



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0004645
(43) 공개일자 2025년01월08일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 40/11 (2025.01) A61K 40/31 (2025.01)
A61K 40/42 (2025.01) A61P 35/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 16/28 (2013.01)
A61K 40/11 (2025.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2024-7033221</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2023년03월08일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2024년10월04일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/IB2023/052214</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2023/170606
국제공개일자 2023년09월14일</p> <p>(30) 우선권주장
63/317,885 2022년03월08일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
알렌티스 테라퓨틱스 아게
스위스 4123 알슈빌 헤켄하이머마트베그 167에이</p> <p>(72) 발명자
토소 알베르토
스위스 4123 알슈빌 스위스 이노베이션 파크 알렌티스 테라퓨틱스 아게 내
이아코네 로베르토
스위스 4123 알슈빌 스위스 이노베이션 파크 알렌티스 테라퓨틱스 아게 내
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
김진희, 김태홍</p> |
|--|--|

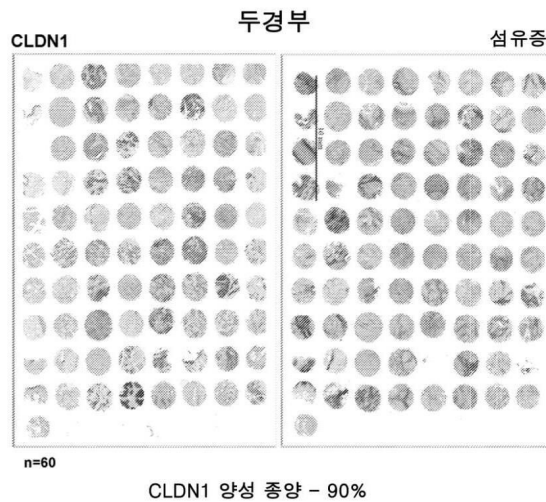
전체 청구항 수 : 총 34 항

(54) 발명의 명칭 T 세포 가용성을 증가시키기 위한 항-클라우딘-1 항체의 사용

(57) 요약

본 개시내용은 항-클라우딘-1 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항암 활성을 증진시키는 방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 40/31 (2025.01)

A61K 40/4202 (2025.01)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자

테이세이라, 조프리

스위스 4123 알슈빌 스위스 이노베이션 파크 알렌
티스 테라퓨틱스 아게 내

마이어 마르쿠스

스위스 4123 알슈빌 스위스 이노베이션 파크 알렌
티스 테라퓨틱스 아게 내

명세서

청구범위

청구항 1

항-클라우딘-1 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 3

치료적으로 유효량의 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 고형 종양을 가진 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 항-클라우딘-1 항체는 대상체의 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는, 방법.

청구항 4

섬유성 종양을 가진 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키는 방법으로서,

- a. 항-클라우딘-1 항체를 대상체에게 투여하는 단계로서, 여기서 항-클라우딘-1 항체는 섬유성 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는, 단계; 및
- b. 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 5

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체가 면역 체크포인트 억제제 투여 전에 투여되는, 방법.

청구항 6

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체 및 상기 면역 체크포인트 억제제가 동시에 또는 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 7

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체 및 상기 면역 체크포인트 억제제가 동일한 조성물로 투여되는, 방법.

청구항 8

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체 및 상기 면역 체크포인트 억제제가 상이한 조성물로 투여되는, 방법.

청구항 9

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체 및/또는 상기 면역 체크포인트 억제제가 종양내, 정맥내, 복강내, 근육내, 척추강내 또는 피하로 투여되는, 방법.

청구항 10

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제가 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, TIGIT, VISTA, B7-H3, BTLA 및/또는 Siglec-15의 길항제인, 방법.

청구항 11

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제가 소분자 억제제인, 방법.

청구항 12

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제가 항체인, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제가 니볼루맙, 펌브롤리주맙, 세미플리맙 및 도스타리리맙으로 구성된 군에서 선택된 PD-1 길항제인, 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제가 아테졸리주맙, 더발루맙 및 아벨루맙으로 구성된 군에서 선택된 PD-L1 길항제인, 방법.

청구항 15

제12항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제가 이필리무맙 및 트레멜리무맙으로 구성된 군에서 선택된 CTLA-4 길항제인, 방법.

청구항 16

제12항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제가 티라골루맙, 오시페르리맙, 돔바날리맙, 에티길리맙 및 비보스톨리맙으로 구성된 군에서 선택된 TIGIT 길항제인, 방법.

청구항 17

제3항에 있어서, 상기 암이 섬유성 종양을 포함하는, 방법.

청구항 18

제1항, 제2항, 또는 제4항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 섬유성 종양이 기준 샘플에 비해 클라우딘-1의 높은 발현을 특징으로 하는, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 기준 샘플은 정상 조직의 조직 샘플이며, 상기 정상 조직은 종양에 인접해 있는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양이 두경부, 폐, 유방, 흑색종, 대장직장, 췌장, 식도, 담관암 및 간세포 종양으로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체가 2008년 7월 29일에 DSMZ에 수탁 번호 DSM ACC2938로 기탁된 하이브리도마 세포주에서 분비되는 항-클라우딘-1 단일클론 항체의 6개 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 단일클론 항체인, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체가 인간화된, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 3 또는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함하는, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 4 또는 서열번호: 14에 제시

된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및 서열번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및 서열번호: 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 방법.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체가 서열번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) H1, 서열번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR H2, 및 서열번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR H3을 포함하는, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체가 서열번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) L1, 아미노산 서열 "Gly Ala"를 포함하는 CDR L2, 및 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR L3을 포함하는, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 1로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열을 포함하는, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 2로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함하는, 방법.

청구항 31

항-클라우딘-1 키메라 항원 수용체(CAR) T 세포를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 33

치료적 유효량의 항-클라우딘-1 CAR T 세포 및 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 고형 종양을 가진 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 항-클라우딘-1 CAR T 세포는 상기 대상체의 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는, 방법.

청구항 34

섬유성 종양을 가진 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키는 방법으로서,

- a. 항-클라우딘-1 CAR T 세포를 대상체에게 투여하는 단계로서, 여기서 항-클라우딘-1 CAR T 세포는 섬유성 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는, 단계; 및
- b. 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 교차 참조
- [0002] 본 출원은 2022년 3월 8일에 출원된 미국 가출원 번호 63/317,885의 우선권 이익을 주장하며, 이는 본원에 전체적으로 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록에 대한 참조
- [0004] 전자적으로 제출된 서열 목록(이름: 4872_013PC01_Seqlisting_ST26; 크기: 24,527바이트; 작성일: 2023년 3월 6일)의 내용은 본원에 전체적으로 참조로 포함된다.
- [0005] 발명의 분야
- [0006] 본 개시내용의 다양한 측면에 따르면, 본 개시내용은 T 세포 항종양 활동을 증진하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0007] 면역 체크포인트 억제제를 사용한 암 치료법은 의사가 대상체를 치료하는 능력을 크게 향상시켰다. 그러나 많은 암이 면역 체크포인트 억제제 내성을 보였다. 면역 체크포인트 억제제 내성과 관련된 한 가지 표현형은 종양 T 세포 침윤의 부족으로, "차가운(cold) 종양" 또는 "T 세포 배제"라고도 한다(Shuyue W. et. al, Front. Immun., 12:690112(2021); Christian et al., Front. Oncol., 11:712788(OCT 2021) 참조). 따라서 면역 체크포인트 억제제 내성을 극복할 수 있는 치료법을 개발하여 차가운 종양이나 T 세포 배제를 치료할 필요성이 존재한다.

발명의 내용

- [0008] 발명의 요약
- [0009] 본 개시내용은 항-클라우딘-1 항체를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법을 제공한다.
- [0010] 일부 측면에서, 방법은 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.
- [0011] 일부 측면에서, 본원에서 치료적으로 유효량의 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 고형 종양을 가진 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 대상체의 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시킨다.
- [0012] 일부 측면에서, 본원에서는 섬유성 종양을 가진 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키는 방법이 제공되며, 이는 a) 항-클라우딘-1 항체를 대상체에게 투여하는 단계로서, 여기서 항-클라우딘-1 항체는 섬유성 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는, 단계, 및 b) 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.
- [0013] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 면역 체크포인트 억제제를 투여하기 전에 투여된다.
- [0014] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여된다.
- [0015] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제는 동일한 조성물로 투여된다.
- [0016] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제는 상이한 조성물로 투여된다.
- [0017] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체 및/또는 면역 체크포인트 억제제는 종양 내, 정맥내, 복강내, 근육내, 척추강내 또는 피하로 투여된다.
- [0018] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, TIGIT, VISTA, B7-H3, BTLA 및/또는 Siglec-15의 길항제이다.
- [0019] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 소분자 억제제이다.
- [0020] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 항체이다.
- [0021] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 니볼루맙, 펌브롤리주맙, 세미플리맙 및 도스타트리맙으로 구성된 군에서 선택된 PD-1 길항제이다.
- [0022] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 아테졸리주맙, 더발루맙 및 아벨루맙으로 구성된 군에서 선택된 PD-

L1 길항제이다.

- [0023] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제이며 이필리무맙 및 트레멜리무맙으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0024] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 티라글루맙, 오시페르리맙, 돔바날리맙, 에티글리맙 및 비보스톨리맙으로 구성된 군에서 선택된 TIGIT 길항제이다.
- [0025] 일부 측면에서, 암은 섬유성 종양을 포함한다.
- [0026] 일부 측면에서, 섬유성 종양은 기준 샘플에 비해 클라우딘-1의 높은 발현을 특징으로 한다.
- [0027] 일부 측면에서, 기준 샘플은 정상 조직의 조직 샘플이며, 여기서 정상 조직은 종양에 인접한다.
- [0028] 일부 측면에서, 종양은 두경부, 폐, 유방, 흑색종, 대장직장, 췌장, 식도, 담관암 및 간세포 종양으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0029] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 2008년 7월 29일에 DSMZ에 수탁 번호 DSM ACC2938로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 분비된 항-클라우딘-1 단일클론 항체의 6개의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 단일클론 항체이다.
- [0030] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 인간화된다.
- [0031] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 3 또는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다.
- [0032] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 4 또는 서열번호: 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0033] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및 서열번호: 4에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0034] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH; 및 서열번호: 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL를 포함한다.
- [0035] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) H1, 서열번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR H2, 및 서열번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR H3을 포함한다.
- [0036] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) L1, 아미노산 서열 "Gly Ala"를 포함하는 CDR L2, 및 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR L3을 포함한다.
- [0037] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 1로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열을 포함한다.
- [0038] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 서열번호: 2로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함한다.
- [0039] 일부 측면에서, 본원에서는 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법이 제공되며, 이는 대상체에게 항-클라우딘-1 키메라 항원 수용체(CAR) T 세포를 투여하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다.
- [0040] 일부 측면에서, 본원에서는 치료적으로 유효량의 항-클라우딘-1 CAR T 세포 및 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 고휘 종양을 가진 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 CAR T 세포는 대상체의 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시킨다.
- [0041] 일부 측면에서, 본원에서는 항-클라우딘-1 CAR T 세포를 대상체에게 투여하고 면역 체크포인트 억제제를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 섬유성 종양을 가진 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키는 방법이 제공된다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 CAR T 세포는 섬유성 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진한다.

도면의 간단한 설명

- [0042] 도 1a-1b(도 1a-1b)는 두 가지 상이한 섬유성 종양 유형에서 클라우딘-1(CLDN1) 발현을 보여준다. 면역조직화학

(IHC) 염색은 클라우딘-1 발현(왼쪽 패널)과 섬유화 마커(오른쪽 패널)를 측정하기 위해 수행되었다.

도 2a-2c(도 2a-2c)는 두경부암에서 T 세포 배제를 보여준다. 도 2a는 여러 종양 샘플에서 CLDN1에 대한 IHC 염색을 보여주며, 섬유성 트랩을 예시하는 CD3에 대한 상응하는 염색을 보여준다. 도 2b는 CLDN1 발현을 보인 종양 샘플의 백분율을 보여준다. 도 2c는 CLDN1 발현 수준이 다양한 종양에 대한 면역 표현형의 분류를 보여준다. 면역 표현형은 뜨겁고(면역 세포가 기질과 암세포 사이에 있음), 배제되었고(면역 세포가 주로 기질에 있음), 차갑다(면역 세포가 거의 보이지 않음).

도 3a-3d(도 3a-3d)는 식도암에서 T 세포 배제를 보여준다. 도 3a는 다양한 수준의 CLDN1 발현을 가진 종양의 면역 표현형을 보여준다. 면역 표현형은 뜨겁고(면역 세포가 기질과 암세포 사이에 있음), 배제되었고(면역 세포가 종양 내에 있지만 기질에만 있음), 차갑다(면역 세포가 거의 보이지 않음). IHC 염색은 식도 종양 샘플에서 CLDN1(도 3b), T 세포(CD3 염색)(도 3c), 및 섬유성 조직(시리우스 레드 염색)(도 3d)에 대해 수행되었다.

도 4a-4b(도 4a-4b)는 생체내 간 마우스 종양 세포 Hepa 1-6에서 인간 세포의 루프를 보유한 마우스 CLDN1의 과 발현에 의해 유도된 면역 회피(도 4a) 및 T-세포 배제(도 4b)를 보여준다.

도 5(도 5)는 집중 후 Hepa 1-6 종양의 부피를 보여준다. 인간 세포의 루프를 보유한 마우스 CLDN1(CLDN1 hECL)에 대해 양성인 샘플은 CLDN1 발현이 없는 샘플과 비교하여 더 큰 종양 부피를 보였고 면역 회피를 보였다.

도 6(도 6)은 직접적인 항-섬유성 효과가 있는 항-CLDN1 항체를 사용하여 암에서 체크포인트 억제제 내성을 부수는 예시적 다이어그램을 보여준다.

도 7a(도 7a)는 체크포인트 억제제 aPD1을 투여한 후 CLDN1 수준이 높거나 낮은 종양(예를 들어, 흑색종)에서 시간에 따른 전체 생존 확률을 보여준다.

도 7b(도 7b)는 CLDN1 양성 또는 CLDN1 음성인 환자에서 치료 중단까지의 시간을 보여준다.

도 8a(도 8a)는 종양 미세환경에서 CLDN-1 표적 치료법에 대한 기전 모델을 보여준다.

도 8b(도 8b)는 T-세포 배제를 갖는 종양에 대한 항-CLDN1 항체 투여의 효과를 보여주는 기전 모델을 보여준다.

도 9(도 9)는 두경부 편평세포암(HNSCC), 대장직장암(CRC), 식도암, 편평비소세포폐암(Sq. NSCLC), 간내담관암(iCCA), 간세포암(HCC), 요로상피암에서의 CLDN1 발현을 나타낸다.

도 10a(도 10a)는 항-CLDN1 항체 단독, PD1 길항제(aPD1) 단독, 항-CLDN1 항체와 PD1 길항제의 조합을 투여한 후 Hepa1-6 CLDN1+ 켈린된 마우스에서의 종양 부피를 나타낸다. 마우스는 40일째에 재켈린되었다.

도 10b-10c(도 10b-10c)는 대조군(도 10b) 및 항-CLDN1 항체 및 PD1 길항제로 처리한 후(도 10c) T-세포 수치 상 세포 침윤를 측정하는 면역세포화학을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

[0043]

달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 이 개시내용이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 충돌이 있는 경우 정의를 포함하여 본 출원이 우선한다. 맥락상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수 용어를 포함하고 복수 용어는 단수를 포함한다. 본원에서 언급된 모든 간행물, 특허 및 기타 참고 문헌은 각 개별 간행물 또는 특허 출원이 구체적으로 개별적으로 참조로 포함되도록 지정된 것처럼 모든 목적을 위해 전체적으로 참조로 포함된다.

[0044]

[0045]

본원에서 기술된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 개시내용의 실시 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 재료는 아래에 설명되어 있다. 재료, 방법 및 실시에는 단지 예시일 뿐이며 제한하려는 의도가 아니다. 본 개시내용의 다른 특징 및 이점은 자세한 설명 및 청구항에서 분명해질 것이다.

[0046]

이 개시내용을 더욱 정의하기 위해 다음 용어 및 정의가 제공된다.

[0047]

단수형 "a", "an" 및 "the"는 문맥상 명확히 달리 규정되지 않는 한 복수형 지시 대상체를 포함한다. 용어 "a" (또는 "an")와 용어 "하나 이상," 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환적으로 사용할 수 있다. 특정 측면에서 용어 "a" 또는 "an"은 "단일"을 의미한다. 다른 측면에서 용어 "a" 또는 "an"은 "2개 이상" 또는 "다수"를 포함한다.

- [0048] 용어 "약"은 본원에서 거의, 대략, 주변 또는 영역을 의미하는 데 사용된다. 용어 "약"이 수치 범위와 함께 사용되는 경우, 이는 명시된 수치 값의 위아래 경계를 확장하여 해당 범위를 수정한다. 일반적으로 용어 "약"은 명시된 값의 위아래로 10%의 편차(위 또는 아래)로 수치 값을 수정하는 데 사용된다.
- [0049] 본 개시내용 전반에 걸쳐 본 발명의 다양한 측면이 범위 형식으로 제시된다. 범위 형식의 기술은 편의와 간결성을 위한 것일 뿐이며, 발명의 범위에 대한 융통성 없는 제한으로 해석되어서는 안 된다. 따라서 범위에 대한 기술은 해당 범위 내의 모든 가능한 하위 범위와 개별 숫자 값을 구체적으로 공개한 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 1-6과 같은 범위에 대한 설명은 1-3, 1-4, 1-5, 2-4, 2-6, 3-6 등과 같은 하위 범위와 해당 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6을 구체적으로 공개한 것으로 간주되어야 한다. 이는 범위의 폭에 관계없이 적용된다. 언급된 숫자 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함하며 정의된 범위 내의 각 정수를 포함한다.
- [0050] 단위, 접두사 및 기호는 단위의 국제 시스템(SI)에서 허용하는 형태로 표시된다. 숫자 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함한다. 값 범위가 언급되는 경우, 해당 범위의 언급된 상한 및 하한 사이의 각 중간 정수 값과 그 각 분수도 이러한 값 사이의 각 하위 범위와 함께 구체적으로 공개된다는 것을 이해해야 한다. 모든 범위의 상한 및 하한은 범위에 독립적으로 포함되거나 제외될 수 있으며, 어느 한 쪽, 어느 쪽도 또는 두 가지 한계가 모두 포함되지 않는 각 범위도 개시내용에 포함된다. 따라서 여기에 언급된 범위는 언급된 중점을 포함하여 범위 내의 모든 값에 대한 약어로 이해된다. 예를 들어, 1-10의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10으로 구성된 군으로부터 임의의 숫자, 숫자의 조합 또는 하위 범위를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0051] 값이 명시적으로 언급된 경우, 언급된 값과 거의 같은 양 또는 양인 값도 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 이해되어야 한다. 조합이 공개된 경우, 해당 조합의 각 요소의 하위 조합도 구체적으로 공개되고 본 발명의 범위 내에 있다. 반대로, 다른 요소 또는 요소 군이 개별적으로 공개된 경우, 그 조합도 개시된다. 개시내용의 임의의 요소가 복수의 대안을 갖는 것으로 개시된 경우, 각 대안이 단독으로 또는 다른 대안과 임의의 조합으로 제외되는 개시의 예도 본원에 개시되고; 개시내용의 두 개 이상의 요소가 이러한 제외를 가질 수 있으며, 이러한 제외를 갖는 모든 요소의 조합이 본원에 개시된다.
- [0052] 본원에서 사용되는 용어 "및/또는"은 다른 하나와 함께 또는 다른 하나 없이 두 개의 지정된 특징 또는 구성요소 각각에 대한 구체적인 개시로 간주되어야 한다. 따라서 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 문구에서 사용되는 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A"(단독), 및 "B"(단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 문구에서 사용되는 용어 "및/또는"은 다음 측면 각각을 포함하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).
- [0053] 본원에서 사용되는 용어 "치료하는" 또는 "치료"는 치료 목적으로 대상체에게 조성물을 투여하는 것을 의미한다.
- [0054] "인간 클라우딘-1(또는 CLDN1)"이라는 용어는 NCBI 수탁 번호 NP_066924.1에 표시된 서열을 갖는 단백질 또는 HCV 허용 인간 집단에서 일반적으로 발견되는 자연적으로 발생하는 모든 변이체를 의미한다. 클라우딘은 밀착 접합에서 중요한 구조적 및 기능적 역할을 하는 약 18개의 단백질로 구성된 계열이다. 이들은 접합 접착 분자(JAM) 및 오클루딘과 같은 다른 막횡단 단백질과 스캐폴딩 단백질 ZO-1, ZO-2 및 ZO-3과 상호작용하는 막횡단 단백질이다. 클라우딘-1 발현은 상피 세포에서 널리 퍼져 있지만, 간엽 조직에서는 발현이 신경주위 세포로 제한되는 것으로 보인다. 클라우딘-1 발현은 종양의 29%-92%에서 발생하는 것으로 보고되었다.
- [0055] 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 항원을 면역특이적으로 결합하는 항원 결합 부위를 함유하는 임의의 면역글로불린을 의미한다. 따라서 항체라는 용어는 전체 항체 분자뿐만 아니라 유도체와 단편이 특이적 결합 능력을 유지하는 한 항체 단편과 항체 및 항체 단편의 변이체(유도체 포함)도 포함한다. 이 용어는 단일클론 항체와 다클론 항체를 포함한다. 이 용어는 또한 면역글로불린-결합 도메인과 상동하거나 대체로 상동하는 결합 도메인을 갖는 임의의 단백질을 포함한다. 이러한 단백질은 천연 공급원에서 유래하거나 부분적으로 또는 전체적으로 합성적으로 생산될 수 있다. 항체와 관련하여 사용되는 용어 "특이적 결합"은 미리 정해진 항원에 결합하는 항체를 의미한다. 일반적으로 항체는 적어도 $1 \times 10^7 M^{-1}$ 의 친화도로 결합하고, 비-특이적 항원(예를 들어, BSA, 카제인)에 대한 결합 친화도보다 적어도 2배 더 큰 친화도로 미리 정해진 항원에 결합한다.
- [0056] 용어 "단일클론 항체" 또는 이의 항원-결합 단편은 단일 항원 결정인자 또는 에피토프의 고도로 특이적인 인식 및 결합에 관여하는 동질 항체 또는 항원-결합 단편 집단을 의미한다. 이는 일반적으로 상이한 항원 결정인자에

대해 지시되는 상이한 항체를 포함하는 다클론 항체와는 대조적이다. 용어 "단일클론 항체" 또는 이의 항원-결합 단편은 온전한 전장의 단일클론 항체, 항체 단편(예를 들어, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 사슬(scFv) 돌연변이, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위를 포함하는 기타 변형된 면역글로불린 분자를 모두 포함한다. 또한, "단일클론 항체" 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마, 파지 선택, 재조합 발현 및 형질전환 동물을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 방식으로 만들어진 이러한 항체 및 항원-결합 단편을 의미한다.

