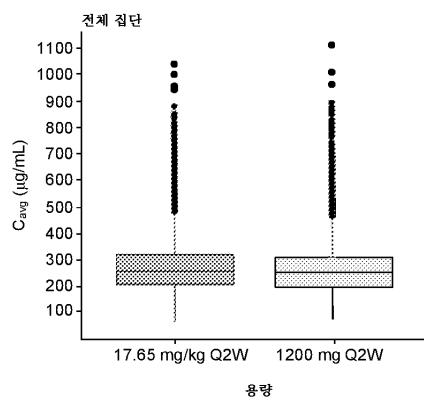
도면6a



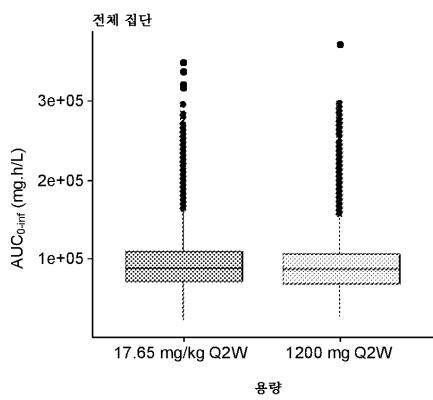
도면6b



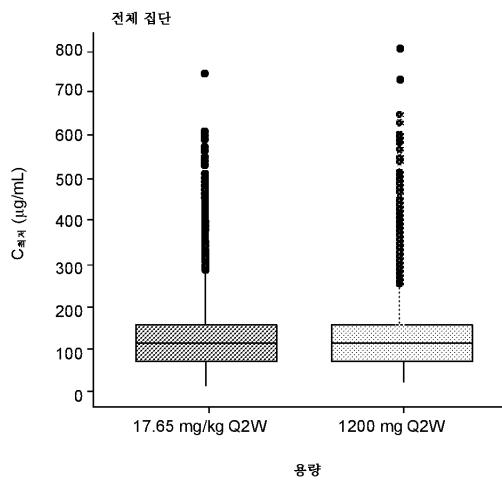
도면7a



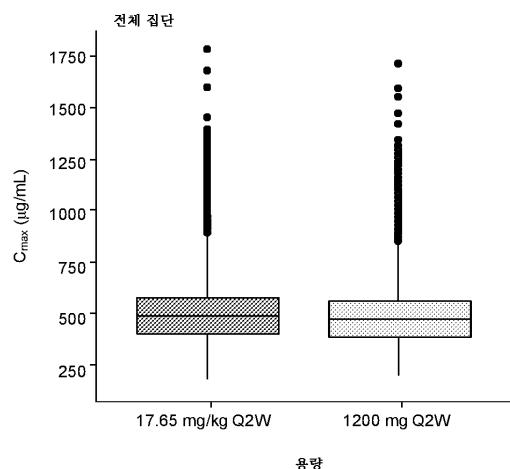
도면7b



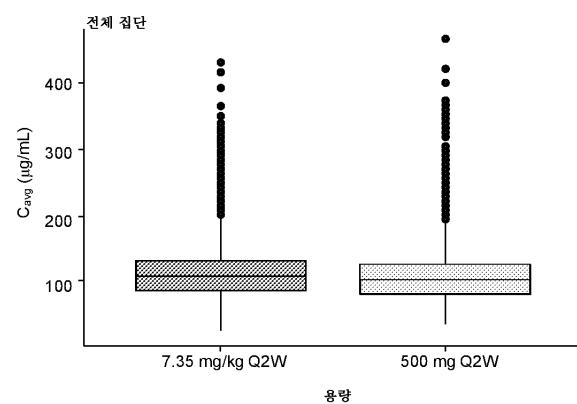
도면7c



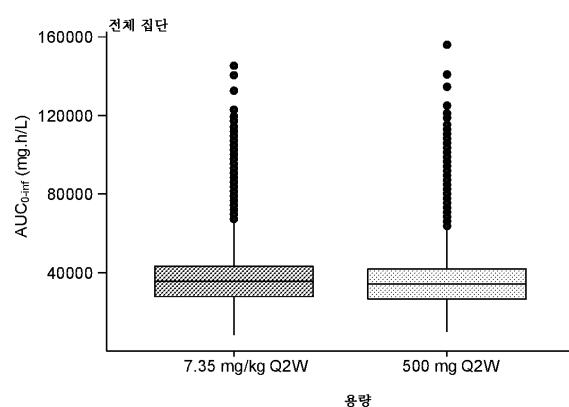
도면7d



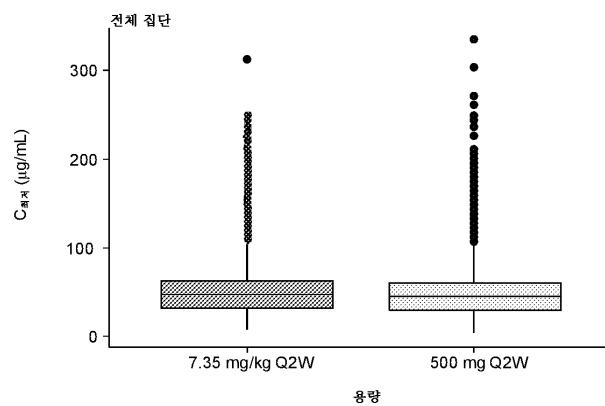