[0057] 본원에서 사용되는 용어 "인간화 항체"는 비-인간 초가변 영역의 아미노산 잔기와 인간 프레임워크 영역(FR)의 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 의미한다. 특히, 인간화 항체는 적어도 하나, 일반적으로 두 개의 가변 도메인의 전부 또는 실질적으로 전부를 포함하는데, 여기서 상보성 결정 영역(CDR)의 전부 또는 실질적으로 전부가 인간 항체의 것이다. 인간화 항체는 임의로 인간 항체에서 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체의 "인간화 형태", 예를 들어 비-인간 항체는 인간화를 거친 항체를 의미한다.

[0058] 본원에서 측면이 "포함하는"이라는 언어로 설명되는 경우, "구성되는" 및/또는 "본질적으로 구성되는"이라는 용어로 설명된 그렇지 않은 유사한 측면도 제공되는 것으로 이해된다.

[0059] 본원에서 사용되는 용어 "투여하는"은 치료제(예를 들어, 항-클라우딘-1 항체 및/또는 면역 체크포인트 억제제의 조합)를 포함하는 조성물을 대상체에게 물리적으로 도입하는 것을 의미하며, 이는 해당 분야의 숙련자에게 알려진 다양한 방법 및 전달 시스템을 사용하여 이루어진다. 투여 경로에는 정맥내, 근육내, 피하, 복강내, 척추 또는 기타 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입이 포함된다. 본원에서 사용되는 "비경구 투여"라는 문구는 일반적으로 장관 및 국소 투여 이외의 주사를 통한 투여 방식을 의미하며, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 림프관내, 병변내, 낭내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 기관내, 피하, 표피하, 관절내, 낭하, 거미막하, 척추내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 그리고 생체내 전기 천공을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 다른 비경구 경로에는 국소, 표피 또는 점막 투여 경로, 예를 들어 비강내, 질내, 직장내, 설하 또는 국소가 포함된다. 투여는 또한 예를 들어 한 번, 여러 번 및/또는 한 번 이상의 장기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0060] 용어 "유효량"은 원하는 생물학적, 치료적 및/또는 예방적 결과를 제공하는 제제의 양을 의미한다. 그 결과는 질병의 징후, 증상 또는 원인 중 하나 이상의 감소, 개선, 경감, 줄임, 지연 및/또는 완화, 또는 생물학적 시스템의 다른 원하는 변화일 수 있다. 고행 종양과 관련하여, 유효량은 종양을 축소하고/하거나 종양의 성장 속도를 감소시키거나(예를 들어, 종양 성장을 억제) 또는 다른 원치 않는 세포 증식을 방지 또는 지연시키기에 충분한 양을 포함한다. 일부 측면에서, 유효량은 종양 발달을 지연시키기에 충분한 양이다. 일부 측면에서, 유효량은 종양 재발을 방지 또는 지연시키기에 충분한 양이다. 유효량은 하나 이상의 투여로 투여될 수 있다. 유효량의 약물 또는 조성물은: (i) 암세포 수를 감소시키고; (ii) 종양 크기를 감소시키고; (iii) 어느 정도 억제, 지연, 늦추고 암세포가 말초 기관으로 침투하는 것을 막을 수 있고; (iv) 억제(즉, 어느 정도 까지 늦추고 종양 전이를 멈출 수 있다); (v) 종양 성장을 억제하고; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 예방 또는 지연하고; 및/또는 (vii) 암과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화할 수 있다. 한 예에서, "유효량"은 항-클라우딘-1 항체의 양과 면역 체크포인트 억제제의 양을 조합하여 임상적으로 진행성 고행 종양과 같은 암의 유의미한 감소 또는 진행 둔화에 영향을 미치는 것으로 입증된 양이다.

[0061] "암"은 신체에서 비정상 세포의 통제되지 않은 성장을 특징으로 하는 다양한 질병의 광범위한 군을 의미한다. 조절되지 않은 세포 분열 및 성장은 주변 조직을 침범하는 악성 종양을 형성하고 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 먼 부분으로 전이될 수도 있다. "암" 또는 "암 조직"에는 종양이 포함될 수 있다.

[0062] 본원에서 사용되는 용어 "종양"은 전-암성 병변을 포함하여, 양성(비-암성) 또는 악성(암성) 세포의 과도한 성장 또는 증식으로 인해 발생하는 임의의 조직 덩어리를 의미한다.

[0063] 본원에서 사용되는 용어 "차가운 종양"은 낮은 수준의 면역 침윤을 보이고, 면역요법에 잘 반응하지 않으며, 및/또는 종양 이질성을 보이는 종양을 의미한다. 이러한 차가운 종양은 종양내 CD8+ T 이펙터 세포의 수 및/또는 활성의 상당한 감소 또는 부재 및/또는 종양내 면역 억제 세포의 수 및/또는 활성의 상당한 증가를 포함하지만 이에 제한되지 않는 특징을 가질 수 있다. 차가운 종양은 "T 세포 배제"가 있는 종양이라고도 한다. 면역 체크포인트 억제제(ICI)에 의한 면역요법은 악성 종양 치료법의 임상 효능을 크게 개선했지만, ICI-매개 항종양 반응은 종양 세포를 인식하고 죽일 수 있는 T 세포의 침윤에 의존한다. 따라서 ICI는 T세포 침윤이 부족한 "차가운 종양"에는 효과적이지 않을 수 있다.

[0064] 용어 "클라우딘-1의 높은 발현"은 클라우딘-1을 발현하는 것으로 점수화된 테스트 조직 샘플에서 세포의 비율을

의미한다. 일부 측면에서, 클라우딘-1 발현은 면역조직화학(IHC)에 의해 검정되며, 여기서 샘플의 클라우딘-1의 높은 발현은 테스트 샘플의 전체 세포 수의 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 100%가 클라우딘-1을 발현한다는 것을 의미한다.

[0065] 본원에서 사용되는 "환자"에는 암(예를 들어, 섬유성 암)을 앓고 있는 임의의 환자가 포함된다. 용어 "대상체"와 "환자"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0066] **II. 항-클라우딘-1 항체**

[0067] 본 발명은 섬유성 종양이 있는 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키고, 고형 종양이 있는 대상체에서 암을 치료하고, 섬유성 종양이 있는 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키기 위한 항-클라우딘-1 항체의 사용에 관한 것이다.

[0068] 인간 클라우딘-1에 대한 항체는 이전에 간염 C 바이러스 감염, 간세포암 및 폐 섬유증과 같은 특정 섬유성 질환을 치료하기 위해 기술되었다(WO 2010/034812, WO 2016/146809 및 WO 2021/094469 참조). 본 발명의 실시예에 사용될 수 있는 항-클라우딘-1 항체에는 클라우딘-1에 대해 생성된 임의의 항체가 포함된다. 예는 WO 2010/034812 및 WO 2017/162678에 개시되어 있다.

[0069] 적합한 항-클라우딘-1 항체의 다른 예로는 유럽 특허 EP 1 167 389, 미국 특허 6,627,439, WO 2014/132307호로 공개된 국제 특허 출원, WO 2015/014659 및 WO 2015/014357호로 공개된 국제 특허 출원, Yamashita *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2015, 353(1): 112-118에 개시된 항체가 포함된다.

[0070] 본 발명에서 사용하기에 적합한 항-클라우딘-1 항체는 다클론 항체 또는 단일클론 항체일 수 있다.

[0071] 본 발명에 따라 사용하기에 적합한 항-클라우딘-1 항체는 또한 "인간화"될 수 있다: 설치류 항체와 인간 서열 간의 서열 차이는 인간 서열의 서열과 다른 잔기를 개별 잔기의 부위-지향 돌연변이생성 또는 전체 영역의 이식 또는 화학적 합성을 통해 대체함으로써 최소화될 수 있다. 인간화 항체는 또한 재조합 방법을 사용하여 생산될 수 있다. 항체의 인간화 형태에서 CDR 영역 외부의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산은 인간 면역글로불린 분자의 아미노산으로 대체되는 반면, 하나 이상의 CDR 영역 내의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산은 변하지 않는다. 결과적인 항체의 생물학적 활성을 유의미하게 변경하지 않는 한 아미노산의 작은 첨가, 삭제, 삽입, 치환 또는 변형은 허용된다. 적합한 인간 "대체" 면역글로불린 분자에는 IgG1, IgG2, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgD 또는 IgE 분자 및 그 단편이 포함된다.

[0072] 일부 측면에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 인간화된 항-클라우딘-1 항체는 이전에 WO 2017/162678에서 기술된 것이다. 본원에 제공된 항체 또는 항원 결합 단편에 대한 예시적인 서열은 표 1에 기술되어 있다.

[0073]

표 1 - 항체 또는 항원 결합 단편

설명	서열	서열번호:
H1L1 - 중쇄 #1	EVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CAASGFSFSSYGMNWVRQAPGKGLEWVS} SISPSG ^{SYFYADSVKGRFTISRDN} AKNSLYLQ ^{MNSLRAEDTAVYYCARLPG} FNPPFDHWGQ ^{GTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF} PEPVT ^{SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV} TVPS ^{SSLGTQTYICNV} NHKPSNT ^{KVKDRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI} SRTPEV ^{TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV} VSVLTVL ^{HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPP} SREEMTK ^{NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS} FFLYSK ^{LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG}	1
H1L1 - 경쇄	DIQMTQSPATLSVSPGERATL ^{SCKASQNVGGNVDWYQWKPGQAPRLIY} GASNRYT ^{GIPARFRGSGSGTEFTLTISLSQSEDAVYYCLQYKNNPWTFGQ} GTKVEIK ^{RVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD} NALQSG ^{NSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS} SPVTKS ^{FNRGEC}	2
H1L1 - VH	EVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CAASGFSFSSYGMN} WVRQAPGK ^{GLEWVSSISPSG} SYFYADSVKGRFTI SRDN ^{AKNSLYLQ} MNSLRAEDTAVYYCARLPGFNP PFDHWGQ ^{GTLVTVSS}	3
H1L1 - VL	DIQMTQSPATLSVSPGERATL ^{SCKASQNVGGNVD} WYQWKPGQ ^{APRLIYGASNRYT} GIPARFRGSGSG TEFTLTIS ^{LSQSEDAVYYCLQYKNNPWTFGQGT} KVEIK	4
H1L1/H3L3 - CDR H1	GFSFSSYG	5

[0074]

H1L1/H3L3 - CDR H2	ISPSGSYF	6
H1L1/H3L3 - CDR H3	ARLPGFNPPFDH	7
H1L1/H3L3 - CDR L1	QNVGGN	8
H1L1/H3L3 - CDR L2	GA	-
H1L1/H3L3 - CDR L3	LQYKNNPWT	10
H3L3 - 중쇄	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCLGSGFSFSSYGMNWVRQA PGKGLEWVASISPSGSYFYYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMTSLRAEDTAIYYCARLPGFNPPFDHWGQGLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	11
H3L3- 경쇄	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVGGNVDWYQWKP GKAPKLLIYGASNRYTGVPDRFRGSGSGTDFLTISLQP EDVATYYCLQYKNNPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	12
H3L3 - VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCLGSGFSFSSYGM NWVRQAPGKGLEWVASISPSGSYFYYADSVKGR	13

[0075]

	FTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAIYYCARLPG FNPPFDHWGQGLTVTVSS	
H3L3 - VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVGGNV DWYQWKPGKAPKLLIYGASNRYTGVPDRFRGS GSGTDFLTITSSLPEDVATYYCLQYKNNPWTF GGGTKVEIK	14
H1L1 - 중쇄 #2	EVQLVESGGGLVKGPGSLRSLSCAASGFSSYGMNWVRQAPGKLEWVVS SISPSGYSFYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLPG FNPPFDHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	21

[0076]

[0077]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) H1, 서열번호: 6에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR H2, 및 서열번호: 7에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR H3을 포함한다.

[0078]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 8에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) L1, 아미노산 서열 "Gly Ala"를 포함하는 CDR L2, 및 서열번호: 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 CDR L3을 포함한다.

[0079]

일부 측면에서, 본원에 개시된 상보성 결정 영역(CDR)은 IMGT[®]에 따라 정의된다. 그러나, 당해 기술 분야에서 CDR을 정의하는 다른 방법도 사용할 수 있다는 것이 인식된다.

[0080]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체의 6개의 상보성 결정 영역(CDR)은 2008년 7월 29일에 DSMZ에 수탁 번호 DSM ACC2938로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 분비되는 항-클라우드인-1 단일클론 항체의 것과 동일하다.

[0081]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 3 또는 13으로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역("VH")을 포함한다.

[0082]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 4 또는 14로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역("VL")을 포함한다.

[0083]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체의 중쇄 가변 영역("VH") 및 경쇄 가변 영역("VL")은 2008년 7월 29일에 DSMZ에 수탁 번호 DSM ACC2938로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 분비된 항-클라우드인-1 단일클론 항체의 것과 동일하다.

[0084]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체의 중쇄 및 경쇄는 2008년 7월 29일에 DSMZ에 수탁 번호 DSM ACC2938로 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 분비된 항-클라우드인-1 단일클론 항체의 중쇄 및 경쇄와 동일하다.

[0085]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 1로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열을 포함한다.

[0086]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 2로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함한다.

[0087]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 1, 서열번호: 11 또는 서열번호: 21로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 서열을 포함한다.

[0088]

일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체는 서열번호: 2 또는 서열번호: 12로 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 서열을 포함한다.

[0089]

인간화된 항-클라우드인-1 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 구성된 군에서 선택된 동위원소를 갖는 완전한 단

일클론 항체일 수 있다. 대안적으로, 인간화된 항-클라우딘-1 항체는 Fv, Fab, F(ab')₂, Fab', dsFv, scFv, sc(Fv)₂ 및 디아바디로 구성된 군에서 선택된 단일클론 항체의 단편일 수 있다.

[0090] 본 발명에 따라 사용하기에 적합한 항-클라우딘-1 항체(또는 생물학적으로 활성인 변이체 또는 단편)는 하나 이상의 다른 분자 엔티티에 기능적으로 연결될 수 있다(예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비-공유 결합 또는 기타). 이러한 변형된 항체(또는 접합된 항체)를 제조하는 방법은 당해 기술 분야에 알려져 있다(예를 들어, "Affinity Techniques. Enzyme Purification: Part B", Methods in Enzymol., 1974, Vol. 34, Jakoby 및 Wilneck (Eds.), Academic Press: New York, NY; 및 Wilchek 및 Bayer, Anal. Biochem., 1988, 171: 1-32. 참조). 바람직하게는, 분자 엔티티는 항체 분자에서 생성된 접합체의 결합 특성을 방해하지 않는 위치, 예를 들어 항체가 표적에 특이적으로 결합하는 데 참여하지 않는 위치에 부착된다.

[0091] 항체 분자와 분자 엔티티는 공유 결합으로 서로 직접 연결될 수 있다. 또는, 대안적으로, 항체 분자와 분자 엔티티는 링커 기를 통해 서로 공유 결합으로 연결될 수 있다. 이는 동종기능성 및 이종기능성 링커를 포함하여 해당 기술 분야에서 잘 알려진 다양한 안정한 이종기능성 제제를 사용하여 달성할 수 있다.

[0092] 일부 측면에서, 본 발명에 따라 사용하기 위한 항-클라우딘-1 항체(또는 이의 생물학적으로 활성인 단편)는 검출 가능한 제제에 접합된다. 다양한 리간드, 방사성 핵종(예를 들어, ³H, ¹²⁵I, ¹³¹I 등), 형광 염료(예를 들어, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 피코에리트린, 피코시아닌, 알로피코시아닌, o-프탈알데히드 및 플루오레스카민), 화학 발광제(예를 들어, 루시페린, 루시페라제 및 에퀴린), 미세입자(예를 들어, 양자점, 나노 결정, 인광체 등), 효소(예를 들어, ELISA에서 사용되는 효소, 즉 호스라디시 퍼옥시다제, 베타-갈락토시다제, 루시페라제, 알칼리성 포스파타제), 비색 표지, 자기 표지 및 바이오틴, 디옥시게닌 또는 항혈청에 대한 기타 헵텐 및 단백질을 포함하지만 이에 제한되지 않는 광범위한 검출 가능한 제제를 사용할 수 있고, 또는 단일클론 항체를 사용할 수도 있다.

[0093] 본 발명의 항-클라우딘-1 항체(또는 그 생물학적으로 활성인 단편)에 접합될 수 있는 다른 분자 엔티티는 선형 또는 분지형 친수성 중합체 기, 지방산 기 또는 지방 에스테르 기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0094] 따라서, 본 발명의 실시에서, 항-클라우딘-1 항체는 전장 항체, 생물학적으로 활성인 변이체 또는 단편, 키메라 항체, 인간화 항체 및 항-클라우딘-1 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 중 하나로부터 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 항체-유래 분자의 형태로 사용될 수 있으며, 여기에는 Fab 단편, F(ab')₂ 단편, Fd 단편, Fabc 단편, Sc 항체(단일 사슬 항체), 디아바디, 개별 항체 경쇄 단일 사슬, 개별 항체 중쇄, 항체 사슬과 다른 분자 간의 키메라 융합, 및 항체 접합체, 예를 들어 치료제 또는 검출가능한 제제에 접합된 항체가 포함된다. 바람직하게는, 본 발명에 따른 항-클라우딘-1 항체 관련 분자는 항체의 항원, 특히 클라우딘-1의 세포외 도메인에 결합하는 능력을 유지한다.

[0095] **III. 키메라 항원 수용체**

[0096] 키메라 항원 수용체(CAR) T 세포 치료법 또는 CAR T-세포 치료법은 종양 항원에 결합하는 합성 수용체를 발현하도록 유전자 조작된 T 세포를 사용하는 암 치료법이다. 조작된 CAR T 세포는 시험관내에서 확장되어 환자의 신체에 주입되어 화학 요법에 내성이 있는 암을 공격하고 파괴한다.

[0097] 용어 "키메라 항원 수용체"(CAR)는 표적 세포에 존재하는 구성 요소, 예를 들어 원하는 항원(예를 들어, CLDN-1 과 같은 종양 항원)에 대한 항체-기반 특이성에 대한 결합 도메인을 T 세포 수용체-활성화 세포내 도메인과 결합하여 특정 항-표적 세포 면역 활성을 나타내는 키메라 단백질을 생성하는 분자를 의미한다.

[0098] 본원에서 사용되는 CAR의 "신호변환 도메인" 또는 "신호전달 도메인"은 세포의 리간드 결합 도메인이 표적에 결합한 후 세포내 신호전달을 담당하여 면역 세포와 면역 반응을 활성화한다. 다시 말해, 신호변환 도메인은 CAR 이 발현되는 면역 세포의 정상적인 이펙터 기능 중 적어도 하나를 활성화하는 데 책임이 있다. 예를 들어, T 세포의 이펙터 기능은 사이토카인 분비를 포함한 세포 용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다. 따라서 "신호변환 도메인"이라는 용어는 이펙터 기능 신호를 변환하고 세포가 특수 기능을 수행하도록 지시하는 단백질의 부분을 의미한다. CAR에서 사용하기 위한 신호변환 도메인의 예로는 항원 수용체 결합 후 신호 변환을 개시하기 위해 협력하여 작용하는 T 세포 수용체 및 보조 수용체의 세포질 서열, 이러한 서열의 임의의 파생물 또는 변이체 및 동일한 기능적 능력을 갖는 임의의 합성 서열이 있다. 일부 경우, 신호전달 도메인은 항원-의존적 1차 활성화를 개시하는 것과 항원-독립적 방식으로 작용하여 2차 또는 공동자극 신호를 제공하는 것의 두 가지 별개의 세포질 신호전달 서열 부류를 포함한다. 1차 세포질 신호전달 서열은 ITAM의 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프로

알려진 신호전달 모티프를 포함할 수 있다. ITAM은 syk/zap70 부류 티로신 키나제의 결합 부위 역할을 하는 다양한 수용체의 세포질내 꼬리에서 발견되는 잘 정의된 신호전달 모티프이다. 대표적인 ITAM에는 TCR제타, FcR감마, FcR베타, FcR엡실론, CD3감마, CD3델타, CD3엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d에서 유래된 것이 포함된다. 일부 측면에서, CAR의 신호 변환 도메인은 CD3제타 신호전달 도메인(서열번호: 15)을 포함할 수 있다.

[0099] CAR은 단일 융합 분자에서 하나 이상의 신호전달 도메인과 연관된 표적화 모이어티로 구성된 합성 수용체이다. 일반적으로, CAR의 결합 모이어티는 단일-사슬 항체(scFv)의 항원-결합 도메인으로 구성되며, 이는 가요성 링커로 연결된 단일클론 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 단편을 포함한다. 이 분자는 T 세포 활성화를 매개하는 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 분자에 결합된다. 1세대 CAR의 신호전달 도메인은 CD3제타 또는 Fc 수용체 감마 사슬(또는 다른 면역 수용체 티로신 기반 활성화 모티프[ITAM] 함유 단백질의 세포내 신호전달 도메인)의 세포질 영역에서 유래한다. 1세대 CAR은 T-세포 세포독성을 성공적으로 재지시하는 것으로 나타났다. 그러나 생체내에서 장기간 확장 및 항종양 활성을 제공하지 못했다. 공동자극 분자의 신호전달 도메인과 막횡단 및 힌지 도메인이 첨가되어 2세대, 3세대 및 4세대 CAR이 형성되었다. 2세대 키메라 수용체는 또한 공동자극 엔도도메인(예를 들어, 4-1BB/CD3 ζ)을 통합한다. 3세대 CAR은 여러 공동자극 신호전달 모듈을 포함한다. 4세대 CAR은 2세대 구성물의 기저부에 IL-12를 첨가하여 생성되었으며, T 세포가 보편적 사이토카인-매개 살상을 위해 재지시된 것(TRUCK)으로 알려져 있다. TRUCK은 T 세포 활성화를 증가시키고 선천 면역 세포를 활성화하고 유인하여 표적 병변에서 항원-음성 암 세포를 제거한다. CAR T 세포 치료법을 사용한 인간에서의 치료 시험은 어느 정도 성공적이었다. 예를 들어, B 세포 분화 항원 CD19에 특이적인 CAR 재지시된 T 세포는 B 세포 악성 종양의 치료에 극적인 효능을 보인 반면, TCR-재지시된 T 세포는 고형 암을 앓고 있는 환자에게 이점이 있는 것으로 나타났다. Stauss et al.은, 예를 들어 항원-특이적 이펙터 기능을 향상시키고 조작된 T 세포의 독성을 제한하기 위한 암 치료에 사용하기 위한 치료용 CAR 및 TCR을 변경하는 전략을 기술한다(Current Opinion in Pharmacology 2015, 24:113-118).

[0100] 본 발명의 일부 측면에서는 암 세포 표면에 발현되는 클라우딘-1에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함한다. 본 발명의 일부 측면에서, 본원에 기술된 CAR은 세포외 표적-특이적 결합 도메인, 막횡단 도메인, 세포내 신호전달 도메인(예를 들어, CD3제타 또는 FcR감마에서 유래된 신호전달 도메인), 및/또는 4-1BB와 같은 공동자극 분자에서 유래된 하나 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 측면에서, CAR은 세포외 결합 도메인과 막횡단 도메인 사이에 CD8알파 힌지와 같은 힌지 또는 스페이스 영역을 포함한다. 일부 측면에서, 키메라 항원 수용체(CAR)는 세포외 표적-특이적 결합 도메인을 포함하는데, 이는 항-클라우딘 단일 사슬 항체(scFv)이며, 무린, 인간 또는 인간화 scFv일 수 있다. 단일 사슬 항체는 원하는 표적에 특이적인 하이브리도마의 V 영역 유전자에서 클로닝될 수 있다. 가변 영역 중쇄(VH) 및 가변 영역 경쇄(VL)를 클로닝하는 데 사용할 수 있는 기술은, 예를 들어 Orlandi et al., PNAS, 1989; 86: 3833-3837에 기술되어 있다. 따라서 일부 측면에서 결합 도메인은 항체-유래 결합 도메인을 포함하지만 비-항체 유래 결합 도메인일 수 있다. 항체-유래 결합 도메인은 항체의 단편이거나 항체의 한 개 이상의 단편으로 구성된 유전자 조작된 생성물일 수 있으며, 이 단편은 항원과의 결합에 관여한다.

[0101] 일부 측면에서, 본 발명의 CAR은 분자의 적절한 간격 및 형태를 위해 첨가된 다양한 도메인 사이에 링커를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 측면에서, 결합 도메인 VH 또는 VL 사이에 1-10개 아미노산 길이일 수 있는 링커가 있을 수 있다. 일부 측면에서, 키메라 항원 수용체의 임의의 도메인 사이의 링커는 1-20개 또는 20개 아미노산 길이일 수 있다. 이와 관련하여, 링커는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 아미노산 길이일 수 있다. 일부 측면에서, 링커는 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개 아미노산 길이일 수 있다. 본원에 기술된 숫자를 포함하는 범위, 예를 들어, 10-30개 아미노산 길이의 링커도 본원에 포함된다.

[0102] 일부 측면에서, 본원에 기술된 CAR에서 사용하기에 적합한 링커는 가요성 링커이다. 적합한 링커는 쉽게 선택할 수 있으며, 1개 아미노산(예를 들어, Gly)에서 20개 아미노산, 2개 아미노산에서 15개 아미노산, 3개 아미노산에서 12개 아미노산, 4개 아미노산에서 10개 아미노산, 5개 아미노산에서 9개 아미노산, 6개 아미노산에서 8개 아미노산, 또는 7개 아미노산에서 8개 아미노산 포함하여 다양한 길이의 적합한 링커 중 하나일 수 있으며, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개 아미노산일 수 있다.

[0103] 예시적인 가요성 링커에는 글리신 중합체(G)_n, 여기서 n은 적어도 1의 정수임, 글리신-세린 중합체, 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체 및 당해 기술 분야에 공지된 기타 가요성 링커가 포함된다. 글리신 및 글리신-세린 중합체는 비교적 구조화되지 않아, 본원에 기술된 CAR과 같은 융합 단백질의 도메인 사이의 중성 고정 장

치 역할을 할 수 있다. 글리신은 알라닌보다 훨씬 더 많은 파이-사이(phi-psi) 공간에 접근하며, 더 긴 측쇄를 가진 잔기보다 훨씬 덜 제한적이다(Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142(1992) 참조). 일반적으로 숙련된 기술자는 CAR의 설계가 모두 또는 부분적으로 가요성 링커를 포함할 수 있으므로, 링커는 가요성 링커와 원하는 CAR 구조를 제공하기 위해 덜 가요성 구조를 부여하는 하나 이상의 부분을 포함할 수 있음을 인식할 것이다. 특정 링커에는 (G4S)_n 링커가 포함되며, 여기서 n=1-3이다. 일부 측면에서, 링커는 서열번호: 16 또는 서열번호: 17의 아미노산 서열을 포함한다.

[0104] CAR의 결합 도메인 뒤에는 "스페이서" 또는 "힌지"가 올 수 있는데, 이는 항원 결합 도메인을 이펙터 세포 표면에서 멀리 옮겨 적절한 세포/세포 접촉, 항원 결합 및 활성화를 가능하게 하는 영역을 의미한다(Patel et al., Gene Therapy, 1999; 6: 412-419). CAR의 힌지 영역은 일반적으로 막횡단(TM)과 결합 도메인 사이에 있다. 일부 측면에서, 힌지 영역은 면역글로불린 힌지 영역이며 야생형 면역글로불린 힌지 영역 또는 변경된 야생형 면역글로불린 힌지 영역일 수 있다. 본원에 기술된 CAR에서 사용되는 다른 예시적인 힌지 영역에는 CD8알파, CD4, CD28 및 CD7과 같은 1형 막 단백질의 세포외 영역에서 유래된 힌지 영역이 포함되며, 이는 이러한 분자의 야생형 힌지 영역일 수도 있고 변경될 수도 있다. 일부 측면에서, 힌지 영역은 CD8알파 힌지(서열번호: 18)를 포함한다.

[0105] "막횡단" 영역 또는 도메인은 면역 이펙터 세포의 세포막에 세포의 결합 부분을 고정하고 결합 도메인이 표적 항원에 결합하는 것을 용이하게 하는 CAR의 일부이다. 막횡단 도메인은 CD3제타 막횡단 도메인일 수 있지만, 사용될 수 있는 다른 막횡단 도메인에는 CD8알파, CD4, CD28, CD45, CD9, CD16, CD22, CD33, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 및 CD154에서 수득한 것이 포함된다. 일부 측면에서 막횡단 도메인은 CD137의 막횡단 도메인이다. 일부 측면에서 막횡단 도메인은 서열번호: 19의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서 막횡단 도메인은 합성이며, 이 경우 주로 류신 및 발린과 같은 소수성 잔기를 포함한다.

[0106] "세포내 신호전달 도메인" 또는 "신호전달 도메인"은 표적 항원에 대한 효과적인 CAR 결합 메시지를 면역 이펙터 세포 내부로 변환하여 이펙터 세포 기능, 예를 들어 CAR 결합된 표적 세포로의 세포독성 인자 방출 또는 항원이 세포의 CAR 도메인에 결합되어 유발되는 기타 세포 반응을 포함하여 활성화, 사이토카인 생성, 증식 및 세포독성 활성을 유발하는 데 참여하는 키메라 항원 수용체 단백질의 일부를 의미한다. 용어 "이펙터 기능"은 세포의 특수 기능을 의미한다. 예를 들어, T 세포의 이펙터 기능은 세포 용해 활성 또는 사이토카인 분비를 포함한 활성 또는 도움일 수 있다. 따라서, 본원에서 상호교환적으로 사용되는 용어 "세포내 신호전달 도메인" 또는 "신호전달 도메인"은 이펙터 기능 신호를 변환하고 세포가 특수 기능을 수행하도록 지시하는 단백질의 일부를 의미한다. 일반적으로 세포내 신호전달 도메인 전체를 사용할 수 있지만, 많은 경우 전체 도메인을 사용할 필요는 없다. 세포내 신호전달 도메인의 잘린 부분을 사용하는 한, 이러한 잘린 부분은 이펙터 기능 신호를 변환하는 한 전체 도메인 대신에 사용할 수 있다. 세포내 신호전달 도메인이라는 용어는 이펙터 기능 신호를 변환하기에 충분한 세포내 신호전달 도메인의 잘린 부분을 포함하는 것을 의미한다. 세포내 신호전달 도메인은 "신호 변환 도메인"으로도 알려져 있으며, 일반적으로 인간 CD3 또는 FcRγ 사슬의 일부에서 유래한다.

[0107] T 세포 수용체를 통해서만 생성된 신호는 T 세포를 완전히 활성화하기에 충분하지 않으며, 2차 또는 공동자극 신호도 필요하다는 것이 알려져 있다. 따라서 T 세포 활성화는 두 가지 별개의 세포질 신호전달 서열에 의해 매개된다고 할 수 있다: T 세포 수용체를 통해 항원 의존적 일차 활성화를 개시하는 것(일차 세포질 신호전달 서열) 및 항원 독립적 방식으로 작용하여 이차 또는 공동자극 신호를 제공하는 것(이차 세포질 신호전달 서열). 공동자극 방식으로 작용하는 세포질 신호전달 서열은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 또는 ITAM으로 알려진 신호전달 모티프를 함유할 수 있다.

[0108] 본 발명에 특히 유용한 일차 세포질 신호전달 서열을 함유하는 ITAM의 예는 TCR제타, FcR감마, FcR베타, CD3감마, CD3델타, CD3엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b 및 CD66d에서 유래된 것을 포함한다. 일부 측면에서, 본원에서 기술하는 항-BCMA CAR의 세포내 신호전달 도메인은 CD3제타에서 유래된다. 일부 측면에서, 신호전달 도메인은 서열번호: 15의 아미노산 서열을 포함한다.

[0109] 본원에서 사용되는 용어 "공동자극 신호전달 도메인" 또는 "공동자극 도메인"은 공동자극 분자의 세포내 도메인을 포함하는 CAR의 부분을 의미한다. 공동자극 분자는 항원 수용체 또는 Fc 수용체가 아닌 세포 표면 분자로, 항원에 결합 시 T 림프구의 효율적인 활성화 및 기능에 필요한 두 번째 신호를 제공한다. 이러한 공동자극 분자의 예로는 CD27, CD28, 4-1BB(CD137), OX40(CD134), CD30, CD40, PD-1, ICOS(CD278), LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKD2C, B7-H2 및 CD83에 특이적으로 결합하는 리간드가 있다. 따라서 본 개시내용은 CD3제타 및 4-1BB에서 유래한 예시적인 공동자극 도메인을 제공하지만, 다른 공동자극 도메인은 본원에서 기술하는 CAR과 함께 사

용하기 위해 고려된다. 하나 이상의 공동자극 신호전달 도메인을 포함하면 CAR 수용체를 발현하는 T 세포의 효능과 확장을 향상시킬 수 있다. 세포내 신호전달 및 공동자극 신호전달 도메인은 막횡단 도메인의 카복실 말단에 임의의 순서로 함께 연결될 수 있다. 일부 측면에서 공동자극 도메인은 서열번호: 20의 아미노산 서열을 포함한다.

[0110] 일부 측면에서 본 개시내용의 항-클라우딘-1 CAR은 표 2의 임의의 요소를 포함한다.

[0111] 표 2 - CAR 요소

설명	서열	서열번호:
CD3 제타 신호전달 도메인	RVKFSRSADAPAYKQGQNLQYLNELNLGRREEYDVLDRRGRDPPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR	15
(G4s) 링커 1	GGGGSGGGSGGGGS	16
링커 2	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	17
CD8 알파 힌지	TTTTAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGL DFACD	18
TM 도메인	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVI TLYC	19
공동자극 도메인	KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC EL	20

[0112]

[0113] CD3 또는 FcR감마로부터의 신호전달 도메인을 함유하도록 조작된 scFv-기반 CAR은 T 세포 활성화 및 이펙터 기능을 위한 강력한 신호를 전달하는 것으로 나타났지만, 수반되는 공동자극 신호가 없는 경우 T 세포 생존 및 확장을 증진하는 신호를 이끌어내기에 충분하지 않다. 하나 이상의 공동자극 신호전달 도메인(예를 들어, CD28, CD137, CD134 및 CD278에서 유래한 세포내 공동자극 도메인)과 함께 결합 도메인, 힌지, 막횡단 및 CD3제타 또는 FcR감마에서 유래한 신호전달 도메인을 함유하는 다른 CAR은 시험관내 및 동물 모델과 암 환자에서 CAR을 발현하는 T 세포에서 항종양 활성뿐만 아니라 증가된 사이토카인 분비, 용해 활성, 생존 및 증식을 보다 효과적으로 지지할 수 있다(Milone et al., Molecular Therapy, 2009; 17: 1453-1464; Zhong et al., Molecular Therapy, 2010; 18: 413-420; Carpenito et al., PNAS, 2009; 106:3360-3365).

[0114] 일부 측면에서, 본 발명의 항-클라우딘-1 CAR은 (a) 항-클라우딘-1 결합 도메인(예를 들어, 표 1에 식별된 하나 이상의 서열에서 결합 영역(예를 들어, CDR 또는 가변 도메인)을 갖는 scFv), (b) 인간 CD8알파에서 유래된 힌지 영역, (c) 인간 CD8알파 막횡단 도메인, 및 (d) 인간 T 세포 수용체 CD3 제타 사슬(CD3) 세포내 신호전달 도메인, 및 임의로 하나 이상의 공동자극 신호전달 도메인, 예를 들어, 4-1BB를 포함한다. 일부 측면에서, 상이한 단백질 도메인은 아미노에서 카복실 말단까지 다음 순서로 배열된다: 항-클라우딘-1 결합 도메인, 힌지 영역 및 막횡단 도메인. 세포내 신호전달 도메인과 임의의 공동자극 신호전달 도메인은 단일 사슬 키메라 폴리펩타이드를 형성하기 위해 임의의 순서로 함께 막횡단 카복시 말단에 연결된다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 CAR을 코딩하는 핵산 구성물은 상이한 코딩 서열, 예를 들어, (5'에서 3') 항-클라우딘-1 scFv, 인간 CD8알파 힌지, 인간 CD8알파 막횡단 도메인 및 CD3제타 세포내 신호전달 도메인의 코딩 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 키메라 핵산 분자이다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 CAR을 코딩하는 핵산 구성물은, 예를 들어 (5'에서 3') 항-클라우딘-1 scFv, 인간 CD8알파 힌지, 인간 CD8알파 막횡단 도메인, 4-1BB 공동자극 도메인 및 CD3제타 공동자극 도메인의 코딩 서열과 같이 상이한 코딩 서열을 포함하는 핵산 분자를 포함하는 키메라 핵산 분자이다.

[0115] 일부 측면에서, 본원에서 기술하는 CAR을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 벡터에 삽입된다. 항-클라우딘-1 CAR의 발현을 위해, 벡터는 숙주 세포에 도입되어 숙주 세포내에서 폴리펩타이드를 발현할 수 있다. 발현 벡터는 프로모터 서열, 전사 개시 서열, 인핸서 서열, 선택가능한 마커 및 신호 서열을 포함하되 이에 제한되지 않는 발현을 제어하기 위한 다양한 요소를 함유할 수 있다. 이러한 요소는 상기 기술한 바와 같이 해당 분야의 통상의 기술자가 적절하게 선택할 수 있다. 예를 들어, 프로모터 서열은 벡터에서 폴리뉴클레오타이드의 전사를 증진하도록 선택될 수 있다. 적합한 프로모터 서열에는 제한 없이 T7 프로모터, T3 프로모터, SP6 프로모터, 베타-액틴 프로모터, EF1a 프로모터, CMV 프로모터 및 SV40 프로모터가 포함된다. 인핸서 서열은 폴리뉴클레오타이드

드의 전사를 향상하도록 선택될 수 있다. 선택가능한 마커는 벡터와 함께 삽입된 숙주 세포와 그렇지 않은 숙주 세포를 선택할 수 있도록 선택될 수 있으며, 예를 들어 선택가능한 마커는 항생제 내성을 부여하는 유전자일 수 있다. 신호 서열은 발현된 폴리펩타이드가 숙주 세포의 외부로 수송되도록 선택될 수 있다.

[0116] 본 발명의 CAR은 당업계에 알려진 형질감염 및/또는 형질도입 기술을 사용하여 숙주 세포에 도입된다. 본원에서 사용되는 용어 "형질감염" 및 "형질도입"은 외인성 핵산 서열이 숙주 세포에 도입되는 과정을 의미한다. 핵산은 숙주 세포 DNA에 통합되거나 염색체 외에서 유지될 수 있다. 핵산은 일시적으로 유지되거나 안정된 도입일 수 있다. 형질감염은 인산칼슘-DNA 공침전, DEAE-텍스트란-매개 형질감염, 폴리브렌-매개 형질감염, 전기천공, 미세주입, 리포솜 용합, 리포펙션, 원형질 용합, 레트로바이러스 감염 및 바이오리스틱스를 포함하지만 이에 제한되지 않는 당업계에 알려진 다양한 수단에 의해 달성될 수 있다. 형질도입은 형질감염이 아닌 바이러스 감염을 통해 바이러스 또는 레트로바이러스 벡터를 사용하여 유전자(들)를 전달하는 것을 의미한다.

[0117] 본원에서 사용되는 용어 "유전자 조작" 또는 "유전자 변형"은 세포의 전체 유전 물질에 DNA 또는 RNA 형태의 추가 유전 물질을 첨가하는 것을 의미한다. 용어 "유전자 변형 세포", "변형 세포" 및 "제지정 세포"는 상호교환적으로 사용된다.

[0118] 일부 측면에서, 본 발명의 CAR은 면역 이펙터 세포에 도입되어 발현되어 관심 있는 표적 항원, 예를 들어 클라우딘-1에 대한 특이성을 제지정한다.

[0119] 본 발명은 본원에서 기술하는 바와 같이 CAR을 발현하는 면역 이펙터 세포를 제조하는 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 이 방법은 클라우딘-1을 발현하는 종양 세포를 갖는 대상체과 같은 대상체로부터 단리된 면역 이펙터 세포를 형질감염 또는 형질도입하여 면역 이펙터 세포가 본원에서 기술하는 바와 같이 하나 이상의 CAR을 발현하도록 하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 면역 이펙터 세포는 개체로부터 단리되고 시험관내에서 추가 조작 없이 유전적으로 변형된다. 그런 다음 이러한 세포는 개체에게 직접 재투여될 수 있다. 일부 측면에서, 면역 이펙터 세포는 CAR을 발현하도록 유전적으로 변형되기 전에 시험관내에서 증식하도록 먼저 활성화되고 자극된다. 이와 관련하여, 면역 이펙터 세포는 유전적으로 변형되기 전 또는 후에 배양될 수 있다(즉, 본원에서 기술된 바와 같이 CAR을 발현하도록 형질도입 또는 형질감염된다).