도면7e



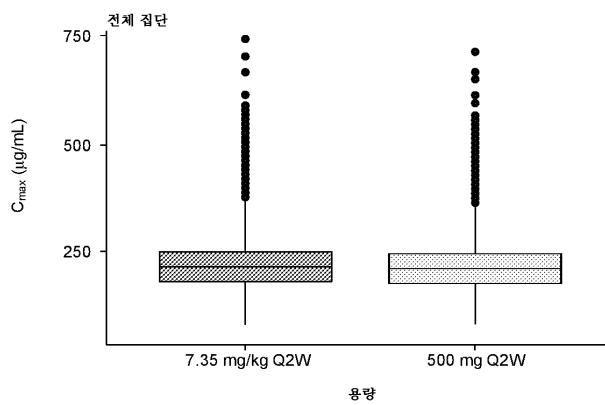
도면7f



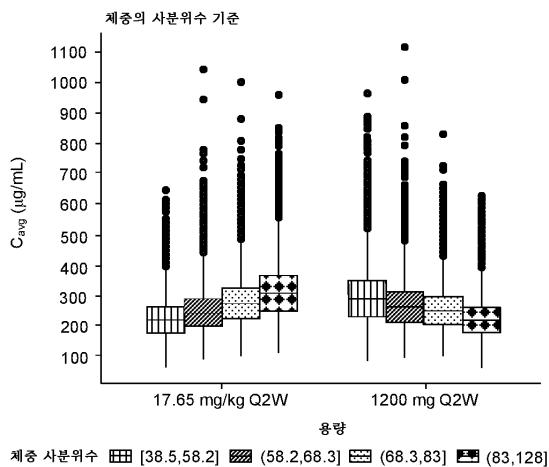
도면7g



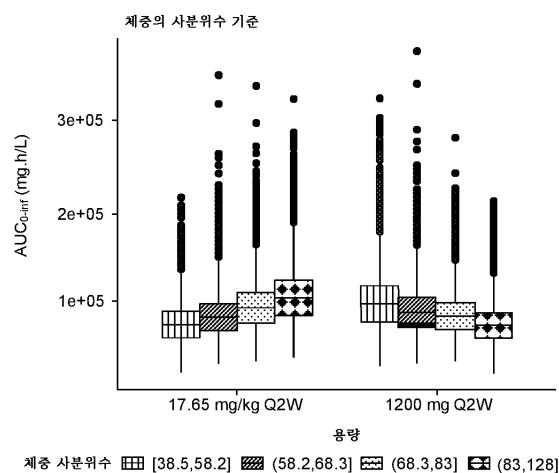
도면7h



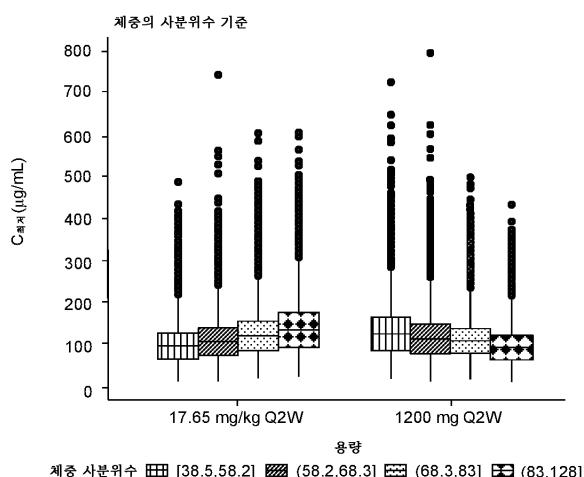
도면8a



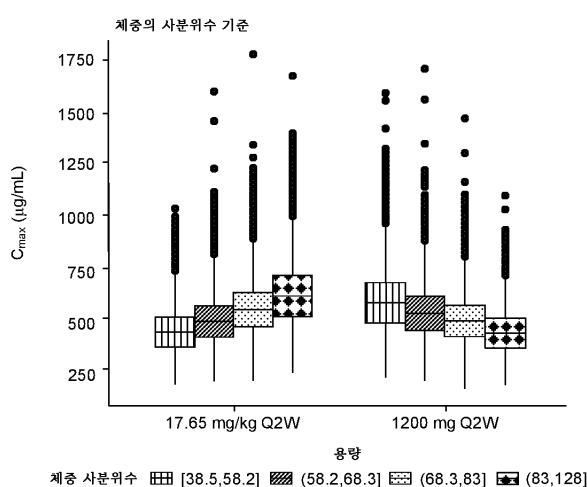
도면8b



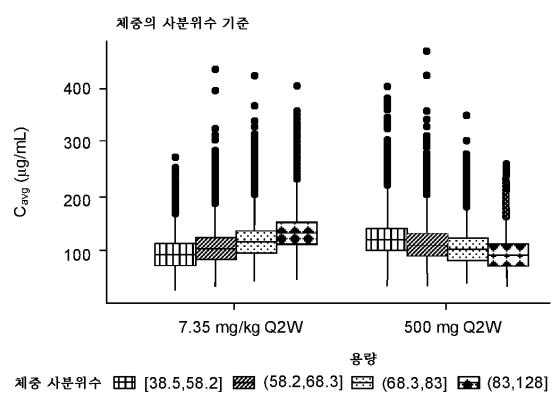
도면8c



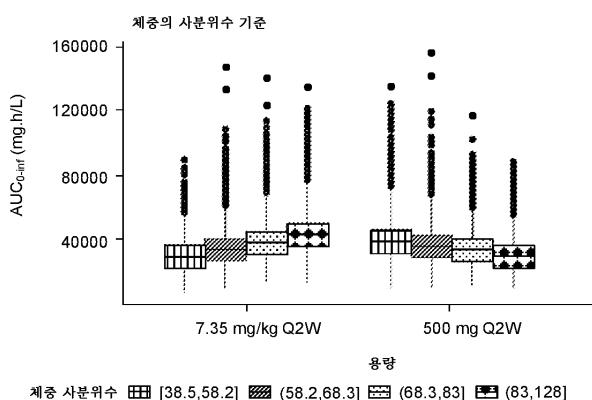