[0120] 본원에서 기술된 면역 이펙터 세포의 시험관내 조작 또는 유전적 변형 전에, 세포의 공급원은 대상체로부터 수득할 수 있다. 일부 측면에서, 본원에서 기술된 바와 같이 CAR과 함께 사용하기 위한 면역 이펙터 세포는 T 세포를 포함한다. T 세포는 말초 혈액 단핵구, 골수, 림프절 조직, 체대혈, 흉선 조직, 감염 부위의 조직, 복수, 흉막 삼출액, 비장 조직 및 종양을 포함하는 여러 공급원으로부터 수득할 수 있다. 일부 측면에서, T 세포는 FICOLL 분리와 같이 숙련자에게 알려진 수많은 기술을 사용하여 대상체로부터 수집한 혈액 단위에서 수득할 수 있다. 일부 측면에서, 개체의 순환 혈액으로부터의 세포는 체외채혈에 의해 수득된다. 체외채혈 생성물은 일반적으로 T 세포, 단핵구, 과립구, B 세포, 기타 핵이 있는 백혈구, 적혈구 및 혈소판을 포함한 림프구를 함유한다. 일부 측면에서, 체외채혈에 의해 수집된 세포는 혈장 분획을 제거하고 후속 처리를 위해 세포를 적절한 완충액 또는 배지에 넣기 위해 세척될 수 있다. 일부 측면에서, 세포는 PBS로 세척된다. 일부 측면에서, 세척된 용액에는 칼슘이 없고, 마그네슘이 없거나, 전부는 아닐지라도 많은 2가 양이온이 없을 수 있다. 해당 분야의 통상의 기술자가 이해할 수 있듯이, 세척 단계는 반자동 유동 원심분리기를 사용하는 것과 같이 해당 분야의 기술자에게 알려진 방법에 의해 달성될 수 있다. 세척 후, 세포는 다양한 생체적합성 완충액 또는 완충액이 있거나 없는 다른 식염수 용액에 재현탁될 수 있다. 일부 측면에서, 체외채혈 샘플의 바람직하지 않은 성분은 세포 직접 재현탁 배양 배지에서 제거될 수 있다.

[0121] 일부 측면에서, T 세포는 적혈구를 용해하고 단핵구를 고갈시켜 말초 혈액 단핵구(PBMC)에서 단리하는데, 예를 들어 PERCOLL™ 구배를 통한 원심분리에 의해 단리된다. CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+, 및 CD45RO+ T 세포와 같은 T 세포의 특정 하위 집단은 양성 또는 음성 선택 기술에 의해 추가로 단리될 수 있다. 예를 들어, 음성 선택에 의한 T 세포 집단의 농축은 음성으로 선택된 세포에 고유한 표면 마커에 대한 항체의 조합으로 달성될 수 있다. 본원에서 사용하기 위한 한 가지 방법은 음성 자기 면역접착 또는 음성으로 선택된 세포에 존재하는 세포 표면 마커에 대한 단일클론 항체의 각테일을 사용하는 유세포분석을 통한 세포 분류 및/또는 선택이다. 예를 들어, 음성 선택을 통해 CD4+ 세포를 농축하기 위해, 단일클론 항체 각테일은 일반적으로 CD14, CD20, CD1b, CD16, HLA-DR 및 CD8에 대한 항체를 포함한다. 유세포 분석 및 세포 분류를 사용하여 본 발명에서 사용하기 위해 관심 있는 세포 집단을 단리할 수도 있다.

[0122] PBMC는 본원에 기술된 방법을 사용하여 CAR과 함께 유전자 변형에 직접 사용할 수 있다. 일부 측면에서, PBMC를 단리한 후, T 림프구를 추가로 단리하고, 일부 측면에서 세포독성 및 헬퍼 T 림프구를 모두 유전자 변형 및/또

는 확장 전 또는 후에 미경험, 기억 및 이펙터 T 세포 하위집단으로 분류할 수 있다. CD8+ 세포는 표준 방법을 사용하여 수득할 수 있다. 일부 측면에서, CD8+ 세포는 각 유형의 CD8+ 세포와 관련된 세포 표면 항원을 식별하여 미경험, 중앙 기억 및 이펙터 세포로 추가로 분류한다. 일부 측면에서, 기억 T 세포는 CD8+ 말초 혈액 림프구의 CD62L+ 및 CD62L-서브세트에 모두 존재한다. PBMC는 항-CD8 및 항-CD62L 항체로 염색한 후 CD62L-CD8+ 및 CD62L+CD8+ 분획으로 분류된다. 일부 측면에서, 중앙 기억 TCM의 표현형 마커의 발현은 CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 및 CD127을 포함하며 그란자임 B에 대해 음성이다. 일부 측면에서, 중앙 기억 T 세포는 CD45RO+, CD62L+, CD8+ T 세포이다. 일부 측면에서, 이펙터 T 세포는 CD62L, CCR7, CD28 및 CD127에 대해 음성이고 그란자임 B 및 퍼포린에 대해 양성이다. 일부 측면에서, 미경험 CD8+ T 림프구는 CD62L, CCR7, CD28, CD3, CD 127 및 CD45RA를 포함한 미경험 T 세포의 표현형 마커의 발현을 특징으로 한다.

[0123] 일부 측면에서, CD4+ T 세포는 하위집단으로 추가로 분류된다. 예를 들어, CD4+ T 헬퍼 세포는 세포 표면 항원을 갖는 세포 집단을 식별하여 미경험, 중앙 기억 및 이펙터 세포로 분류할 수 있다. CD4+ 림프구는 표준 방법으로 수득할 수 있다. 일부 측면에서, 미경험 CD4+ T 림프구는 CD45RO-, CD45RA+, CD62L+ CD4+ T 세포이다. 일부 측면에서, 중앙 기억 CD4+ 세포는 CD62L 양성 및 CD45RO 양성이다. 일부 측면에서, 이펙터 CD4+ 세포는 CD62L 및 CD45RO 음성이다.

[0124] T 세포와 같은 면역 이펙터 세포는 알려진 방법을 사용하여 단리한 후 유전적으로 변형될 수 있거나, 면역 이펙터 세포는 유전적으로 변형되기 전에 시험관 내에서 활성화되고 확장될 수 있다(또는 진구체의 경우 분화될 수 있다). 일부 측면에서, T 세포와 같은 면역 이펙터 세포는 본원에서 기술하는 키메라 항원 수용체로 유전적으로 변형되고(예를 들어, CAR을 코딩하는 핵산을 포함하는 바이러스 벡터로 형질도입됨) 시험관내에서 활성화되고 확장된다. T 세포를 활성화하고 확장하는 방법은 당해 기술 분야에 알려져 있으며, 예를 들어 미국 특허 번호 6,905,874; 6,867,041; 6,797,514; WO2012079000에 기술되어 있다. 일반적으로, 이러한 방법에는 PBMC 또는 단리된 T 세포를 자극제 및 공동자극제, 예를 들어, 항-CD3 및 항-CD28 항체와 접촉시키는 것이 포함되며, 일반적으로 비드 또는 다른 표면에 IL-2와 같은 적절한 사이토카인이 있는 배양 배지에서 부착된다. 동일한 비드에 부착된 항-CD3 및 항-CD28 항체는 "대리" 항원 제시 세포(APC) 역할을 한다. 일부 측면에서, T 세포는 미국 특허 번호 6,040,177; 5,827,642; 및 WO2012129514에 기술된 것과 같은 방법을 사용하여 피더 세포 및 적절한 항체 및 사이토카인으로 활성화되고 자극되어 증식될 수 있다.

[0125] 본 발명은 클라우딘-1 발현 종양으로 인한 악성 종양을 가진 환자를 치료하기 위한 변형된 면역 이펙터 세포 집단을 제공하며, 변형된 면역 이펙터 세포는 본원에 개시된 바와 같은 항-클라우딘-1 CAR을 포함한다.

[0126] **IV. 사용 방법**

[0127] 본 발명의 방법은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 또는 이러한 항체 또는 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 사용하여 달성될 수 있다(아래 참조). 이러한 방법은 일반적으로 유효량의 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 또는 이의 약제학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체(즉, 섬유성 종양이 있는 대상체)에게 투여하는 것을 포함한다. 투여는 당업자에게 알려진 투여 방법 중 하나를 사용하여 수행될 수 있다(아래 참조).

[0128] 섬유성 종양은 일반적으로 밀도가 높은 콜라겐 네트워크를 갖고 있어 간질 내 섬유간 간격이 작아져서 10나노미터보다 큰 입자의 이동이 지연된다(Netti PA, et al. (2000) Cancer Res 60:2497-2503; Pluen A, et al. (2001) Proc Natl AcadSci USA 98:4628-4633; Ramanujan S, et al. (2002) Biophys J 83:1650-1660; and Brown E, et al. (2003) Nat Med 9:796-800). 일부 측면에서, 본원에서는 섬유성 종양이 있는 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법을 제공하며, 이는 대상체에게 항-클라우딘-1 항체를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 측면에서, 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법은 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 추가로 포함한다.

[0129] 일부 측면에서, 본원에서는 고품종 종양을 가진 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 이는 대상체에게 치료적으로 유효량의 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 항-클라우딘-1 항체는 대상체의 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시킨다.

[0130] 일부 측면에서, 본원에서는 섬유성 종양을 가진 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키는 방법이 제공되며, 이는 a) 대상체에게 항-클라우딘-1 항체를 투여하는 단계로서, 여기서 항-클라우딘-1 항체는 섬유성 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는, 단계; 및 b) 대상체에게 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 단계를 포함한다.

- [0131] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체는 면역 체크포인트 억제제의 투여 전에 투여된다.
- [0132] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체와 면역 체크포인트 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여된다.
- [0133] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체와 면역 체크포인트 억제제는 동일한 조성물로 투여된다.
- [0134] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체와 면역 체크포인트 억제제는 상이한 조성물로 투여된다.
- [0135] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체 및/또는 면역 체크포인트 억제제는 종양 내, 정맥내, 복강내, 근육내, 척추강내 또는 피하로 투여된다.
- [0136] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, TIGIT, VISTA, B7-H3, BTLA 및/또는 Siglec-15의 길항제이다.
- [0137] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 소분자 억제제이다.
- [0138] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다.
- [0139] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1 길항제이다. 일부 측면에서, PD-1 길항제는 니볼루맵, 펌브롤리주맵, 세미플리맵 및 도스타리리맵으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0140] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-L1 길항제이다. 일부 측면에서, PD-L1 길항제는 아테졸리주맵, 더발루맵 및 아벨루맵으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0141] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제이다. 일부 측면에서, CTLA-4 길항제는 이필리무맵 및 트레멜리무맵으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0142] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 LAG-3 길항제(예를 들어, BI754111)이다.
- [0143] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIM-3 길항제(예를 들어, TSR-022 및 LY3321367)이다.
- [0144] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 VISTA(T 세포 활성화의 V-도메인 면역글로불린(Ig)-함유 억제제) 길항제(예를 들어, CA-170(항-PD-L1/L2 및 항-VISTA 소분자) 및 JNJ-61610588)이다.
- [0145] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 B7-H3 길항제이다.
- [0146] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 BTLA 길항제이다.
- [0147] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 Siglec-15 길항제이다.
- [0148] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIGIT 길항제(예를 들어, BMS-986207, OMP-313M32, COM902 (CGEN-15137), 및 AB154)이다. 일부 측면에서, TIGIT 길항제는 티라골루맵, 오시페르리맵, 돔바날리맵, 에티길리맵 및 비보스톨리맵으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0149] 일부 측면에서, 암은 섬유성 종양을 포함한다.
- [0150] 일부 측면에서, 섬유성 종양은 클라우딘-1의 높은 발현을 특징으로 한다. 일부 측면에서, 본원에 개시된 방법은 또한 대상체의 섬유성 종양 샘플에서 클라우딘-1 발현 수준을 검출하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 본원에 개시된 방법은 또한 클라우딘-1 발현 수준을 기준 샘플에서 클라우딘-1의 발현 수준과 비교하는 것을 포함하는데, 섬유성 종양 샘플에서 클라우딘-1의 발현 수준이 기준 샘플에서 클라우딘-1의 발현 수준에 비해 증가한 경우, 대상체에게 본원에 기술된 바와 같이 항-클라우딘-1 항체 및/또는 면역 체크포인트 억제제를 투여한다.
- [0151] 일부 측면에서, 섬유성 종양 샘플 및/또는 기준 샘플의 클라우딘-1 발현 수준은 면역조직화학(IHC) 테스트를 통해 정량화된다. 일부 측면에서, IHC 테스트는 H-점수 방법을 통해 계산된다(예를 들어, Parris, Toshima Z et al., BMC cancer vol. 14:324(2014) 참조). 일부 측면에서, H-점수는 각 세포가 0에서 +3(0 = 음성 염색, +1 = 약한 염색 또는 표적 항원의 낮은 발현, +2 = 중간 염색 또는 표적 항원의 중간 발현, 및 +3 = 강한 염색 또는 표적 항원의 높은 발현)의 점수를 받도록 요구한다. 일부 측면에서 H-점수는 0-300의 범위에 있으며, H-점수는 i) 샘플에서 점수가 +1인 세포 백분율, ii) 샘플에서 점수가 +2인 세포 백분율의 2배, 및 iii) 샘플에서 점수가 +3인 세포 백분율의 3배를 더하여 계산된다(즉, H-점수 = (1 * 1인 세포의 %) + (2 * 2인 세포의 %) + (3 * 3인 세포의 %)). 일부 측면에서, H-점수 방법에 의해 등급이 매겨진 클라우딘-1의 높은 발현은 약 150에서 약 300 사이이다. 일부 측면에서, H-점수 방법에 의해 등급이 매겨진 클라우딘-1의 중간 발현은 약 50에서 약 149 사이이다. 일부 측면에서, H-점수 방법에 의해 등급이 매겨진 클라우딘-1의 낮은 발현은 약 1에서 약 49 사이이

다.

- [0152] 일부 측면에서, H-점수가 약 1에서 약 300 사이일 때 클라우딘-1의 발현은 양성으로 간주된다. 일부 측면에서, H-점수가 약 50에서 약 300 사이일 때 클라우딘-1의 발현은 양성으로 간주된다. 일부 측면에서, H-점수가 약 150에서 약 300 사이일 때 클라우딘-1의 발현은 양성으로 간주된다.
- [0153] 섬유성 종양의 치료를 개선하기 위해, 일부 측면에서, 본 발명은 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 환자를 식별하고 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제의 면역요법을 제공한다.
- [0154] 다른 측면에서, 본 발명은 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 섬유성 종양을 갖는 환자를 식별하고 항-클라우딘-1 항체 또는 항-클라우딘-1 항체와 면역 체크포인트 억제제의 조합을 투여하여 상기 섬유성 종양을 치료하는 것에 관한 것이다. 일부 측면에서, 본 발명은 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 섬유성 종양을 갖는 환자를 식별하고 환자에게 항-클라우딘-1 항체를 투여하는 방법을 포함한다.
- [0155] 일부 측면에서, 본 발명은 면역요법을 위해 인간 환자의 섬유성 종양을 선택하는 방법을 포함하며, 이는: (a) 종양 샘플에서 클라우딘-1 발현 수준을 결정하고; (b) 종양 샘플에 클라우딘-1의 높은 발현이 있는 경우 면역요법을 위해 종양을 선택하는 것을 포함한다.
- [0156] 일부 측면에서, 본 발명은 인간 환자의 섬유성 종양을 면역요법에 적합한 것으로 식별하는 방법을 포함하며, 이는: (a) 종양 샘플에서 클라우딘-1 발현 수준을 결정하고; 및 (b) 종양 샘플이 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 경우 종양을 면역요법에 적합한 것으로 식별하는 것을 포함한다.
- [0157] 일부 측면에서, 본 발명은 면역요법에 반응할 가능성이 있는 인간 환자의 섬유성 종양을 식별하는 방법을 포함하며, 이 방법은: (a) 종양 샘플에서 클라우딘-1 발현 수준을 결정하고; (b) 종양이 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 경우 종양을 치료에 반응할 가능성이 있는 것으로 식별하는 것을 포함한다.
- [0158] 일부 측면에서, 본 발명은 인간 환자의 섬유성 종양을 면역요법에 반응할 가능성이 있는 것으로 분류하는 방법을 포함하며, 이 방법은: (a) 종양 샘플에서 클라우딘-1 발현 수준을 결정하고; (b) 종양이 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 경우 종양을 면역요법에 반응할 가능성이 있는 것으로 분류하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 면역요법은 종양을 치료적으로 유효량의 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다.
- [0159] 일부 측면에서, 본 발명은 면역요법에 반응할 가능성이 있는 섬유성 종양을 가진 환자를 식별하는 방법을 포함하며, 이 방법은: (a) 종양 샘플에서 클라우딘-1 발현 수준을 결정하고; (b) 종양이 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 경우 치료에 반응할 가능성이 있는 환자를 식별하는 것을 포함한다.
- [0160] 일부 측면에서, 본 발명은 면역요법을 위해 섬유성 종양을 가진 환자를 선택하는 방법을 포함하며, 이 방법은: (a) 종양 샘플에서 클라우딘-1 발현 수준을 결정하고; 및 (b) 종양이 클라우딘-1의 높은 발현을 갖는 경우 면역요법을 위해 환자를 선택하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 면역요법은 종양을 치료적으로 유효량의 항-클라우딘-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다.
- [0161] 일부 측면에서, 식별은 섬유성 종양에서 클라우딘-1 발현을 결정하는 것을 포함한다.
- [0162] 일부 측면에서, 클라우딘-1 발현은 클라우딘-1 발현을 결정할 수 있는 검정의 결과를 수신함으로써 결정된다.
- [0163] 클라우딘-1 발현을 평가하기 위해, 일부 측면에서, 치료법이 필요한 환자로부터 테스트 조직 샘플을 수득한다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 종양 생검, 코어 생검 조직 샘플, 미세 바늘 흡인물 또는 혈액, 혈장, 혈청, 림프, 복수액, 낭포액 또는 소변과 같은 체액 샘플과 같은 임상적으로 관련 있는 조직 샘플을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 원발 종양에서 채취한다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 전이에서 채취한다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 예를 들어 치료 전, 치료 중 및/또는 치료 후와 같이 여러 시점에서 대상체로부터 채취한다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 대상체의 다른 위치, 예를 들어 원발 종양의 샘플과 먼 위치의 전이에서 채취한다.
- [0164] 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 파라핀-임베딩된 고정 조직 샘플이다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 포르말린-고정 파라핀 임베딩(FFPE) 조직 샘플이다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 신선한 조직(예를 들어, 종양) 샘플이다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 동결 또는 냉동보관된 조직 샘플이다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 신선 동결(FF) 조직(예를 들어, 종양) 샘플이다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 보관 조직 샘플이다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 알려진 진단, 치료 및/또는 결과 이력을 가진 보관 조

직 샘플이다. 일부 측면에서, 샘플은 조직 블록이다. 일부 측면에서, 테스트 조직 샘플은 분산된 세포이다. 일부 측면에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 1×10^6 개 세포 이상이다. 일부 측면에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 1×10^5 개 세포이다. 일부 측면에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 10,000개 세포이다. 일부 측면에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 1,000개 세포이다. 일부 측면에서는 샘플 크기가 약 1개 세포 내지 약 100개 세포이다. 일부 측면에서는 샘플 크기가 약 1개 세포 내지 약 10개 세포이다. 일부 측면에서는 샘플 크기가 단일 세포이다.

[0165] 다른 측면에서, 클라우딘-1 발현의 평가는 테스트 조직 샘플을 얻지 않고도 달성될 수 있다. 일부 측면에서, 적합한 환자를 선택하는 것은 (i) 임의로 암 조직이 있는 환자로부터 수득한 테스트 조직 샘플을 제공하는 것을 포함하며, 테스트 조직 샘플은 종양 세포 및/또는 종양-침윤 염증 세포를 포함하고; (ii) 테스트 조직 샘플에서 세포 표면에서 클라우딘-1을 발현하는 세포의 비율이 사전 결정된 임계값 수준보다 높다는 평가에 기반하여 세포 표면에서 클라우딘-1을 발현하는 테스트 조직 샘플의 세포 비율을 평가하는 것을 포함한다.

[0166] 그러나 테스트 조직 샘플에서 클라우딘-1 발현을 측정하는 것을 포함하는 임의의 방법에서, 환자로부터 수득한 테스트 조직 샘플을 제공하는 것을 포함하는 단계는 임의의 단계임을 이해해야 한다. 즉, 특정 측면에서 이 방법은 이 단계를 포함하고, 다른 측면에서 이 단계는 이 방법에 포함되지 않는다. 또한 특정 측면에서 클라우딘-1을 발현하는 테스트 조직 샘플의 세포 수 또는 비율을 식별하거나 결정하기 위한 "측정" 또는 "평가" 단계는 클라우딘-1 발현을 검정하는 변형적 방법, 예를 들어 역전사효소-중합효소 연쇄 반응(RT-PCR) 검정 또는 IHC 검정을 수행하여 수행된다는 점을 이해해야 한다. 다른 특정 측면에서는 변형적 단계가 포함되지 않으며 클라우딘-1 발현은, 예를 들어 실험실의 테스트 결과 보고서를 검토하여 평가한다. 일부 측면에서 클라우딘-1 발현은 실험실의 면역조직화학 검정 결과를 검토하여 평가한다. 특정 측면에서 클라우딘-1 발현을 평가하는 단계를 포함하여 방법의 단계는 클라우딘-1 억제제 및 면역 체크포인트 억제제의 조합 치료법에 적합한 후보를 선택하는 데 사용할 수 있도록 의사 또는 기타 의료 서비스 제공자에게 중간 결과를 제공할 수 있다. 특정 측면에서, 클라우딘-1 발현을 평가하는 단계를 포함하여 방법의 단계는 면역 체크포인트 억제제 치료법에 적합한 후보자를 선택하는 데 사용할 수 있도록 의사 또는 기타 의료 서비스 제공자에게 중간 결과를 제공할 수 있다. 특정 측면에서, 중간 결과를 제공하는 단계는 의료 종사자 또는 의료 종사자의 지시에 따라 행동하는 사람이 수행한다. 다른 측면에서, 이러한 단계는 독립적인 실험실 또는 실험실 기술자와 같은 독립적인 사람이 수행한다.

[0167] 본 방법의 특정 측면에서, 클라우딘-1을 발현하는 세포의 비율은 클라우딘-1 RNA의 존재를 검출하는 검정을 수행하여 평가한다. 추가 측면에서, 클라우딘-1 RNA의 존재는 RT-PCR, 현장 혼성화 또는 RNase 보호에 의해 검출된다. 일부 측면에서, 클라우딘-1 RNA의 존재는 RT-PCR 기반 검정에 의해 검출된다. 일부 측면에서, RT-PCR 기반 검정을 채점하는 것은 사전 결정된 수준에 비해 테스트 조직 샘플에서 클라우딘-1 RNA 발현 수준을 평가하는 것을 포함한다.

[0168] 다른 측면에서, 클라우딘-1을 발현하는 세포의 비율은 클라우딘-1 폴리펩타이드의 존재를 검출하기 위한 검정을 수행하여 평가한다. 추가 측면에서, 클라우딘-1 폴리펩타이드의 존재는 IHC, 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA), 생체내 이미징 또는 유세포 분석에 의해 검출된다. 일부 측면에서, 클라우딘-1 발현은 IHC에 의해 검정된다. 이러한 모든 방법의 다른 측면에서, 클라우딘-1의 세포 표면 발현은 예를 들어, IHC 또는 생체내 이미징을 사용하여 검정된다.

[0169] 일부 측면에서, 면역조직화학 검정은 저배율로 채점된다. 일부 측면에서, 저배율은 약 20배이다. 일부 측면에서, 면역조직화학 검정은 고배율로 채점된다. 일부 측면에서, 고배율은 약 40배이다.

[0170] 일부 측면에서, 면역조직화학 검정은 이미지 분석 소프트웨어에 의해 채점된다. 일부 측면에서, 면역조직화학 검정은 병리학자의 시각적 면역 점수에 의해 채점된다. 일부 측면에서, 면역조직화학 검정은 수동으로 채점된다.

[0171] 일부 측면에서, 종양은 두경부, 폐, 유방, 흑색종, 대장직장, 췌장, 식도, 담관암 및 간세포 종양으로 구성된 군에서 선택된다.

[0172] 일부 측면에서, 본원에 기술된 바와 같이 제조된 CAR-발현 면역 이펙터 세포는 공지된 기술 또는 본 개시내용에 근거하여 당업자에게 명백할 그 변형에 따라 입양 면역요법을 위한 방법 및 조성물에서 활용될 수 있다. 예를 들어, Gruenberg et al의 미국 특허 출원 공개 번호 2003/0170238; Rosenberg의 미국 특허 번호 4,690,915를 참조한다.

- [0173] 일부 측면에서, 세포는 먼저 배양 배지에서 수확한 다음, 치료 유효량으로 투여에 적합한 배지 및 용기 시스템 ("약제학적으로 허용되는" 담체)에서 세포를 세척하고 농축하여 제형화한다. 적합한 주입 매체는 일반적으로 생리식염수, Normosol R(Abbott) 또는 Plasma-Lyte A(Baxter)와 같은 등장성 매체 제형일 수 있지만, 물 또는 링거 락테이트 중 5% 텍스트로스를 사용할 수도 있다. 주입 매체는 인간 혈청 알부민으로 보충될 수 있다.
- [0174] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 CAR-T 세포 및 면역 체크포인트 억제제를 포함한다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술하는 바와 같이 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, B7-H3, B7-H4, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG-3, VISTA, KIR, BTLA, TIGIT, IDO 및/또는 Siglec-15 억제제로 구성된 군에서 선택된다.
- [0175] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술하는 바와 같이 PD-1의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 PD-L1의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 PD-L2의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 CTLA-4의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 LAG-3의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 TIM-3의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 TIGIT의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 VISTA의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 B7-H3의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 B7-H4의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 HVEM의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 GAL-9의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 KIR의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 BTLA의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 IDO의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 기술된 바와 같이 Siglec-15의 억제제이다.
- [0176] 일부 측면에서, 본 발명의 CAR 발현 면역 이펙터 세포 집단은 단독으로 또는 희석제 및/또는 본원에 기술된 면역 체크포인트 억제제와 같은 다른 성분과 함께 약제학적 조성물로 투여될 수 있다. 간단히 말해서, 본 발명의 약제학적 조성물은 본원에 기술된 바와 같은 CAR 발현 면역 이펙터 세포 집단, 예를 들어 T 세포를 하나 이상의 약제학적 또는 생리학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제와 함께 포함할 수 있다. 이러한 조성물은 중성 완충 식염수, 인산 완충 식염수 등과 같은 완충액; 글루코스, 만노스, 수크로스 또는 텍스트란, 만니톨과 같은 탄수화물; 단백질; 폴리펩티드 또는 글리신과 같은 아미노산; 항산화제; EDTA 또는 글루타치온과 같은 킬레이트제; 보존제(예를 들어, 수산화알루미늄); 및 방부제를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 바람직하게는 정맥 내 투여를 위해 제형화된다.
- [0177] 일부 측면에서, 본원에 기술된 방법 또는 당해 기술 분야에 공지된 다른 방법을 사용하여 본원에 기술된 CAR 발현 T 세포를 투여함으로써 대상체에게 유도된 항종양 면역 반응에는 감염된 세포를 죽일 수 있는 세포독성 T 세포, 조절 T 세포 및 헬퍼 T 세포 반응을 매개로 하는 세포 면역 반응이 포함될 수 있다. B 세포를 활성화하여 항체 생성을 유도할 수 있는 헬퍼 T 세포에 의해 주로 매개되는 체액성 면역 반응도 유도될 수 있다. 본 발명의 조성물에 의해 유도된 면역 반응의 유형을 분석하기 위해 다양한 기술을 사용할 수 있으며, 이는 당해 기술 분야에 잘 기술되어 있다; 예를 들어, Current Protocols in Immunology, Edited by: John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober (2001) John Wiley & Sons, N.Y., N.Y.
- [0178] 일부 측면에서, 본원에서는 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법이 제공되며, 이는 대상체에게 항-클라우딘-1 키메라 항원 수용체(CAR) T 세포를 투여하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다.
- [0179] 일부 측면에서, 본원에서는 고형 종양을 가진 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 이는 대상체에게 치료적으로 유효량의 항-클라우딘-1 CAR T 세포 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 CAR T 세포는 대상체의 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시킨다.
- [0180] 일부 측면에서, 본원에서는 섬유성 종양을 가진 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키는 방법이 제공되며, 이는 대상체에게 항-클라우딘-1 CAR T 세포를 투여하고 대상체에게 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 CAR T 세포는 섬유성 종양에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시킨다.

[0181] V. 면역 체크포인트 억제제

[0182] 면역 체크포인트 단백질은 특정 리간드와 상호작용하여 T 세포 기능을 억제하는 신호를 T 세포로 보낸다. 암 세포는 이를 이용하여 표면에서 체크포인트 단백질의 높은 수준 발현을 유도하여 항암 면역 반응을 억제한다.

[0183] 면역 체크포인트 억제제는 면역 체크포인트 단백질의 기능을 억제할 수 있는 임의의 화합물을 포함한다. 억제에는 기능 감소와 완전한 차단이 포함된다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 단백질은 인간 체크포인트 단백질이다. 따라서 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 바람직하게는 인간 면역 체크포인트의 억제제이다.

[0184] 일부 측면에서, 체크포인트 단백질은 CTLA-4, PD-1(및 그 리간드 PD-L1 및 PD-L2), B7-H3, B7-H4, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG-3, VISTA, KIR, BTLA, TIGIT, IDO 및/또는 Siglec-15를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. LAG-3, BTLA, B7-H3, B7-H4, TIM-3 및 KIR을 포함하는 경로는 CTLA-4 및 PD-1 의존 경로와 유사한 면역 체크포인트 경로를 구성한다(예를 들어, Pardoll, 2012, Nature Rev Cancer 12:252-264; Mellman et al., 2011, Nature 480:480-489 참조). 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, B7-H3, B7-H4, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG-3, VISTA, KIR, BTLA, TIGIT, IDO 및/또는 Siglec-15의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, TIGIT, VISTA, B7-H3, BTLA 및/또는 Siglec-15의 억제제이다.

[0185] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-L1의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 LAG-3의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIM-3의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIGIT의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 VISTA의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 B7-H3의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 BTLA의 억제제이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 Siglec-15의 억제제이다.

[0186] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 항체이다.

[0187] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, B7-H3, B7-H4, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG-3, VISTA, KIR, BTLA, TIGIT, IDO 및 Siglec-15로 구성된 군에서 선택된 면역 체크포인트 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그 단편을 포함한다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, B7-H3, B7-H4, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG-3, VISTA, KIR, BTLA, TIGIT, IDO 및/또는 Siglec-15를 적어도 부분적으로 길항할 수 있는 단일클론 항체, 완전 인간 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 그 단편이다.

[0188] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 LAG-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIM-3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIGIT에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 VISTA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 B7-H3에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 BTLA에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 Siglec-15에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이다.

[0189] 일부 측면에서, 억제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 CTLA-4 억제제, 바람직하게는 CTLA-4에 특이적으로 결합하고(그리고 억제하는) 단일클론 항체를 포함한다. 완전한 인간 CTLA-4 핵산 서열은 GenBank 수탁 번호 NG_011502.1에서 찾을 수 있다. CTLA-4에 특이적으로 결합하는 단일클론 항체는 제한 없이, 이필리무맙(Yervoy[®]; BMS) 및 트레멜리무맙(AstraZeneca/MedImmune)뿐만 아니라 각각의 내용은 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 공개 번호 2005/0201994, 2002/0039581 및 2002/0086014에 개시된 항체, 및 각각의 내용은 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 번호 5,811,097; 5,855,887; 6,051,227; 6,984,720; 6,682,736; 6,207,156; 5,977,318; 6,682,736; 7,109,003; 7,132,281; 및 8,491,895에 개시된 항체, 또는 이들 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 포함한다. 높은 친화도로 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 인간 단일클론 항체는 미국 특허 번호 6,984,720에 개시되어 있다. 다른 항-CTLA-4 단일클론 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,034,121 및 국제 공개 번호 WO 2012/122444, WO 2007/113648, WO 2016/196237 및 WO 2000/037504에 기술되어 있다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제이다. 일부 측면에서, CTLA-4 길항제는 이필리무맙 및 트레멜리무맙으로 구성된 군에서 선택된다.

- [0190] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 그 생물학적으로 활성인 단편 및 PD-1 억제제, 바람직하게는 PD-1에 특이적으로 결합하고(억제하는) 단일클론 항체를 포함한다. 인간 PD-1의 완전한 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열은 GenBank 수탁 번호 NG_012110.1 및 NP_005009.2에서 찾을 수 있다. 일부 측면에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 니볼루맙(또한 "OPDIVO[®]"로 알려짐; BMS-936558; 이전에는 5C4, BMS-936558, MDX-1106 또는 ONO-4538로 지정됨)은 PD-1 리간드(PD-L1 및 PD-L2)와의 상호작용을 선택적으로 방지하여 항종양 T 세포 기능의 하향조절을 차단하는 완전 인간 IgG4(S228P) PD-1 면역 체크포인트 억제제 항체이다(미국 특허 번호 8,008,449; Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56). 다른 측면에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 단편은 니볼루맙과 교차 경쟁한다. 다른 측면에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 단편은 니볼루맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 측면에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙과 동일한 CDR을 갖는다.
- [0191] 다른 측면에서, 항-PD-1 항체는 웹브롤리주맙이다. 웹브롤리주맙은 인간 세포 표면 수용체 PD-1(프로그램된 사멸-1 또는 프로그램된 세포 사멸-1)에 대해 지시되는 인간화된 단일클론 IgG4(S228P) 항체이다. 웹브롤리주맙은, 예를 들어 미국 특허 번호 8,354,509 및 8,900,587에 기술되어 있다.
- [0192] 본 발명에 사용하기에 적합한 항-인간-PD-1 항체(또는 이로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 당해 기술 분야에서 인식된 항-PD-1 항체를 사용할 수 있다. 예를 들어, 이의 교시가 본원에 참조로 포함된 WO 2006/121168에 기술된 단일클론 항체 5C4(본 명세서에서 니볼루맙 또는 BMS-936558로 지칭됨), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 및 5F4를 사용할 수 있다. 다른 알려진 PD-1 항체에는 WO 2008/156712에 기술된 람브롤리주맙(MK-3475) 및 WO 2012/145493에 기술된 AMP-514가 있으며, 이의 교시는 본원에 참조로 포함된다. 추가로 알려진 항-PD-1 항체 및 기타 PD-1 억제제에는 WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335 및 WO 2011/161699에 기술된 것들이 포함되며, 이들의 교시는 본원에 참조로 포함된다. 일부 측면에서, 항-PD-1 항체는 REGN2810이다. 일부 측면에서, 항-PD-1 항체는 PDR001이다. 또 다른 알려진 항-PD-1 항체는 피달리주맙(CT-011)이다. PD-1에 결합하기 위해 이들 항체 또는 억제제 중 하나와 경쟁하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편도 사용될 수 있다.
- [0193] 다른 항-PD-1 단일클론 항체는 예를 들어, 미국 특허 번호 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 및 8,354,509, 미국 공개 번호 2016/0272708 및 PCT 공개 번호 WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, 및 WO 2017/133540에 기술되어 있으며, 각각은 참조로 본원에 포함된다.
- [0194] 일부 측면에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙(또한 OPDIVO[®], 5C4, BMS-936558, MDX-1106 및 ONO-4538로 알려짐), 웹브롤리주맙(Merck; 또한 KEYTRUDA[®], 람브롤리주맙 및 MK-3475로 알려짐; WO2008/156712 참조), PDR001(Novartis; WO 2015/112900 참조), MEDI-0680(AstraZeneca; 또한 AMP-514로 알려짐; WO 2012/145493 참조), 세미플리맙(Regeneron; 또한 REGN-2810으로 알려짐; WO 2015/112800 참조), JS001(TAIZHOU JUNSHI PHARMA; Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017) 참조), BGB-A317(Beigene; WO 2015/35606 및 US 2015/0079109 참조), INCSHR1210(Jiangsu Hengrui Medicine; SHR-1210이라고도 함; WO 2015/085847 참조; Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)), TSR-042(Tesaro Biopharmaceutical; ANB011이라고도 함; WO2014/179664 참조), GLS-010(Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals; WBP3055라고도 함; Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017) 참조), AM-0001(Armo), STI-1110(Sorrento Therapeutics; WO 2014/194302 참조), AGEN2034(Agenus; WO 2017/040790 참조), MGA012(MacroGenics, WO 2017/19846 참조), 및 IBI308(Innovent; WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825 및 WO 2017/133540 참조)로 구성된 군에서 선택되며, 이들 참고 문헌은 본원에 참고로 포함되어 있다.
- [0195] 다른 측면에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 웹브롤리주맙과 교차 경쟁한다. 일부 측면에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 웹브롤리주맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 측면에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 웹브롤리주맙과 동일한 CDR을 갖는다. 다른 측면에서, 항-PD-1 항체는 웹브롤리주맙이다. 웹브롤리주맙(또한 "KEYTRUDA[®]", 람브롤리주맙 및 MK-3475로 알려짐)은 인간 세포 표면 수용체 PD-1(프로그램된 사멸-1 또는 프로그램된 세포 사멸-1)에 대해 지시되는 인간화된 단일클론 IgG4 항체이다. 웹브롤리주맙은, 예를 들어 미국 특허 번호 8,354,509 및 8,900,587에 기술되어 있다. 웹브롤리주맙은 재발성 또는 불응성 흑색종의 치료를 위해 FDA의 승인을 받았다.

- [0196] 일부 측면에서, PD-1 길항제는 니볼루맙, 펠브롤리주맙, 세미플리맙 및 도스타리맙으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0197] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 및 PD-L1 억제제, 바람직하게는 PD-L1에 특이적으로 결합(및 억제)하는 단일클론 항체를 포함한다. 임의의 인식된 항-PD-L1 항체를 사용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 7,943,743에 개시된 인간 항-PD-L1 항체를 사용할 수 있으며, 이의 내용은 본원에 참조로 포함된다. 이러한 항-PD-L1 항체에는 3G10, 12A4(BMS-936559라고도 함), 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 및 13G4가 포함된다. 사용할 수 있는 다른 기술에서 인식된 항-PD-L1 항체에는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,635,757 및 8,217,149, 미국 공개 번호 2009/0317368 및 PCT 공개 번호 WO 2011/066389 및 WO 2012/145493에 기술된 항체가 포함되며, 이들에 대한 교시 내용도 본원에 참조로 포함된다. 항-PD-L1 항체의 다른 예로는 아테졸리주맙(TECENTRIQ; RG7446), 또는 더발루맙(IMFINZI; MEDI4736) 또는 아벨루맙(Bavencio)이 있다. PD-L1에 결합하기 위해 이러한 기술 분야에서 인식된 항체 또는 억제제와 경쟁하는 항체 또는 그 항원 결합 단편도 사용할 수 있다.
- [0198] 특정 측면에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559(이전에는 12A4 또는 MDX-1105)이다(예를 들어, 미국 특허 번호 7,943,743; WO 2013/173223 참조)이다. 다른 측면에서, 항-PD-L1 항체는 MPDL3280A(RG7446 및 아테졸리주맙으로도 알려짐)(예를 들어, Herbst et al. 2013 J Clin Oncol 31(suppl):3000; 미국 특허 번호 8,217,149 참조), MEDI4736(Khleif, 2013, In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802) 또는 MSB0010718C(아벨루맙으로도 알려짐; 미국 특허 2014/0341917 참조)이다. 특정 측면에서, 인간 PD-L1에 대한 결합을 위해 교차 경쟁하거나 상기 참조 PD-L1 항체와 동일한 인간 PD-L1의 에피토프 영역에 결합하는 항체는 mAb이다. 인간 대상체에게 투여하기 위해, 이러한 교차 경쟁 항체는 키메라 항체일 수 있거나, 인간화 또는 인간 항체일 수 있다. 이러한 키메라, 인간화 또는 인간 mAb는 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다. 특정 측면에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559(12A4, MDX-1105로도 알려짐; 예를 들어, 미국 특허 번호 7,943,743 및 WO 2013/173223 참조), 아테졸리주맙(Roche; TECENTRIQ®로도 알려짐; MPDL3280A, RG7446; US 8,217,149; 또한 Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000 참조), 더발루맙(AstraZeneca; IMFINZI™로도 알려짐, MEDI-4736; WO 2011/066389 참조), 아벨루맙(Pfizer; BAVENCIO®로도 알려짐, MSB-0010718C; WO 2013/079174참조), STI-1014(Sorrento; WO2013/181634 참조), CX-072(Cytomx; WO2016/149201 참조), KN035(3D Med/Alphamab; Zhang et al., Cell Discov. 7:3 (March 2017) 참조), LY3300054(Eli Lilly Co.; WO 2017/034916 참조) 및 CK-301(Checkpoint Therapeutics; Gorelik et al., AACR:Abstract 4606 (Apr 2016))로 구성된 군에서 선택된다.
- [0199] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 PD-L2 억제제, 예를 들어 MIH18(Pfistershammer et al., Eur J Immunol. 36:1104-1113(2006)에 기술됨)을 포함한다.
- [0200] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 LAG-3 억제제를 포함한다. 일부 측면에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이다.
- [0201] 본 발명에 사용하기에 적합한 항-인간-LAG-3 항체(또는 이로부터 유래된 VH/VL 도메인)는 당해 기술 분야에서 잘 알려진 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로 당해 기술 분야에서 인식된 항-LAG-3 항체를 사용할 수 있다. 예를 들어, 그 교시 내용이 본원에 참조로 포함되는 US2011/0150892 A1에 기술된 항-인간 LAG-3 항체, 및 단일클론 항체 25F7(또한 "25F7" 및 "LAG3.1"로 알려짐)로 지칭되는 항체를 사용할 수 있다. 사용할 수 있는 다른 기술에서 인식된 항-LAG-3 항체로는 US 2011/007023에 기술된 IMP731(H5L7BW), WO2016028672에 기술된 MK-4280(28G-10), 문헌(Journal for ImmunoTherapy of Cancer, (2016) Vol. 4, Supp. Supplement 1 Abstract Number: P195)에 기술된 REGN3767: WO2017/019894에 기술된 BAP050, IMP-701(LAG-525), IMP321(에프틸라기모드 알파)), Sym022, TSR-033, MGD013, BI754111, FS118, AVA-017 및 GSK2831781을 포함한다. 청구된 발명에서 유용한 이러한 및 기타 항-LAG-3 항체는, 예를 들어 WO2016/028672, WO2017/106129, WO2017/062888, WO2009/044273, WO2018/069500, WO2016/126858, WO2014/179664, WO2016/200782, WO2015/200119, WO2017/019846, WO2017/198741, WO2017/220555, WO2017/220569, WO2018/071500, WO2017/015560, WO2017/025498, WO2017/087589, WO2017/087901, WO2018/083087, WO2017/149143, WO2017/219995, US2017/0260271, WO2017/086367, WO/2017/086419, WO2018/034227, 및 WO2014/140180에서 찾아볼 수 있다. 이들 참고문헌의 내용은 본원에 참고로 포함된다.
- [0202] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 본원에 참고로 포함된 미국 특허 8,563,694에 개시된 항체 4C7과 같은 BLTA 억제제를 포함한다.