도면8d



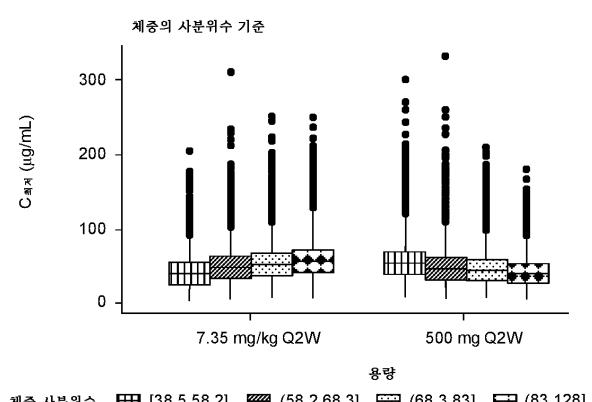
도면8e



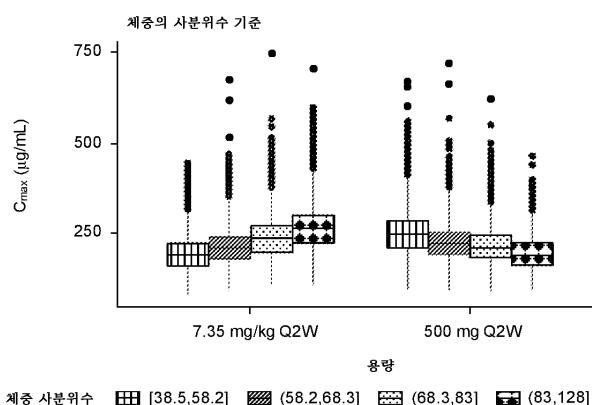
도면8f



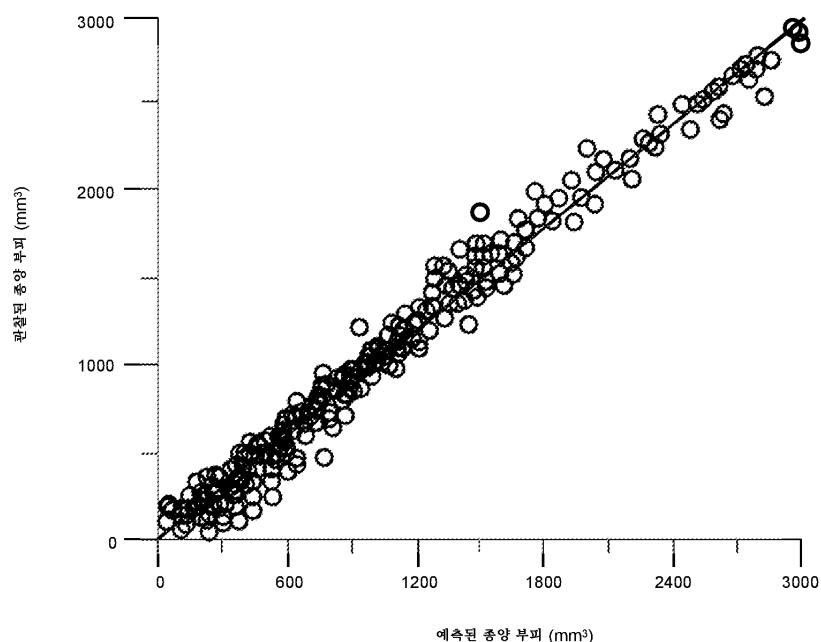
도면8g



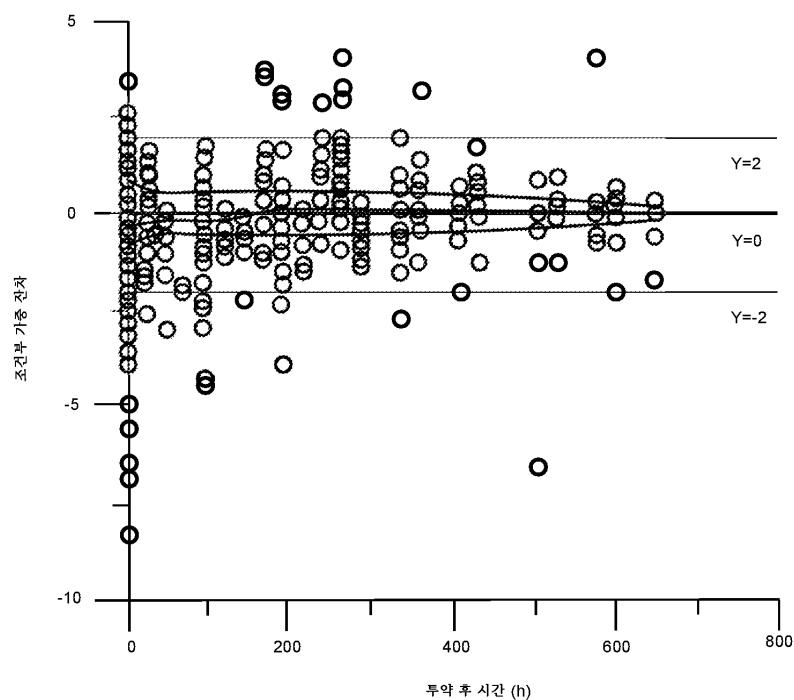
도면8h



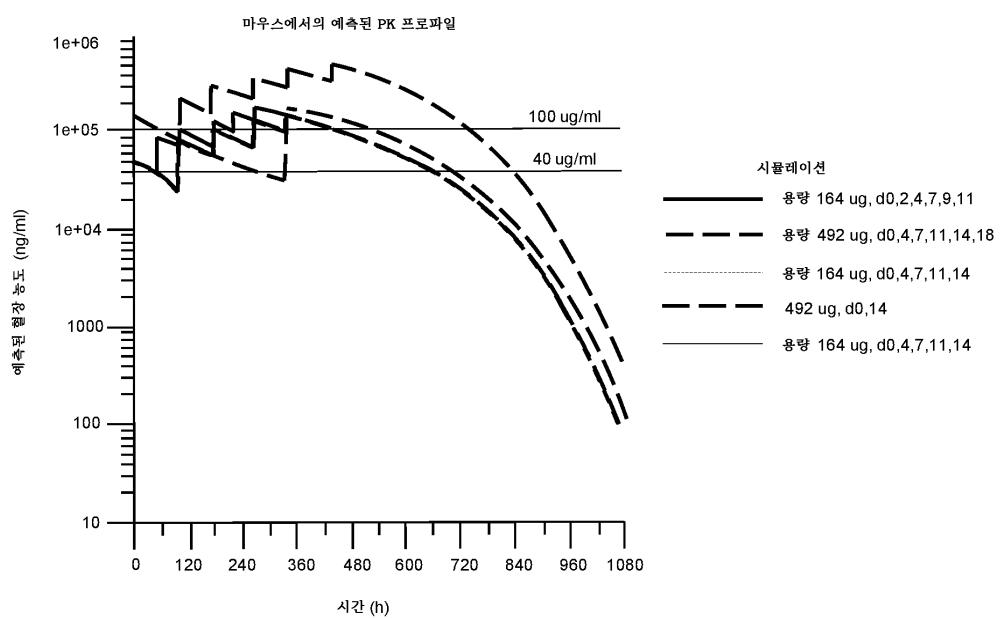
도면9a

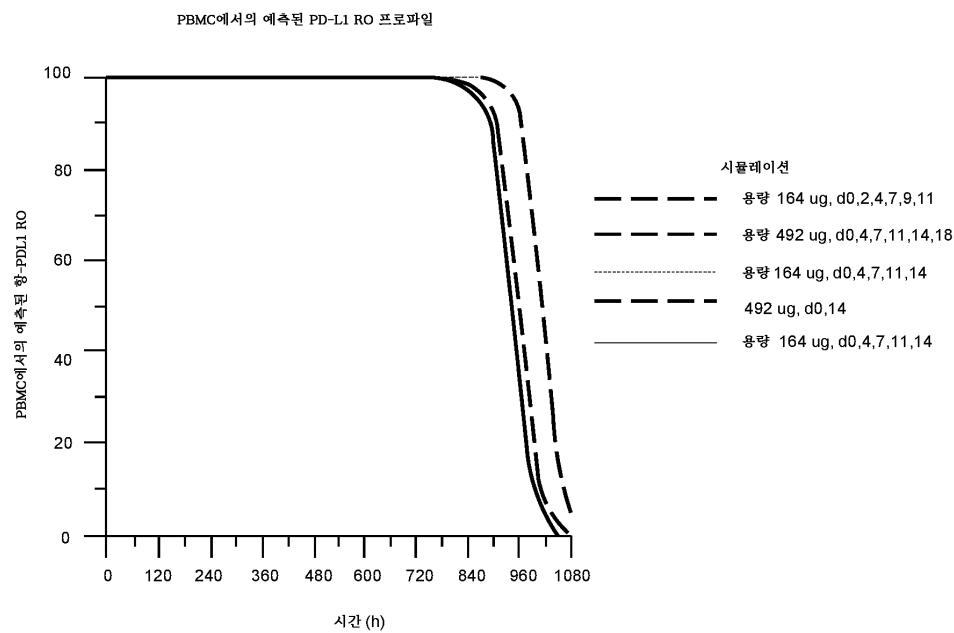
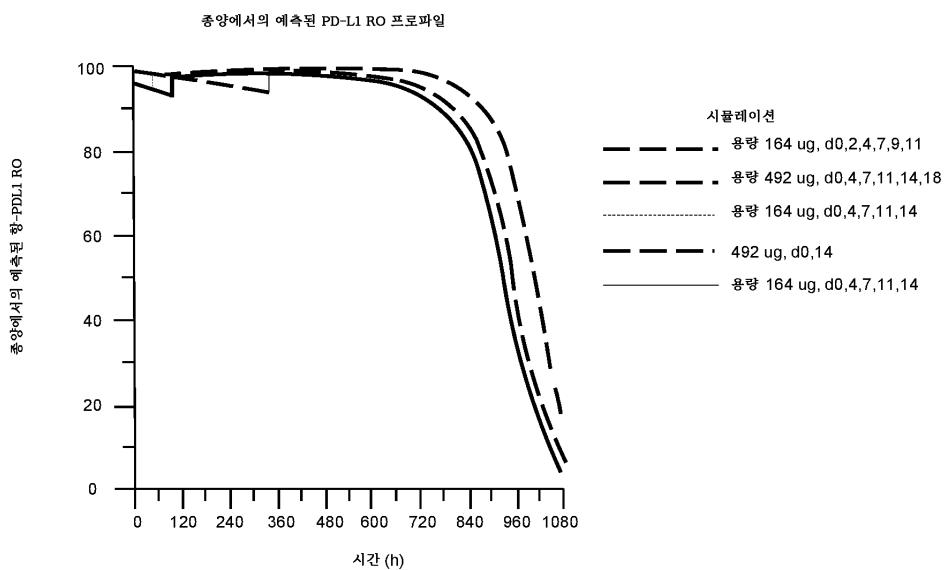