- [0203] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 B7-H4 체크포인트 억제제, 예를 들어 본원에 참고로 포함된 미국 특허 출원 공개 번호 2014/0294861에 공개된 항체 또는 본원에 참고로 포함된 미국 특허 출원 공개 번호 2012/0177645에 개시된 B7-H4의 가용성 재조합 형태를 포함한다.
- [0204] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 예를 들어 본원에 참고로 포함된 미국 특허 출원 공개 번호 2012/0294796에 개시된 BRCA84D 또는 유도체로 개시된 항체 MGA271와 같은 B7-H3 체크포인트 억제제를 포함한다.
- [0205] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 TIM-3 체크포인트 억제제, 예를 들어 본원에 참조로 포함된 미국 특허 8,841,418호에 개시된 항체 또는 Jones et al., J. Exp. Med., 205(12):2763-79(2008)에 개시된 항-인간 TIM-3 차단 항체 F38-2E2를 포함한다.
- [0206] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편, 및 KIR 체크포인트 억제제, 예를 들어 항체 리릴루맵(Romagne et al., Blood, 114(13):2667-2677(2009)에 기술됨)을 포함한다.
- [0207] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 및 TIGIT 억제제를 포함한다. TIGIT 체크포인트 억제제는 바람직하게는 TIGIT와 폴리오바이러스 수용체(CD155)의 상호작용을 억제하며, 제한 없이 예를 들어 미국 특허 9,499,596호(본원에 참조로 포함됨) 및 미국 특허 출원 공개 번호 2016/0355589, 2016/0176963(본원에 참조로 포함됨)에 개시된 인간 TIGIT를 표적으로 하는 항체 및 예를 들어 미국 특허 9,327,014(본원에 참조로 포함됨)에 개시된 폴리오바이러스 수용체 변이체를 포함한다. 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIGIT 길항제이다. 일부 측면에서, TIGIT 길항제는 티라골루맵, 오시페트리맵, 돤바날리맵, 에티길리맵 및 비보스톨리맵으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0208] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 및 IDO 억제제(인돌아민-피롤 2,3-디옥시게나제)를 포함한다. IDO는 면역 체크포인트 단백질로 인식되며 종양 세포에서의 발현은 이펙터 T 세포를 정지시켜 면역 내성에 기여한다. IDO는 항-CTLA-4 치료법의 내성에 기여하는 것으로 생각된다. 일부 측면에서, 본원에서 기술한 방법에 따라 사용하기 위한 IDO 억제제에는, 예를 들어 D-1MT(1-메틸-DL-트립토판(MT)의 D 이소폼), L-1MT(MT의 L 이소폼), MTH-Trp(메틸티오히단토인-dl-트립토판; IDO의 전사 억제제) 및 β-카볼린과 같은 트립토판 모방체, 나프토크논-기반 제제, S-알릴-브라시닌, S-벤질-브라시닌, 5-브로모-브라시닌과 같은 인돌 모방체 뿐만 아니라, 페닐이미다졸-기반 제제, 4-페닐이미다졸, 엑시구아민 A, 에파카도스타트, 로즈마린산, 노르하르만 및 NSC401366이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 일부 측면에서, IDO 억제제에는 INCB 024360(에파카도스타트; N'-(3-브로모-4-플루오로페닐)-N-하이드록시-4-[2-(설파모일아미노)에틸아미노]-1,2,5-옥사디아졸-3-카복시미다마이드), 인독시모드((2R)-2-아미노-3-(1-메틸인돌-3-일)프로판산), IDO 펩타이드 백신(코펜하겐 대학교) 및 NLG919(NewLink Genetics; 1-사이클로헥실-2-(5H-이미다조[5,1-a]이소인돌-5-일)에탄올)이 포함된다. 일부 측면에서, IDO 억제제는 대사 경로를 바람직하게 억제하며, 제한 없이 노르하르만 (Chiarugi A, et al., "Combined inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase and nitric oxide synthase modulates neurotoxin release by interferon-gamma-activated macrophages", Journal of Leukocyte Biology. 68 (2): 260-6. (2000). 참조), 로즈마린산(Lee H J, et al., "Rosmarinic acid inhibits indoleamine 2,3-dioxygenase expression in murine dendritic cells", Biochemical Pharmacology. 73 (9): 1412-21 (2007). 참조), COX-2 억제제(Cesario A, et al., "The interplay between indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) and cyclooxygenase (COX)-2 in chronic inflammation and cancer", Current Medicinal Chemistry. 18 (15): 2263-71 (2011)), 1-메틸트립토판(Hou D Y, et al., "Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells by stereoisomers of 1-methyl-tryptophan correlates with antitumor responses". Cancer Research. 67 (2): 792-801 (2007) and Chauhan N, et al., (April 2009), "Reassessment of the reaction mechanism in the heme dioxygenases". Journal of the American Chemical Society. 131 (12): 4186-7 (2009)), 예를 들어 특정 라세머 1-메틸-D-트립토판(인독시모드로 알려짐), 에파카도스타트(INCB24360), 나복시모드(GDC-0919)(Jochems C, et al., "The IDO1 selective inhibitor epacadostat enhances dendritic cell immunogenicity and lytic ability of tumor antigen-specific T cells", Oncotarget. 7 (25): 37762-37772. (2016). 참조) 및/또는 BMS-986205를 포함한다. 일부 측면에서, IDO 억제제는 노르하르만, 로즈마린산, COX-2 억제제, 1-메틸트립토판, 인독시모드, 에파카도스타트(INCB24360), 나복시모드(GDC-0919) 및/또는 BMS-986205로 구성된 군에서 선택된다.
- [0209] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 및 TIGIT 억제제를 포함한다. TIGIT 체크포인트 억제제는 바람직하게는 TIGIT와 폴리오바이러스 수용체(CD155)의 상호작용을 억제

하며, 제한 없이, 예를 들어 미국 특허 9,499,596(본원에 참조로 포함) 및 미국 특허 출원 공개 번호 2016/0355589, 2016/0176963(본원에 참조로 포함)에 개시된 것과 같은 인간 TIGIT를 표적으로 하는 항체 및 예를 들어 미국 특허 9,327,014(본원에 참조로 포함)에 개시된 것과 같은 폴리오바이러스 수용체 변이체를 포함한다.

[0210] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 ID01(인돌아민-2,3-디옥시게나제 1)의 길항제(예를 들어, 인독시모드(NLG8189, 1-메틸-D-TRP), 에파카도스타트(INCB-024360), KHK2455, PF-06840003(PCT 공개 번호 WO 2016/181348 A1), 피롤리딘-2,5-디온 유도체(PCT 공개 번호 WO 2015/173764 A1), 나복시모드(RG6078, GDC-0919, NLG919) 및 BMS-986205(F001287)); KIR(킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체)(예를 들어, 리릴루맘(I-7F9, BMS-980615 또는 IPH2101) 및 IPH4102(항-KIR3DL2 단일클론 항체); TDO(트립토판 2,3-디옥시게나제)(예를 들어, 4-(인돌-3-일)-피라졸 유도체(미국 특허 9,126,984 B2 및 미국 공개 2016/0263087 A1); 3-인돌 치환 유도체(PCT 공개 번호 WO 2015140717 A1, WO 2017025868 A1, WO 2016147144 A1), 3-(인돌-3-일)-피리딘 유도체(미국 공개 번호 20150225367 A1 및 PCT 공개 번호 WO 2015121812 A1); 이중 IDO/TDO(예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2015150097 A1, WO 2015082499 A2, WO 2016026772 A1, WO 2016071283 A1, WO 2016071293 A2 및 WO 2017007700 A1)에 개시된 소분자 이중 IDO/TDO 억제제); CD40(예를 들어, Lineage BMS3h-56(미국 특허 번호 9,475,879), 루카투무맘(HCD122 및 CHIR-12.12), CHIR-5.9 및 다세투주맘(huS2C6, PRO 64553, RG 3636, SGN 14, SGN-40)); 아데노신 A2a 수용체(A2aR)(예를 들어, CPI-444, PBF-509, 이스트라데필린(KW-6002), 프레라데난트(SCH420814), 토자데난트(SYN115), 비파데난트(BIIB014), HTL-1071, ST1535, SCH412348, SCH442416, SCH58261, ZM241385 및 AZD4635(소분자 A2aR 억제제)); CEACAM1(CD66a)(예를 들어, CM-24(MK-6018)); CEA(암태아 항원)(예를 들어, 세르구투주맘 아무날루킨(RG7813, RO-6895882), RG7802(RO6958688)); CD47(예를 들어, HuF9-G4, CC-90002, TTI-621, ALX148, NI-1701, NI-1801, SRF231 및 Effi-DEM); PVRIG(폴리오바이러스 수용체 관련 면역글로불린 도메인 함유, CD122R)(예를 들어, COM701); GARP(당단백질 A 반복 우성)(예를 들어, ARGX-115); CD80(예를 들어, 갈락시맘(IDEC-114) 및 AV 1142742(RhuDex); CD86; 및 CD96이다.

[0211] 일부 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 STING(IFN 유전자 자극제)의 작용제(예를 들어, 2' 또는 3'-모노-플루오로 치환 또는 2'3'-디-플루오로 치환 혼합 연결 2',5'-3',5' 사이클릭-디-뉴클레오타이드(PCT 공개 번호 WO 2017/075477 A1); 2'-플루오로 치환, 비스-3',5' 사이클릭-디-뉴클레오타이드 및 2',2'-디F-Rp,Rp,비스-3',5' 사이클릭-디-뉴클레오타이드(PCT 공개 번호 WO 2016/145102 A1); 및 플루오르화 사이클릭-디-뉴클레오타이드(PCT 공개 번호 WO 2016/096174 A1); 또는 CD20(예를 들어, RITUXAN[®] 및 ABP 798)이다.

[0212] 숙련된 사람이 알다시피, 상기 언급된 특정 항체에 대해 대체 및/또는 동등한 이름이 사용될 수 있다. 이러한 대체 및/또는 동등한 이름은 본 발명의 맥락에서 상호교환 가능하다.

[0213] **VI. 투여**

[0214] 항-클라우딘-1 항체, 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 항-클라우딘-1 CAR T-세포(임의로 하나 이상의 적절한 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제로 제형화한 후)는 원하는 투여량으로 이를 필요로 하는 대상체에게 임의의 적합한 경로를 통해 투여될 수 있다. 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체, 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 항-클라우딘-1 CAR T-세포는 상기 기술한 바와 같이 면역 체크포인트 억제제와 함께 투여된다. 정제, 캡슐, 주사용 용액, 리포솜 캡슐화, 미세입자, 미세캡슐 등을 포함한 다양한 전달 시스템이 알려져 있으며 항체를 투여하는 데 사용될 수 있다. 투여 방법에는 피부에, 피내, 근육내, 복강내, 병변내, 정맥내, 피하, 비강내, 폐내, 경막외 및 경구 경로가 포함되지만 이에 제한되지 않는다. 항-클라우딘-1 항체, 이의 생물학적 활성 단편, 항-클라우딘-1 CAR T 세포 또는 이의 약제학적 조성물 및 면역 체크포인트 억제제는, 예를 들어 주입 또는 볼러스 주사, 상피 또는 점막 내벽(예를 들어, 구강 점막, 기관지 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수와 같이 편리하거나 다른 적절한 경로로 투여될 수 있다. 투여는 전신적이거나 국소적일 수 있다. 당업자라면 알 수 있듯이, 항체가 추가 치료제(예를 들어, 면역 체크포인트 억제제)와 조합하여 투여되는 측면에서 항체 및 치료제는 동일한 경로(예를 들어, 정맥내) 또는 다른 경로(예를 들어, 정맥내, 경구 또는 피하)로 투여될 수 있다.

[0215] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체 또는 항-클라우딘-1 T-세포 및 면역 체크포인트 억제제는 종양내, 정맥내, 복강내, 근육내, 척추강내 또는 피하로 투여된다.

[0216] 일부 측면에서, 항-클라우딘-1 항체 또는 항-클라우딘-1 CAR T-세포는 면역 체크포인트 억제제를 투여하기 전에 투여된다.

- [0217] 일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체 또는 항-클라우드인-1 CAR T-세포 및 면역 체크포인트 억제제는 동시에 또는 순차적으로 투여된다.
- [0218] 일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체 또는 항-클라우드인-1 CAR T-세포 및 면역 체크포인트 억제제는 동일한 조성물로 투여된다.
- [0219] 일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체 또는 항-클라우드인-1 CAR T 세포 및 면역 체크포인트 억제제는 상이한 조성물로 투여된다.
- [0220] 항-클라우드인-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편(임의로 하나 이상의 적절한 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제로 제형화한 후) 또는 항-클라우드인-1 CAR T 세포는 전달되는 양이 의도된 목적에 유효한 용량으로 투여된다. 투여 경로, 제형 및 투여되는 용량은 원하는 치료 효과, 이미 존재하는 경우 치료할 상태의 심각도, 감염의 존재, 환자의 나이, 성별, 체중 및 일반적인 건강 상태뿐만 아니라 사용된 항체 또는 조성물의 효능, 생체이용률 및 생체내 반감기, 수반 치료법의 사용(또는 사용 안 함) 및 기타 임상적 요인에 따라 달라진다. 이러한 요인은 치료 과정에서 주치의가 쉽게 결정할 수 있다. 대안적으로 또는 추가적으로, 투여할 용량은 동물 모델(예를 들어, 비-인간 영장류 또는 설치류)을 사용한 연구에서 결정할 수 있다. 이러한 방법 또는 다른 방법을 기반으로 최대 효능을 달성하기 위해 용량을 조정하는 것은 해당 분야에서 잘 알려져 있으며 훈련된 의사의 역량 내에 있다. 항-클라우드인-1 항체 또는 항-클라우드인-1 CAR T 세포를 사용하여 연구를 수행함에 따라 적절한 용량 수준 및 치료 기간에 대한 추가 정보가 나타난다.
- [0221] 본 발명에 따른 치료는 단일 투여량 또는 다중 투여량으로 구성될 수 있다. 따라서, 항-클라우드인-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 항-클라우드인-1 CAR T-세포(또는 이의 약제학적 조성물)의 투여는 일정 기간 동안 일정하거나 주기적이고 특정 간격으로, 예를 들어 매시간, 매일, 매주(또는 다른 여러 날 간격으로), 매월, 매년(예를 들어, 시간 방출 형태로) 이루어질 수 있다. 대안적으로, 전달은 주어진 기간 동안 여러 번, 예를 들어 주당 2회 이상; 매월 2회 이상, 이와 유사한 방식으로 이루어질 수 있다. 전달은 일정 기간 동안 연속 전달, 예를 들어 정맥내 전달일 수 있다.
- [0222] 일반적으로, 항-클라우드인-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 항-클라우드인-1 CAR T-세포(또는 이의 약제학적 조성물)의 투여량은 바람직하게는 대상체의 체중 당 약 1 ng/kg 내지 약 100 mg/kg, 예를 들어 대상체의 체중 당 약 100 ng/kg 내지 약 50 mg/kg; 또는 대상체의 체중 당 약 1 μg/kg 내지 약 10 mg/kg, 또는 대상체의 체중 당 약 100 μg/kg 내지 약 1 mg/kg이다.
- [0223] **VII. 약제학적 조성물**
- [0224] 상기 언급된 바와 같이, 항-클라우드인-1 항체(및 관련 분자) 또는 항-클라우드인-1 CAR T-세포는 그 자체로 또는 약제학적 조성물로서 투여될 수 있다. 따라서, 본 발명은 유효량의 본원에 기술된 항-클라우드인-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일부 측면에서, 조성물은 또한 하나 이상의 추가적인 생물학적으로 활성인 제제를 포함한다. 일부 측면에서, 하나 이상의 추가적인 생물학적으로 활성인 제제는 면역 체크포인트 억제제이다.
- [0225] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 섬유성 종양을 가진 대상체에서 T 세포 매개 항종양 활성을 증진시키는 방법에 사용하기 위한 것이다.
- [0226] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 고형 종양을 가진 대상체에서 암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 것이다.
- [0227] 일부 측면에서, 약제학적 조성물은 섬유성 종양을 가진 대상체에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능을 증가시키는 방법에 사용하기 위한 것이다.
- [0228] 약제학적 조성물은 원하는 예방 및/또는 치료 효과를 달성하는 데 유효한 임의의 투여 경로를 사용하여 임의의 양으로 투여될 수 있다. 최적의 약제학적 제형은 투여 경로 및 원하는 투여량에 따라 달라질 수 있다. 이러한 제형은 투여된 활성 성분의 물리적 상태, 안정성, 생체내 방출 속도 및 생체내 클리어런스 속도에 영향을 미칠 수 있다.
- [0229] 본 발명의 약제학적 조성물은 투여의 용이성과 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제형화될 수 있다. 일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제는 함께 제형화된다. 일부 측면에서, 항-클라우드인-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제는 별도로 제형화된다. 그러나 조성물의 전체 1일 투여량은 건전한 의학적 판단의 범위 내에서 주치의가 결정할 것이라는 점이 이해될 것이다.

- [0230] **VIII. 키트**
- [0231] 다른 측면에서, 본 발명은 항-클라우딘-1 항체 또는 이의 생물학적으로 활성인 단편 또는 항-클라우딘-1 CAR T-세포를 투여할 수 있는, 발명적 약제학적 조성물의 하나 이상의 성분을 함유하는 하나 이상의 용기(예를 들어, 바이알, 앰플, 시험관, 플라스크 또는 병)를 포함하는 약제학적 팩 또는 키트를 제공한다.
- [0232] 약제학적 팩 또는 키트의 상이한 성분은 고체(예를 들어, 동결건조) 또는 액체 형태로 공급될 수 있다. 각 성분은 일반적으로 각각의 용기에 분주되거나 농축된 형태로 제공되는 것이 적합하다. 약제학적 팩 또는 키트는 동결건조된 성분을 재구성하기 위한 매체를 포함할 수 있다. 키트의 개별 용기는 상업적 판매를 위해 바람직하게는 밀폐된 상태로 유지된다.
- [0233] 일부 측면에서, 약제학적 팩 또는 키트는 상기 기술한 바와 같은 하나 이상의 추가 치료제(들)를 포함한다. 임의로 용기(들)와 관련된 것은 제조, 사용 또는 제약 또는 생물학적 생성물의 판매를 규제하는 정부 기관에서 규정한 양식의 공지 또는 패키지 삽입물일 수 있으며, 이러한 공지는 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매에 대한 기관의 승인을 반영한다. 패키지 삽입물 공지에는 본원에 개시된 치료 방법에 따라 약제학적 조성물을 사용하기 위한 지침이 포함될 수 있다.
- [0234] 식별자, 예를 들어 바코드, 무선 주파수, ID 태그 등이 키트 내부 또는 키트상에 있을 수 있다. 식별자는, 예를 들어 품질 관리, 재고 관리, 작업장 간 이동 추적 등의 목적으로 키트를 고유하게 식별하는 데 사용될 수 있다.
- [0235] 실시예
- [0236] 다음 실시예는 설명적이며 청구된 측면의 범위를 제한하지 않는다.
- [0237] **실시예 1. 종양 미세 환경에서의 클라우딘-1 발현**
- [0238] 높은 CLDN1 발현은 면역이 낮거나 비활성인 종양 미세 환경과 관련이 있다. mAb 처리에 의한 종양 세포 표현형의 변화는 종양 세포 분비체 및/또는 메탈로프로테이나제(metalloproteinase)의 변경에 의해 종양 미세환경에서 T-세포의 활성화로 이어진다(도 8a). 도 8b는 항-CLDN1 항체 투여가 종양 장벽을 부수고 종양 상태를 T 세포 배제에서 T 세포 침윤 허용으로 전환하는 데 도움이 되는 메커니즘을 보여준다.
- [0239] **실시예 2. 섬유성 종양 유형에서의 클라우딘-1 발현**
- [0240] 12가지 상이한 징후에서 1200개 초과 파라핀-임베딩된 종양 생검을 면역조직화학을 통해 염색하여 두경부 편평세포암(HNSCC), 대장직장암(CRC), 식도암, 편평 비소세포 폐암(Sq. NSCLC), 간내 담관암(iCCA), 간세포암(HCC) 및 요로상피암에서 클라우딘-1(CLDN1), T 세포 마커(CD3) 및 섬유증(시리우스 레드 염색)의 발현을 분석했다(도 9 참조). 샘플은 반-정량적 H-점수 방법을 사용하여 점수를 매겼고, 이 방법은 침습적 조직 구성요소 내에서 양성으로 염색된 종양 세포의 백분율과 강도의 합을 계산하며(음성 염색 = 0; 약한 염색 = 1+; 중간 염색 = 2+; 강한 염색 = 3+), 여기서 점수 0은 음성 염색을 나타내고, 점수 1-49는 낮은 발현을 나타내고, 점수 50-149는 중간 발현을 나타내고, 점수 150-300은 높은 발현을 나타낸다(예를 들어, Parris, Toshima Z et al., BMC cancer vol. 14:324 (2014) 참조).
- [0241] 슬라이드는 Roche Discovery Ultra 자동 염색기로 염색했다. 슬라이드는 60°C에서 1시간 동안 구운 다음 표준 자동 염색기 프로토콜을 사용하여 파라핀을 제거했다. 열-유도 에피토프 복구(HIER)는 Roche CC1(고 pH)을 사용하여 95°C에서 48분 동안 수행했다. 과산화효소 억제제를 적용했다. 1차 항체(항-CLDN1, Sigma-Aldrich HPA048319, 1:50)는 37°C에서 24분 동안 인큐베이션했다. 2차 항체인 Roche 항-토기 HQ는 37°C에서 8분 동안 인큐베이션한 다음 Roche 항-HQ HRP를 37°C에서 8분 동안 인큐베이션했다. DAB는 Roche ChromoMap DAB 키트를 사용하여 적용한 다음 Roche Hematoxylin II를 적용했다.
- [0242] 두경부 종양에서 60개의 샘플을 분석하였고 90%가 CLDN1 양성 종양으로 판명되었다(도 1a). 식도암 종양에서 40개의 샘플을 분석하였고 78%가 CLDN1 양성 종양으로 판명되었다(도 1b). 궁극적으로 CLDN1이 간암을 넘어 상이한 섬유성 종양에서 과발현된다는 것이 판명되었다.
- [0243] 또한, 데이터는 비-접합 CLDN1(NJ-CLDN1)이 고형 종양에서 자주 과발현된다는 것을 보여준다. 특히, 종양 세포에서의 CLDN1 발현은 섬유성 조직 환경으로의 T-세포 국소화와 양의 상관관계가 있다. T-세포 배제는 체크포인트 억제제(CPI)의 효능을 방해하는 것으로 설명된 메커니즘 중 하나이다.
- [0244] **실시예 3. 두경부 암에서의 클라우딘-1 발현 및 T-세포 배제**

- [0245] 두경부 암이 있는 대상체의 종양 조직 샘플을 얻었다. 면역조직화학을 사용하여 CLDN1과 CD3(섬유증과 "섬유성 트랩"을 나타냄)의 발현을 측정했다(도 2a). 분석된 종양 샘플의 90%가 CLDN1 양성이었다(도 2b). 도 2c는 다양한 수준의 CLDN1 발현을 가진 종양에 대한 면역 표현형의 분석을 보여준다. 면역 표현형은 뜨거운(hot)(간질과 암 세포 사이에 있는 면역 세포), 배제(종양 내에 있지만 간질에만 있는 면역 세포), 및 차가운(거의 보이지 않는 면역 세포)이다. 이 데이터는 T 세포 배제가 두경부암의 주요 면역 표현형이며, CLDN1 양성 종양의 30-80%가 T 세포 배제 표현형을 가지고 있음을 보여준다.
- [0246] **실시예 4. 식도암에서의 클라우딘-1 발현과 T 세포 배제**
- [0247] 식도암이 있는 대상체자의 종양 조직 샘플을 얻었다. 도 3a는 다양한 수준의 CLDN1 발현을 가진 종양의 면역 표현형을 보여준다. 면역 표현형은 뜨거운(간질과 암 세포 사이에 있는 면역 세포), 배제(종양 내에 있지만 간질에만 있는 면역 세포), 및 차가운(거의 보이지 않는 면역 세포)이다. 면역조직화학을 사용하여 CLDN1 발현(도 3b), T 세포 존재(도 3c), 섬유성 조직(도 3d)을 측정했다. 데이터를 종합해 보면 CLDN1 발현은 암에서 T 세포 배제와 상관관계가 있음을 알 수 있다.
- [0248] **실시예 5. 인간 세포의 루프를 보유한 마우스 클라우딘-1의 과발현은 생체내 간 마우스 종양 세포 Hepa1-6에서 면역 회피와 T 세포 배제를 유도한다.**
- [0249] 도 4a, 도 4b 및 도 5에 제공된 데이터는 생체내 면역 회피와 T 세포 배제를 유도하는 데 클라우딘-1의 과발현의 직접적인 역할을 보여준다. 야생형 Hepa 1-6 종양 세포(클라우딘-1 없음; 도 5, 사각형 마커가 있는 선)에서 종양은 시간이 지남에 따라 면역 체계에 의해 거부되는 반면, 클라우딘-1(클라우딘-1 hECL; 도 5, 삼각형 마커가 있는 선)의 과발현은 면역 회피와 종양 성장을 유도한다. 실험 종료 시(20일차) 채취한 종양 샘플에서 수행한 항-CD3(T 세포 마커) IHC 분석은 클라우딘-1이 발현되지 않은 경우(도 4a)와 비교하여 클라우딘-1(Cldn1 hECL)의 과발현이 어떻게 종양층에서 T 세포를 배제하고 기질에 축적하는지(도 4b)를 보여준다.
- [0250] **실시예 6. 항-클라우딘-1 항체를 사용한 암에서 체크포인트 억제제 내성 붕괴**
- [0251] 실시예 1-4에 제공된 데이터는 섬유증이 암에서 체크포인트 억제제 내성과 T 세포 배제의 공통 분모임을 보여준다. 본원에 기술된 것과 같은 항-클라우딘-1 항체는 섬유성 종양이 있는 대상체에게 투여된다. 항-클라우딘-1 항체는 직접적인 항섬유성 효과가 있어 T 세포 매개 항종양 활동을 증진한다. 중요한 점은, 흑색종(도 7a) 및 CLDN1 수치가 높은 두경부 편평세포암(도 7b)과 같은 종양은 체크포인트 억제제 aPD1에 잘 반응하지 않는다는 것이다. 항-클라우딘-1 항체는 마우스 CLDN1의 과발현이 생체내 면역 회피를 유도하는 간암의 Hepa1-6 상승작용 종양 모델에서 체크포인트 억제제 aPD1과 조합하여 투여된다. 또한, CLDN1의 높은 발현과 T 세포 배제가 확인된 두경부암의 환자-유래 이종이식(PDX) 모델을 사용하여 체크포인트 억제제 aPD1과 함께 항-클라우딘-1 항체를 투여하는 상승작용을 보여줄 것이다. 항-클라우딘-1 항체를 투여하는 동시에 또는 투여한 후에 면역 체크포인트 억제제를 투여하면 섬유성 종양에서 면역 체크포인트 억제제의 치료적 효능이 증가한다.
- [0252] 도 10a-10c의 데이터는 Hepa1-6 마우스 간 종양 세포에서 CLDN1의 과발현이 T 세포 배제 및 항-PD1 치료에 대한 내성을 증진했음을 보여준다. 중요한 점은 본 개시내용의 항-CLDN1 항체가 Hepa1-6 CLDN1+ 종양에서 T 세포 침윤과 항-PD1 효능을 모두 회복시켰다는 것이다. 도 10a는 종양 부피가 이소타입 대조군, 항-CLDN1 항체 단독 및 PD1 길항제 단독 코호트와 비교하여 항-CLDN1 항체 및 PD1 길항제 코호트에서 급격히 감소했음을 보여준다. 도 10b 및 도 10c는 항-CLDN1 항체 및 PD1 길항제 조합을 투여한 후 T 세포가 훨씬 더 많은 수로 CLDN1+ 종양에 성공적으로 침윤할 수 있었음을 보여준다.
- [0253] 기전적으로, NJ-CLDN1은 세포의 기질 리모델링에 관여하는 상이한 구성 요소와 상호작용하여 종양 등지에서 면역 세포를 배제하는 물리적 장벽을 구축한다. 항-CLDN1 항체는 CDLN1+ 종양 세포와 기질 사이의 계면을 교란하여 면역 세포 침윤을 회복하는 직접적인 항섬유성 효과를 가지고 있다.
- [0254] **실시예 7. 항-클라우딘-1 CAR T 세포 생성(예언적)**
- [0255] **T 세포의 단리 및 활성화**
- [0256] 환자는 일회용 튜빙 세트를 통해 말초 혈액을 움직이는 장치에 연결된다. 광학 센서로 유도되는 원심력은 원하는 세포 층을 단리하고 수집하기 위해 혈액을 적절한 밀도 대역으로 분리한다. 그런 다음 수집되지 않은 혈액 성분은 환자에게 반환된다. 또는, T 세포 수집 방법으로 체외채혈을 사용한다. 조작된 T 세포는 환자로부터 단리하여 동일한 개체에게 재도입하거나(자가 치료법) 기증자로부터 단리한 다음 상이한 개체에게 도입한다(이종 치료법). 수집된 세포는 냉동보관하거나 사전 동결 없이 처리한다. 단리된 세포는 임의로 양성 또는 음성 선택

을 위해 항체-접합 자기 비드를 사용하여 T 세포(특정 T 세포 하위 집합)를 농축하도록 처리한다. 예를 들어, T 세포는 CD62L, CD4 및 CD8의 발현을 기반으로 농축될 수 있다. 단리된 T 세포는, 예를 들어 가용성 항-CD3 항체 또는 고정화된 CD3 및 CD28 항체를 사용한 다클론 자극을 통해 활성화된다. CD3 및 CD28 항체는 조직 배양 플라스크를 코팅하여 고정화할 수 있다. 다이나비즈(Dynabeads)와 같은 상자성 비드도 이러한 항체로 코팅할 수 있고; 현탁액에서 코팅된 비드는 훨씬 더 큰 T 세포 배양에 적합한 자극을 제공한다. 최종 세포 생성물을 제형화하기 전에, 환자에게 주입하면 위험할 수 있으므로 비드를 제거한다. 교반을 통해 T 세포/비드 응집체를 파괴한 다음 현탁액을 강한 자기장에 통과시켜 비드를 유지하지만 세포는 흐르게 하여 제거한다. 대안적으로, 트랜잭트(Transact)와 같은 자극 시약을 사용하여 콜로이드 중합체 나노매트릭스에 접합된 인간화된 항-CD3 및 항-CD28 항체를 활용한다. 나노매트릭스는 최종 생성물 제형 전에 원심분리 단계에서 세척된다. 대안적으로, 자극 및 확장 후 세척하여 제거할 수 있는 하이드로겔 "자극 매트릭스" 통합한 항체를 사용하는 유사한 T-세포 자극 방법이 사용된다. 용해성 활성화 단백질, 지질 미세구조, 용해성 미세구체, 연결된 항체와 같은 다른 접근 방식도 단리된 T-세포를 활성화하는 데 사용될 수 있는 잠재적인 옵션이다.

[0257] **항-클라우딘-1 CAR 발현을 달성하기 위한 단리된 T 세포의 유전자 조작**

[0258] 활성화 후, T 세포는 항-클라우딘-1 CAR을 발현하도록 유전자 조작된다. 단리된 T 세포는 바이러스 시스템 또는 대안적으로 비-바이러스 시스템을 사용하여 유전자 조작된다. 플라스미드-기반 트랜스포존/트랜스포사제 시스템 및 예를 들어, 감마-레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 포함하되 이에 제한되지 않는 바이러스 벡터 및 게놈 편집(예를 들어, CRISPR/Cas9-기반 유전자 편집) 및 네이키드 DNA의 전기천공은 항-클라우딘-1 코딩 영역 및 관련 조절 서열 상에 단리된 T 세포로 유전자를 전달하는 데 적용된다.

[0259] **항-클라우딘-1 CAR T-세포의 확장**

[0260] 항-클라우딘-1 CAR을 발현하는 조작된 CAR T-세포는 표준 배양 기술 또는 관류 요법을 사용하여 영양소를 첨가하고 성장 억제 물질을 제거하여 제조 공정을 단순화하는 Xuri™ 세포 확장 시스템 및 WAVE™ 생물반응기 시스템과 같은 로킹 모션 생물반응기를 포함하는 대체 방법을 통해 시험관내에서 확장된다. 조작된 항-클라우딘-1 CAR T-세포는 또한 IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 및 IL-21을 포함하지만 이에 제한되지 않는 보충된 γ -사슬 사이토카인으로 자극된다. 임의로 항-클라우딘-1 CAR T-세포는 또한 GSK3 β , mTOR, AKT 및 PI3K를 포함하되 이에 제한되지 않는 특정 경로 억제제로 처리된다.

[0261] 항-클라우딘-1 CAR을 발현하는 조작된 CAR T 세포는 환자에게 투여하기 전에 품질 관리 테스트를 위해 냉동보존된다.

[0262] * * *

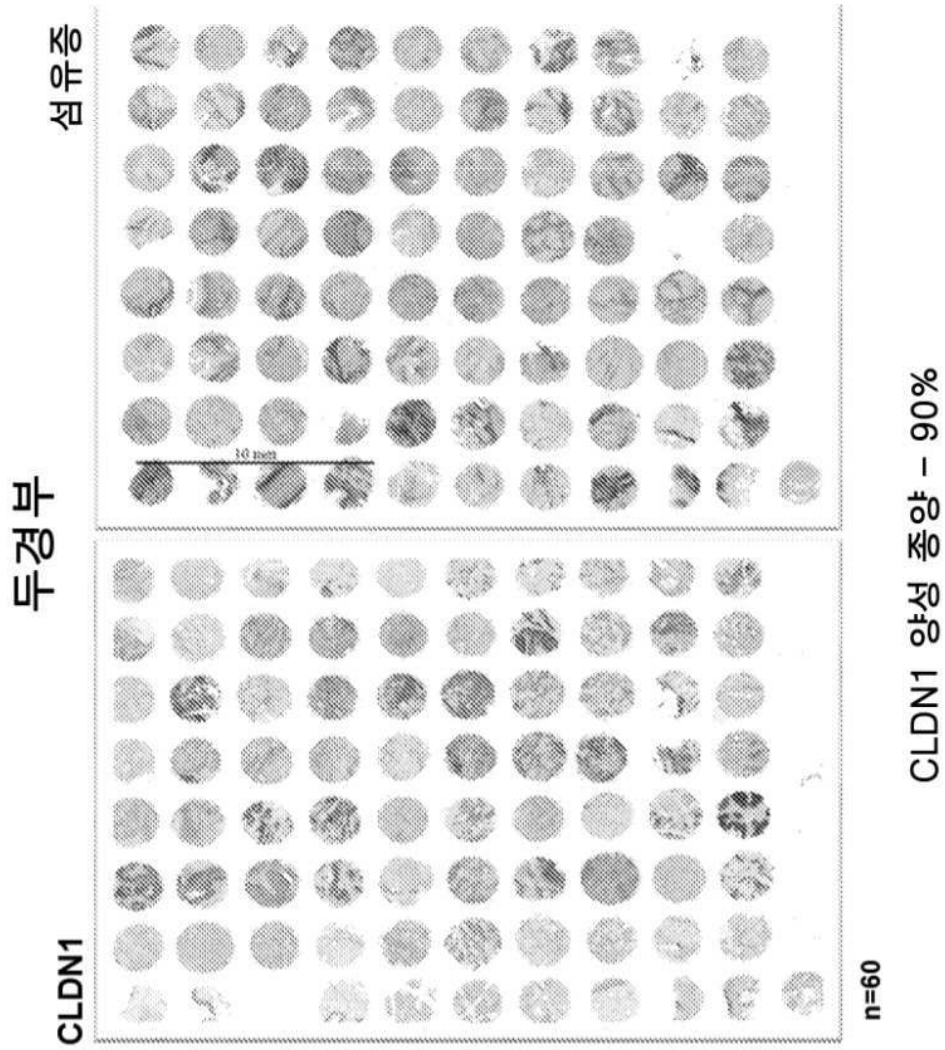
[0263] 본 개시내용의 실행은 달리 명시되지 않는 한, 당해 기술 분야의 기술 범위에 속하는 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 형질전환 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학의 기존 기술을 사용한다. 이러한 기술은 문헌에서 자세히 설명한다.

[0264] 위에 인용된 모든 참조문헌과 여기에 인용된 모든 참조문헌은 그 전체가 참조로 본원에 포함된다.

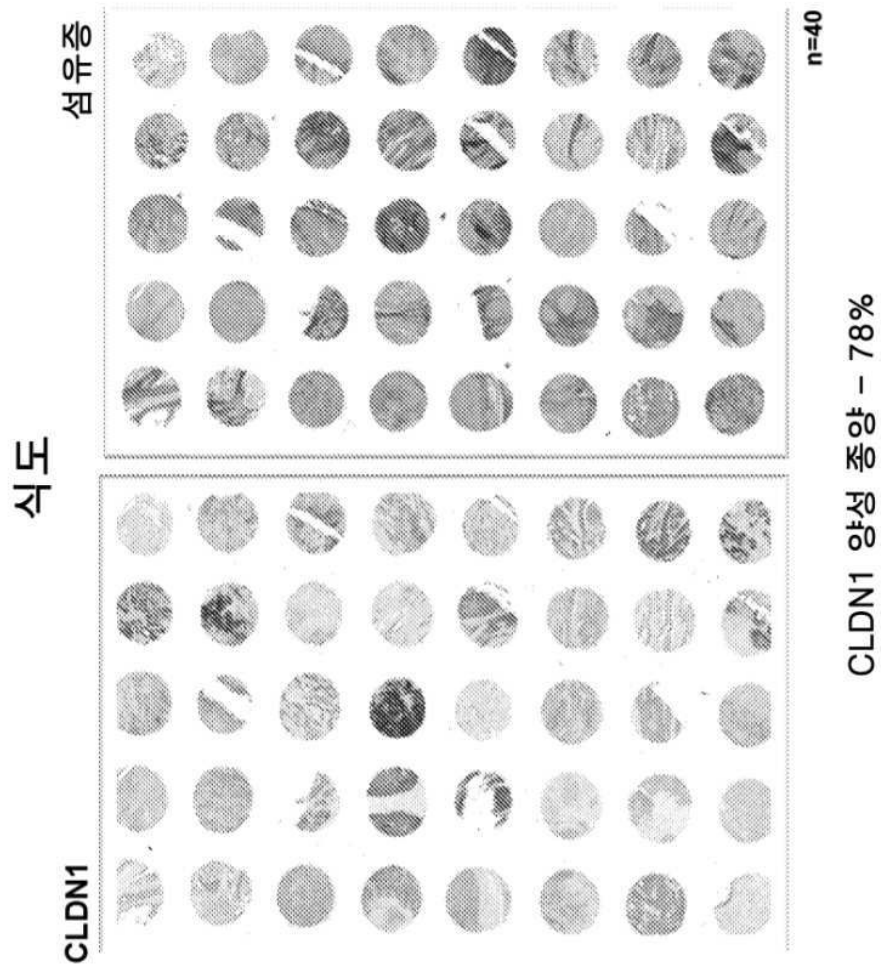
[0265] 본원에 제공된 임의의 실시예는 제한이 아닌 설명을 위해 제공된다.