도면9b

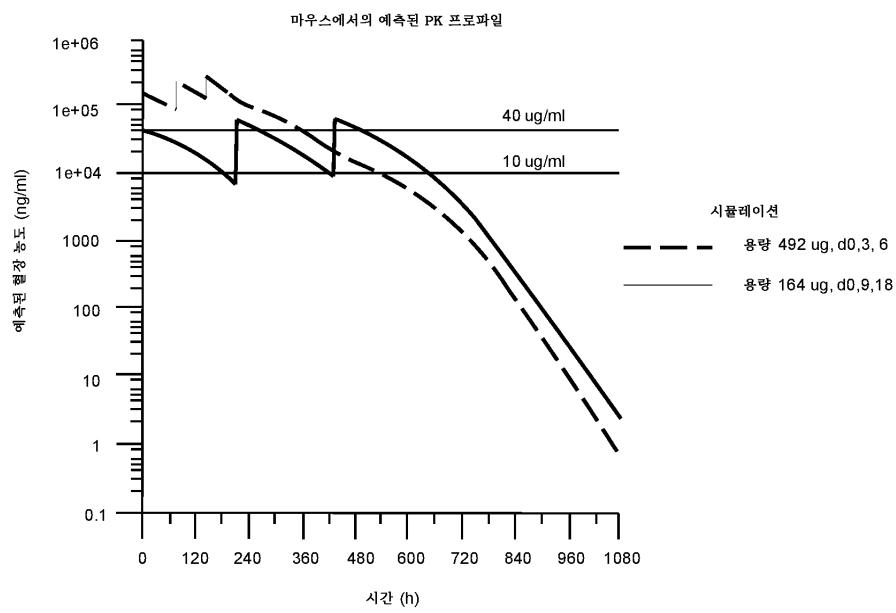


도면10a

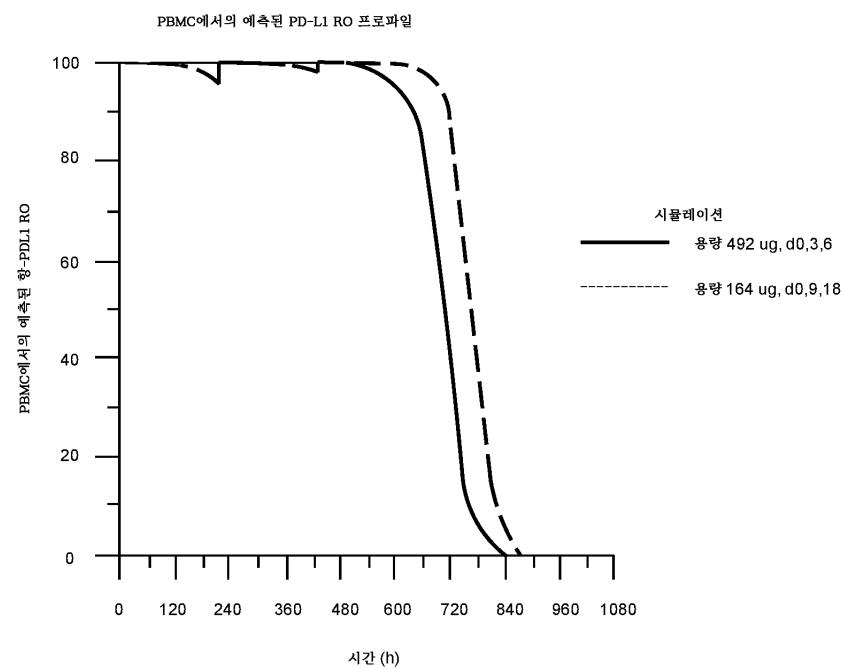


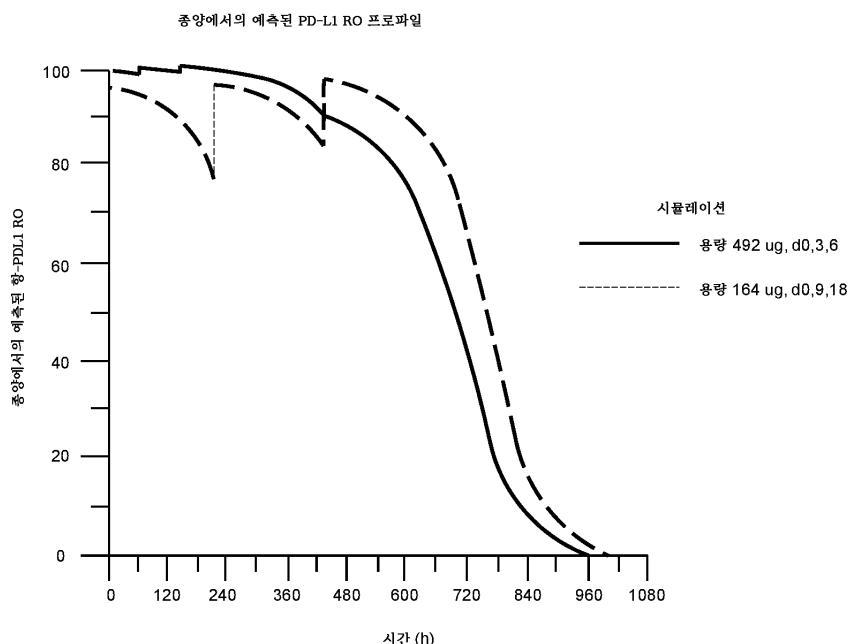
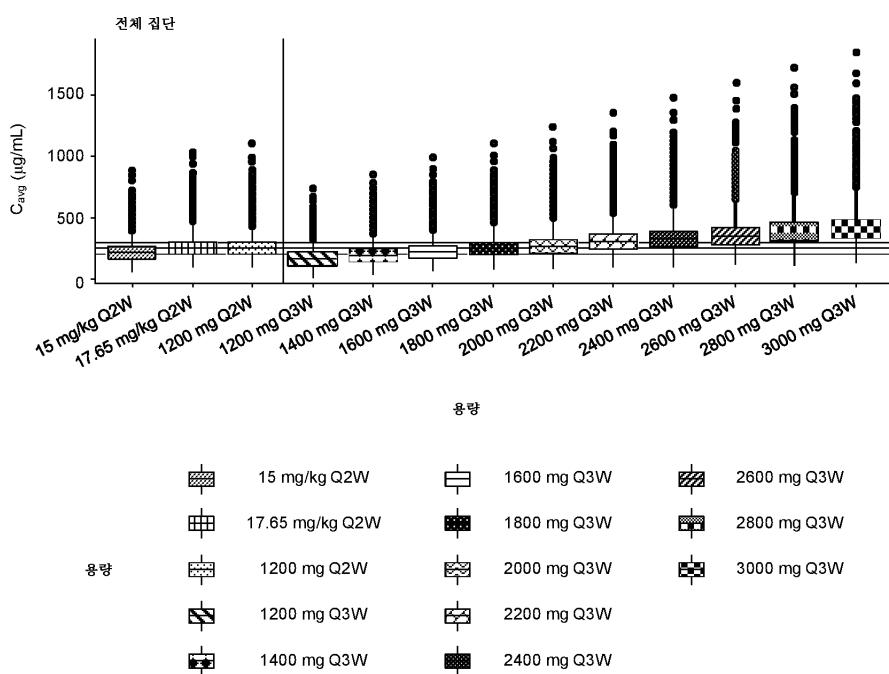
도면10b**도면10c**

도면11a

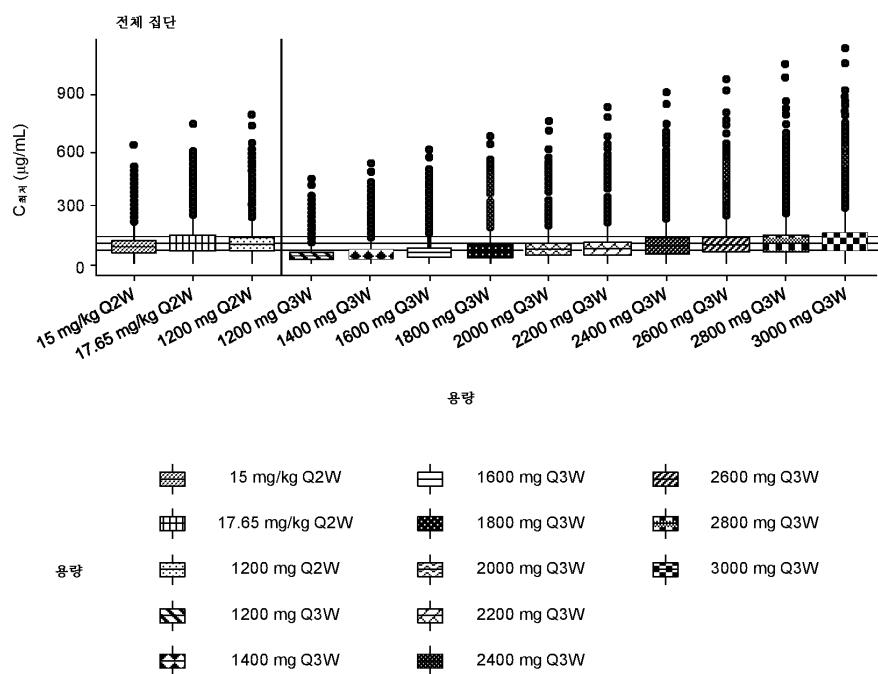


도면11b

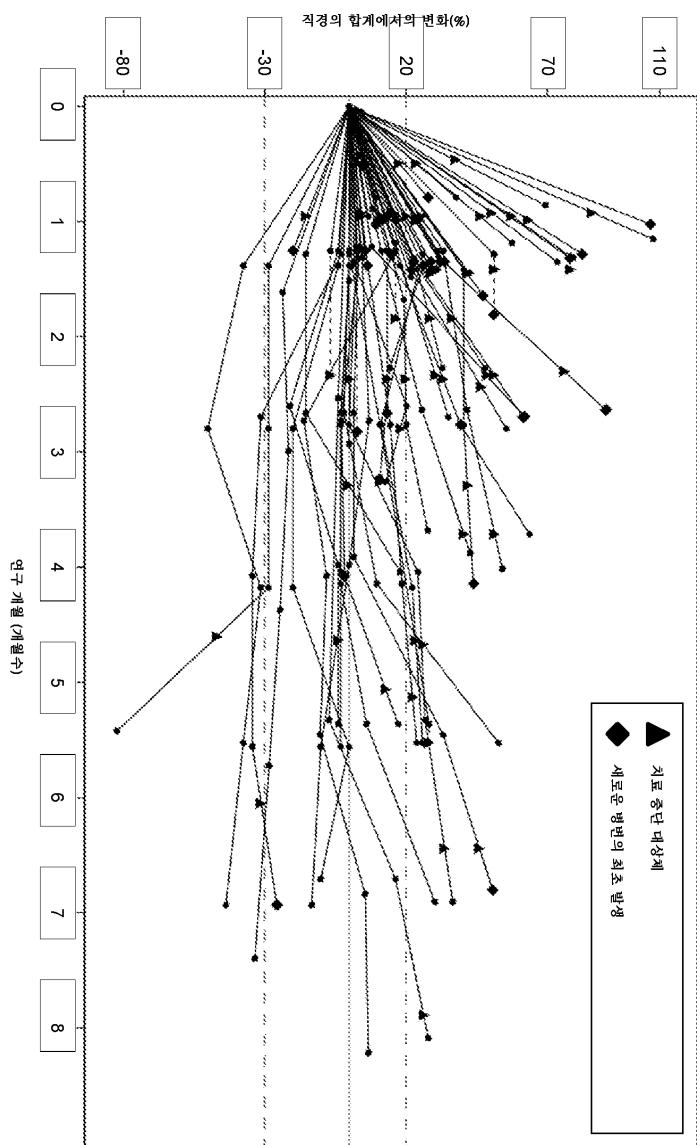


도면11c**도면12a**

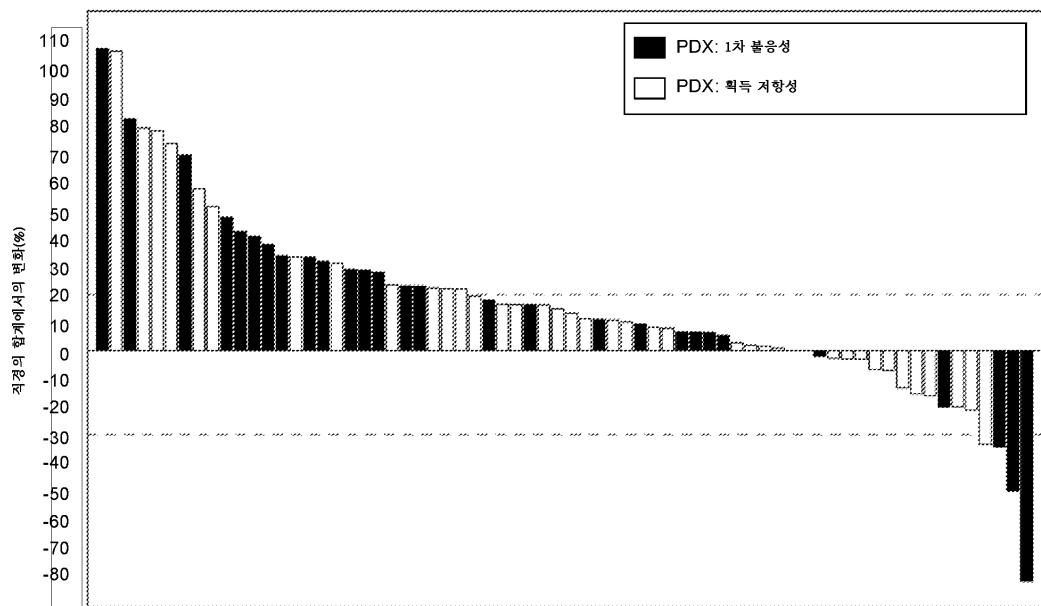
도면12b



도면13



도면14



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MERCK PATENT GMBH

<120> DOSING REGIMENS AND DOSAGE FORMS FOR TARGETED TGF-B INHIBITION

<130> EMD-005PC

<140>

<141>

<150> 62/443,698

<151> 2017-01-07

<150> 62/581,978

<151> 2017-11-06

<160> 49

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 1

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 2

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 2

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

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

210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
320		
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
400		
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys		
450		

<210> 3

<211> 607

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 3

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

1 5 10 15

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

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

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

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

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

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

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

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

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

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

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

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

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

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

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

405	410	415
-----	-----	-----

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

420	425	430
-----	-----	-----

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

435	440	445
-----	-----	-----

Gly Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

450 455 460

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val

465 470 475 480

Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro

485 490 495

Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln

500 505 510

Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro

515 520 525

Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr

530 535 540

Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile

545 550 555 560

Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys

565 570 575

Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn

580 585 590

Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp

595 600 605

<210> 4

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 4

atgaggggccc tgctggctag actgctgctg tgcgtgctgg tcgtgtccga cagcaaggc 60

cagtccggcc tggaccaggcc tgcctccgtg tctggctccc ctggccagtc catcaccatc 120

agctgcaccc gcacacctccag cgacgtggc ggctacaact acgtgtcctg gtatcagcag 180

caccccgcca aggcccccaa gctgatgatc tacgacgtgt ccaaccggcc ctccggcgtg 240

tccaaacagat tctccggctc caagtccggc aacaccgcct ccctgaccat cagcggactg caggcagagg acgaggcccga ctactactgc tcctccata cctcccccag caccagagt ttcggcaccc gcacaaaagt gaccgtgctg ggccagccca aggccaaccc aaccgtgaca ctgttcccc catccctccga ggaactgcag gccaaacaagg ccacccttgtt ctgcctigatc tcagatttct atccaggcgc cgtgaccgtg gcctggaagg ctgatggctc cccagtgaag gccggcggtgg aaaccaccaa gccctccaag cagtccaaaca acaaataacgc cgcctctcc tacctgtccc tgaccccgta gcagtggaag tcccaccgtt cctacagctg ccaggtcaca	300 360 420 480 540 600 660
 cacgagggct ccaccgtgga aaagaccgtc gccccccaccc agtgctcatg a <210> 5 <211> 1887 <212> DNA <213> Artificial Sequence <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide <400> 5 atggaaacag acaccctgct gctgtgggtg ctgctgtgtt gggtgcccg ctccacaggc gaggtgcagc tgctggaatc cggcggagga ctgggtcagc ctggcggtc cctgagactg tcttgcgcgg cctccggctt caccttctcc agctacatca tggatgtgggt ggcacaggcc cctggcaagg gcctggaatg ggtgtcctcc atctaccctt ccggcggtt caccttctac	60 120 180 240
 gccgacacccg tgaaggcccg gttcaccatc tcccgccaca actccaagaa caccctgtac ctgcagatga actccctgctg ggccgaggac accgcgtgtt actactgcgc cggatcaag ctggcaccgg tgaccaccgtt ggactactgg ggccaggccca ccctgggtt gatgtcctcc gcttagcacca agggccatc ggtttcccc ctggcaccctt cctccaagag caccttggg ggcacagccgg ccctgggtt cctgggtt gactacttcc ccgaaccgtt gacgggttgc tggaactcag ggcctgttac cagcggcggtt cacacccctt ccgtgttctt acagtttca ggacttactt ccctcagcag cgtgggttacc ttggcccttcca gcagtttggg cacccagacc	300 360 420 480 540 600 660
 tacatctgca acgtaatca caagcccagg aacaccaagg tggacaagag agttgagccc aaatcttgc acaaaaactca cacatgccc ccgtgcccagg cacctgaactt cctgggggg ccgtcagtctt tcctttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgtatctt ccggaccctt gaggtcacat gcggtgggtt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtaa gttcaactgg tacgtggacg gcggtggagggtt gcataatgcc aagacaaagc cgccggaggaa gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcccttacc ttgcctgttacc aggtactggctt gaatggcaag	720 780 840 900 960 1020

gagtacaagt gcaaggctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccate cggggaggag 1140
 atgaccaaga accaggttag cctgacactgc ctggtaaaag gtttatcc cagcgacatc 1200
 gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccgtg 1260
 ctggactccg acggctcctt cttcttat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtag 1320
 cagcagggga acgtttctc atgctcgatg atgcatttgg ctctgcacaa ccactacacg 1380
 cagaagagcc tctccgttc cccgggtgct ggcggcggag gaagcggagg aggtggcagc 1440
 ggtggcggtg gctccggcgg aggtggctcc ggaatccctc cccacgtgca gaagtccgtg 1500

aacaacgaca tgatcgtgac cgacaacaac ggcgcgtga agttccctca gctgtgcaag 1560
 ttctgcgacg tgagggttcag cacctgcgac aaccagaagt cctgcatttgcgac 1620
 atcacaagca tctgcgagaa gccccaggag gtgtgtgtgg ccgtgtggag gaagaacgac 1680
 gaaaacatca ccctcgagac cgtgtgccat gaccccaagc tgccctacca cgacttcatc 1740
 ctgaaagacg ccgcctcccc caagtgcatttca atgaaggaga agaagaagcc cggcgagacc 1800
 ttcttcatttgcgac cagcgtgcag tgcaatgaca acatcatctt tagcgaggag 1860
 tacaacacca gcaaccccgaa ctgataa 1887

<210> 6

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 6

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 7

<211> 607

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
325	330	335	
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
340	345	350	
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
355	360	365	
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
370	375	380	
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val			
385	390	395	400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp			
405	410	415	
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His			
420	425	430	
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
435	440	445	
Gly Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly			
450	455	460	
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val			
465	470	475	480
Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro			
485	490	495	
Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln			
500	505	510	
Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro			
515	520	525	
Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr			
530	535	540	

Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile
 545 550 555 560
 Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys
 565 570 575
 Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn
 580 585 590
 Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp
 595 600 605
 <210> 8
 <211> 592
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 8

Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu
 1 5 10 15
 Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Asp
 20 25 30

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

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

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

Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu

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

Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu Leu Leu Val Ile Phe Gln Val

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

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

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

Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val Asn Arg Gln Gln Lys Leu Ser Ser

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

Thr Trp Glu Thr Gly Lys Thr Arg Lys Leu Met Glu Phe Ser Glu His

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

Cys Ala Ile Ile Leu Glu Asp Asp Arg Ser Asp Ile Ser Ser Thr Cys

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

Ala Asn Asn Ile Asn His Asn Thr Glu Leu Leu Pro Ile Glu Leu Asp

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

Thr Leu Val Gly Lys Gly Arg Phe Ala Glu Val Tyr Lys Ala Lys Leu

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

Lys Gln Asn Thr Ser Glu Gln Phe Glu Thr Val Ala Val Lys Ile Phe

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

Pro Tyr Glu Glu Tyr Ala Ser Trp Lys Thr Glu Lys Asp Ile Phe Ser

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

Asp Ile Asn Leu Lys His Glu Asn Ile Leu Gln Phe Leu Thr Ala Glu

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

Glu Arg Lys Thr Glu Leu Gly Lys Gln Tyr Trp Leu Ile Thr Ala Phe

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

His Ala Lys Gly Asn Leu Gln Glu Tyr Leu Thr Arg His Val Ile Ser

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

Trp Glu Asp Leu Arg Lys Leu Gly Ser Ser Leu Ala Arg Gly Ile Ala

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

His Leu His Ser Asp His Thr Pro Cys Gly Arg Pro Lys Met Pro Ile

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

400

Val His Arg Asp Leu Lys Ser Ser Asn Ile Leu Val Lys Asn Asp Leu

405 410 415

Thr Cys Cys Leu Cys Asp Phe Gly Leu Ser Leu Arg Leu Asp Pro Thr

420 425 430

Leu Ser Val Asp Asp Leu Ala Asn Ser Gly Gln Val Gly Thr Ala Arg

435 440 445

Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Glu Ser Arg Met Asn Leu Glu Asn Val

450 455 460

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

465 470 475 480

Glu Met Thr Ser Arg Cys Asn Ala Val Gly Glu Val Lys Asp Tyr Glu

485 490 495

Pro Pro Phe Gly Ser Lys Val Arg Glu His Pro Cys Val Glu Ser Met

500 505 510

Lys Asp Asn Val Leu Arg Asp Arg Gly Arg Pro Glu Ile Pro Ser Phe

515 520 525

Trp Leu Asn His Gln Gly Ile Gln Met Val Cys Glu Thr Leu Thr Glu

530 535 540

Cys Trp Asp His Asp Pro Glu Ala Arg Leu Thr Ala Gln Cys Val Ala

545 550 555 560

Glu Arg Phe Ser Glu Leu Glu His Leu Asp Arg Leu Ser Gly Arg Ser

565 570 575

Cys Ser Glu Glu Lys Ile Pro Glu Asp Gly Ser Leu Asn Thr Thr Lys

580 585 590

<210> 9

<211> 567

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu

1 5 10 15

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

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

 130 135 140
 Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu
 145 150 155 160
 Leu Leu Val Ile Phe Gln Val Thr Gly Ile Ser Leu Leu Pro Pro Leu
 165 170 175
 Gly Val Ala Ile Ser Val Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val Asn
 180 185 190
 Arg Gln Gln Lys Leu Ser Ser Thr Trp Glu Thr Gly Lys Thr Arg Lys

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

260	265	270
Thr Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Tyr Glu Glu Tyr Ala Ser Trp Lys		
275	280	285
Thr Glu Lys Asp Ile Phe Ser Asp Ile Asn Leu Lys His Glu Asn Ile		
290	295	300
Leu Gln Phe Leu Thr Ala Glu Glu Arg Lys Thr Glu Leu Gly Lys Gln		
305	310	315
Tyr Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Ala Lys Gly Asn Leu Gln Glu Tyr		
325	330	335
Leu Thr Arg His Val Ile Ser Trp Glu Asp Leu Arg Lys Leu Gly Ser		
340	345	350
Ser Leu Ala Arg Gly Ile Ala His Leu His Ser Asp His Thr Pro Cys		
355	360	365
Gly Arg Pro Lys Met Pro Ile Val His Arg Asp Leu Lys Ser Ser Asn		
370	375	380
Ile Leu Val Lys Asn Asp Leu Thr Cys Cys Leu Cys Asp Phe Gly Leu		
385	390	395
Ser Leu Arg Leu Asp Pro Thr Leu Ser Val Asp Asp Leu Ala Asn Ser		
405	410	415
Gly Gln Val Gly Thr Ala Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Glu Ser		
420	425	430
Arg Met Asn Leu Glu Asn Val Glu Ser Phe Lys Gln Thr Asp Val Tyr		
435	440	445
Ser Met Ala Leu Val Leu Trp Glu Met Thr Ser Arg Cys Asn Ala Val		
450	455	460
Gly Glu Val Lys Asp Tyr Glu Pro Pro Phe Gly Ser Lys Val Arg Glu		
465	470	475
His Pro Cys Val Glu Ser Met Lys Asp Asn Val Leu Arg Asp Arg Gly		
485	490	495
Arg Pro Glu Ile Pro Ser Phe Trp Leu Asn His Gln Gly Ile Gln Met		
500	505	510

Val Cys Glu Thr Leu Thr Glu Cys Trp Asp His Asp Pro Glu Ala Arg

515	520	525
Leu Thr Ala Gln Cys Val Ala Glu Arg Phe Ser Glu Leu Glu His Leu		
530	535	540
Asp Arg Leu Ser Gly Arg Ser Cys Ser Glu Glu Lys Ile Pro Glu Asp		
545	550	555
Gly Ser Leu Asn Thr Thr Lys		
565		

<210> 10
<211> 136
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 10

Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn Asp Met Ile Val Thr

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

65	70	75	80
Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro			
85	90	95	
Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met			
100	105	110	
Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu			
115	120	125	
Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp			
130	135		

<210> 11

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide

<400> 11

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 12

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 12

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

1 5 10 15

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

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

65 70 75 80

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

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 13

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 14

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400

> 14

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

1 5 10 15

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

20	25	30
Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ala		
115		
<210> 15		
<211> 4		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 15

Gln Phe Asn Ser

1

<210> 16

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 16

Gln Ala Gln Ser

1

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 17

Pro Lys Ser Cys Asp Lys

1 5

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 18

Pro Lys Ser Ser Asp Lys

1 5

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 19

Leu Ser Leu Ser

1

<210> 20

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400

> 20

Ala Thr Ala Thr

1

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Lys, Arg, Thr, Gln, Gly, Ala, Trp, Met, Ile or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Val, Arg, Lys, Leu, Met or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> His, Thr, Asn, Gln, Ala, Val, Tyr, Trp, Phe or Met

<400> 21

Xaa Tyr Xaa Met Xaa

1

5

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Phe or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Ser or Thr

<400> 22

Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Xaa Thr Phe Tyr Ala Asp Xaa Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Glu or Asp

<400> 23

Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Xaa Tyr

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

<210> 24

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 24

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

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

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

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

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 25

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

1 5 10

<210> 26

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 26

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 27

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 27

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Asn or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Thr, Arg or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ala or Gly

<400> 28

Thr Gly Thr Xaa Xaa Asp Val Gly Xaa Tyr Asn Tyr Val Ser

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

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221>

> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Glu or Asp

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Ile, Asn or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Asp, His or Asn

<400> 29

Xaa Val Xaa Xaa Arg Pro Ser

1	5	
---	---	--

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Phe or Tyr

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Asn or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Arg, Thr or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Gly or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ile or Thr

<400> 30

Ser Ser Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Val

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

<210> 31

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 31

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

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys

20

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 32

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

1 5 10 15

<210> 33

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 33

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 34

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

1 5 10

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 35

Ser Tyr Ile Met Met

1 5

<210> 36

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 36

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

1 5 10 15

Gly

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 37

Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 38

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 39

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 40

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Arg Val

1 5 10

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 41

Met Tyr Met Met Met

1 5

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 42

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

1 5 10 15

Gly

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 43

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 44

<211>

119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Trp Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 45

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 45

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Val Thr Val Leu

100 105 110

<210> 46

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 47

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide

<400> 47

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr
 20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60

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

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 48

<211> 1407

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide from human Fab library

<400> 48

atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttccctgctag ctccagcggag	60
gtgcagctgc tggaaatccgg cggaggactg gtgcagccctg gcccgtccct gagactgtct	120
tgcgccgcct ccggcttcac cttctccagc tacatcatga tgtgggtgcg acaggccccct	180
ggcaaggggcc tggaaatgggt gtcctccatc taccctccg gcccgtccac cttctacgcc	240
gacaccgtga agggccgggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg	300
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcccggatcaagctg	360
ggcacccgtga ccaccgtgga ctactggggc cagggcaccc tggtgacagt gtcctccgcc	420
tccaccaagg gcccatcggt cttcccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctggggc	480
acagcggccc tgggtgcct ggtcaaggac tacttcccg aaccggtgac ggtgtcggtgg	540
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccg ctgtcctaca gtcctcagga	600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttggcac ccagacctac	660
atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaagggtgg acaagaaaat tgagcccaa	720
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccc tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg	780
tcatgtttcc ttttcccccc aaaacccaag gacaccctca tggatctcccg gaccctgag	840
gtcacatgctg tgggtgggatg cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtag	900
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc	960
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag	1020
tacaagtgc aaggctccaa caaaggccctc ccagccccca tggagaaaac catctccaaa	1080
gccaaagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcagc ggatgagctg	1140
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc	1200
gtggagtggtgg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tccctgtctg	1260
gactccgacg gtccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag	1320
caggggaacg tcttctcatg ctccgtatgc catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	1380
aagagcctct ccctgtcccc ggtaaa	1407

<210> 49

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide from human Fab library

<400> 49

atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttccctgcttc cttaagccag	60
tccgcctga cccagcctgc ctccgtgtct ggctccctg gccagtcac caccatcagc	120
tgcacccggca cctccagcga cgtggcgcc tacaactacg tgtcctggta tcagcagcac	180
cccgcaagg ccccaagct gatgatctac gacgtgtcca accggccctc cggcggtcc	240
aacagattct ccggctccaa gtccggcaac accgcctccc tgaccatcag cgactgcag	300

gcagaggacg aggccgacta ctactgctcc tcctacacct cctccagcac cagagtgttc	360
ggcacccggca caaaagtgac cgtgctggc cagcccaagg ccaacccaac cgtgacactg	420
ttccccccat cctccgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggctcg cctgatctca	480
gatttctatc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggctg atggctcccc agtgaaggcc	540
ggcgtggaaa ccaccaagcc ctccaagcag tccacaaca aatacggcgc ctccctctac	600
ctgtccctga ccccccggca gtggaaagtcc caccggctc acagctgcc ggtcacacac	660
gagggtccca ccgtggaaaa gaccgtcgcc cccaccgagt gctca	705