도면

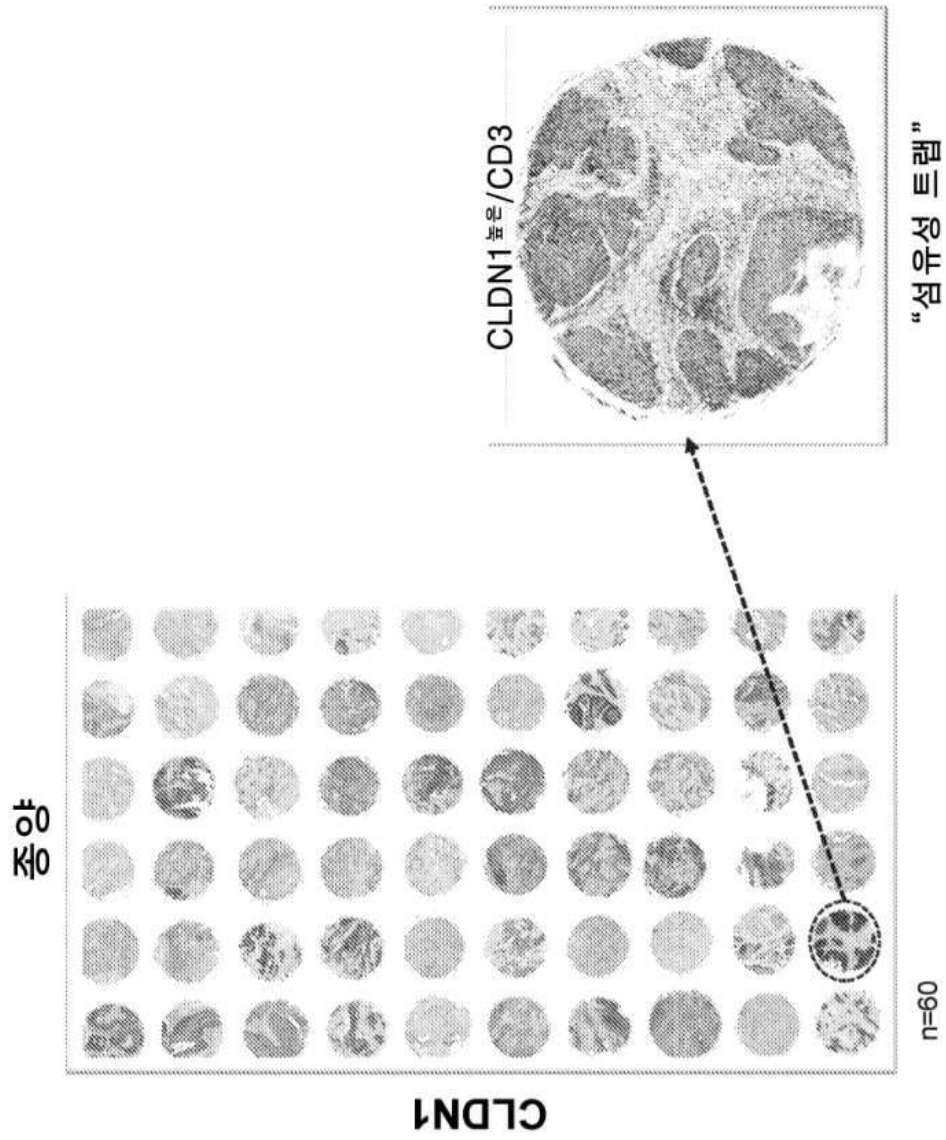
도면1a



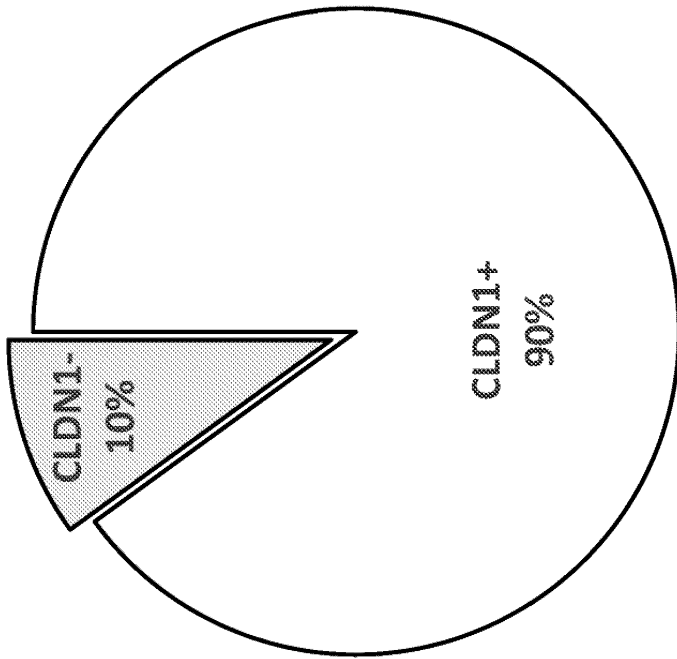
도면1b



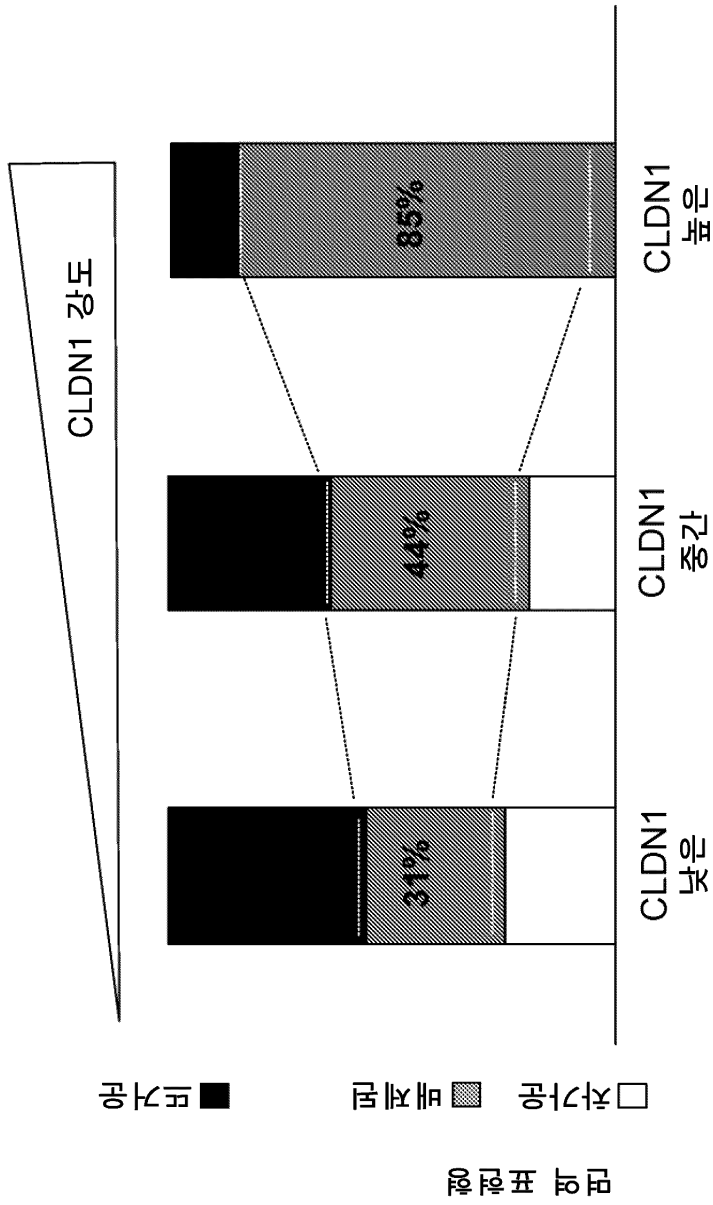
도면2a



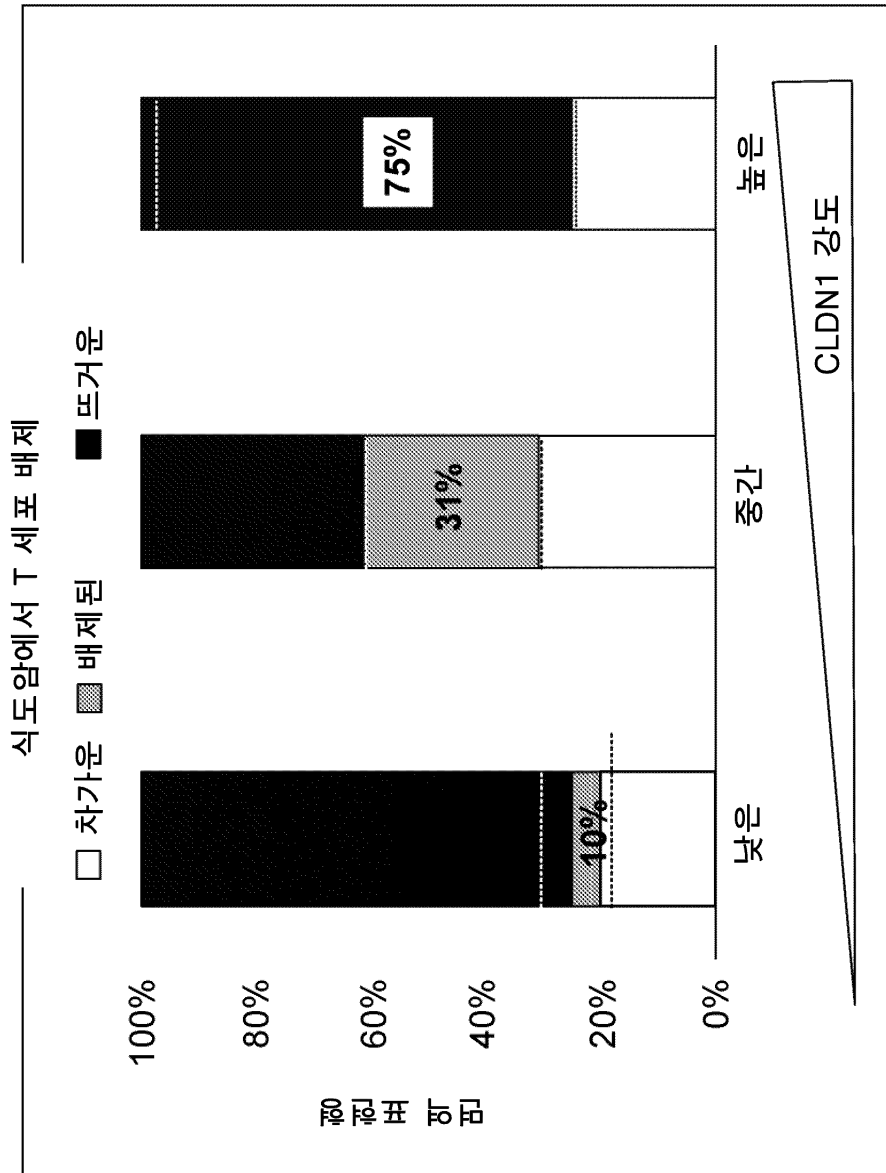
도면2b



도면2c

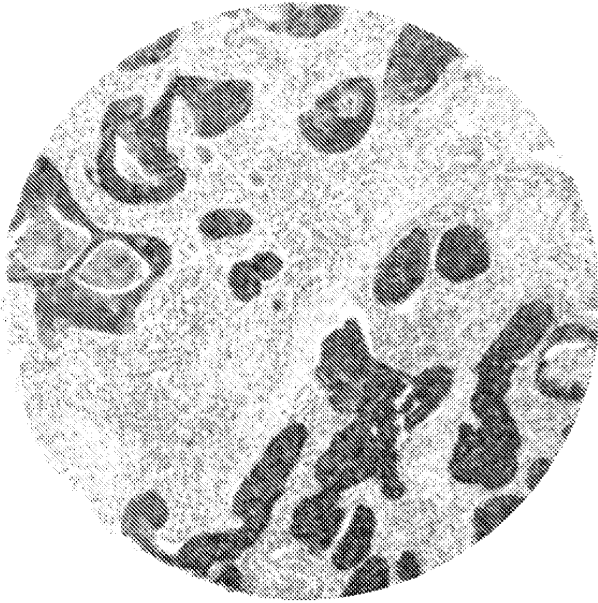


도면3a



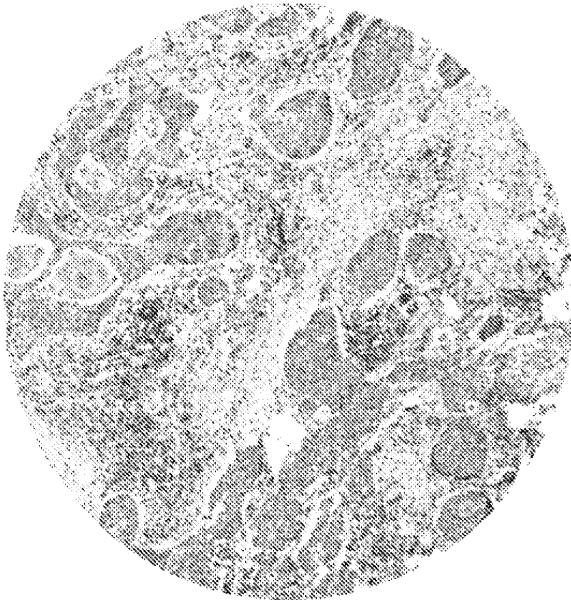
도면3b

CLDN1



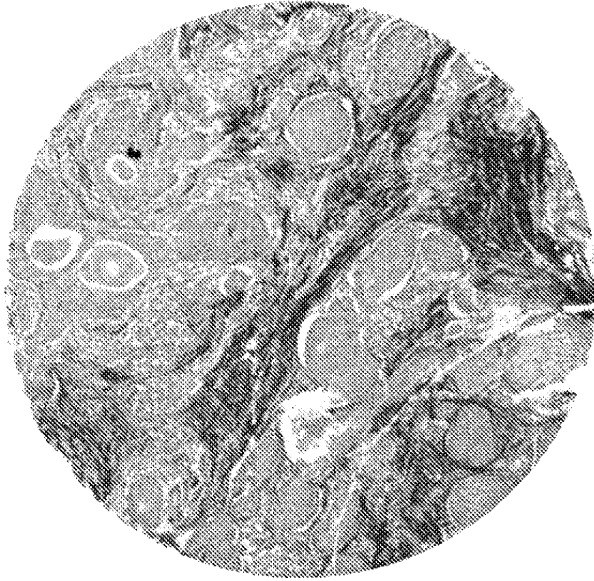
도면3c

T 세포

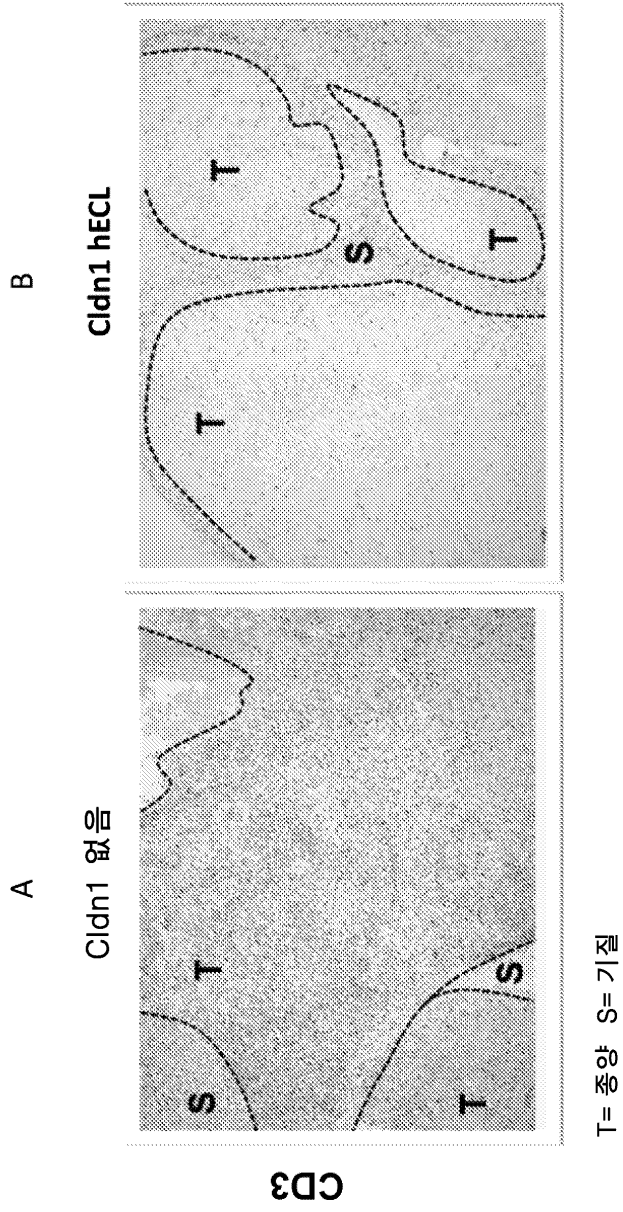


도면3d

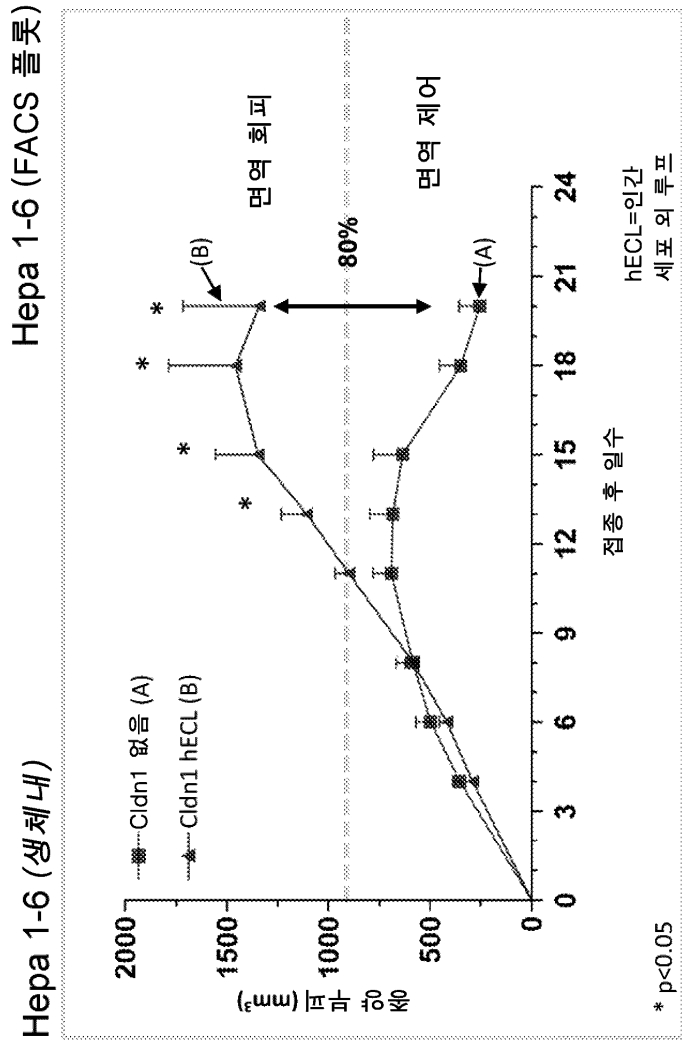
섬유성
조직



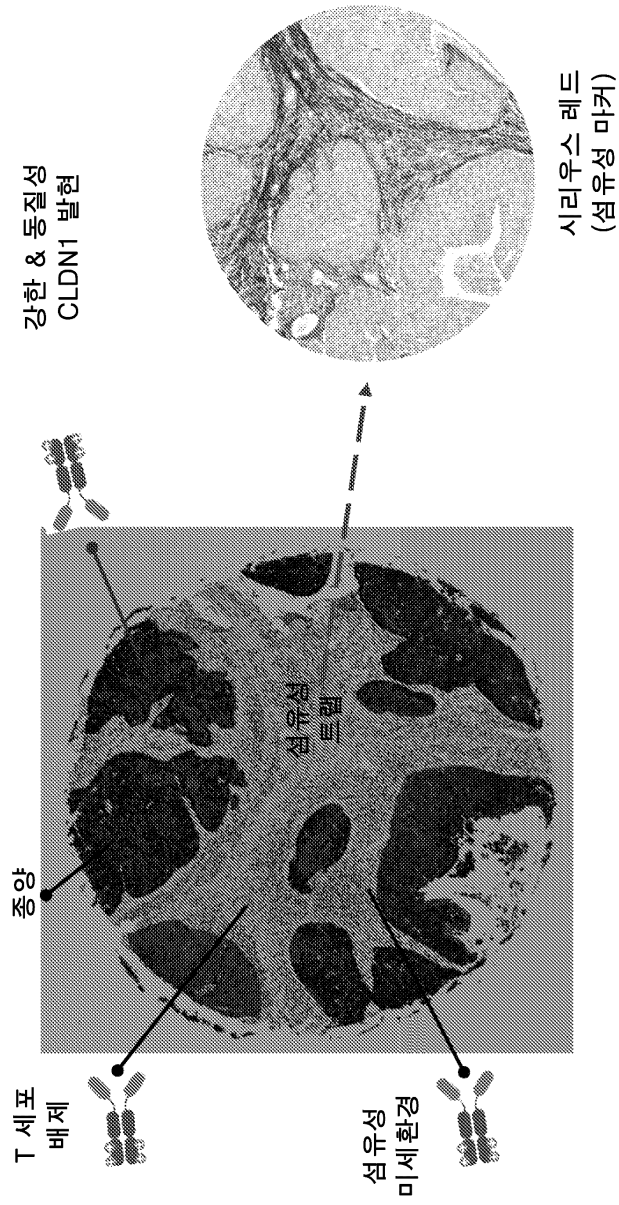
도면4



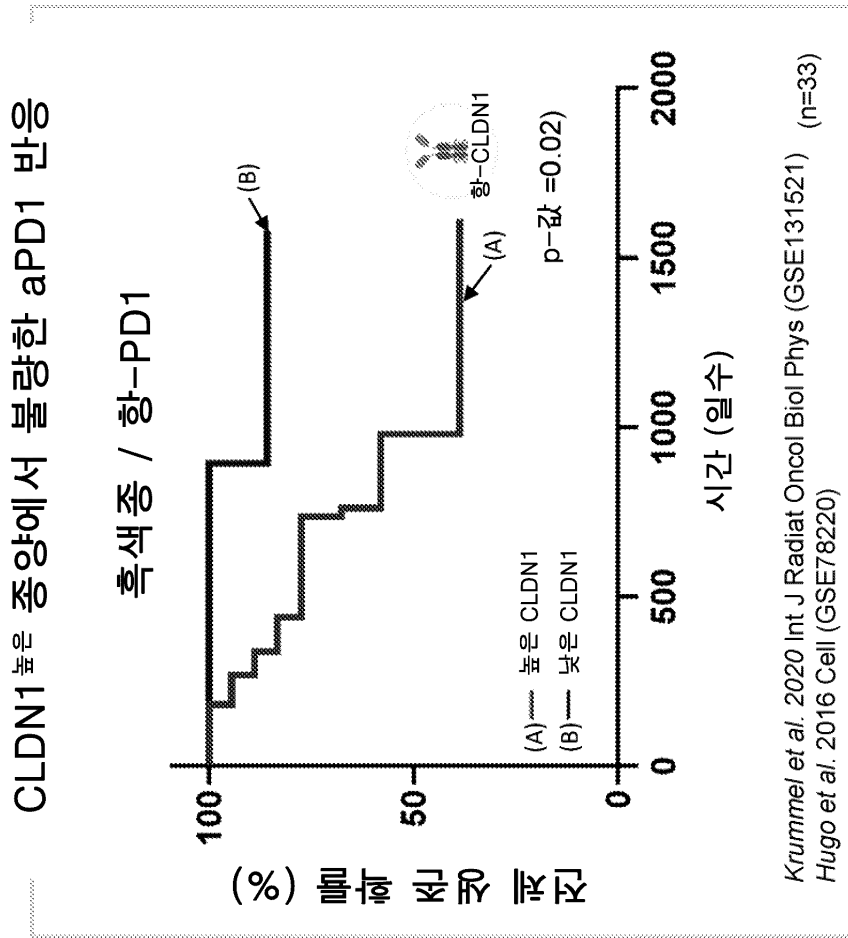
도면5



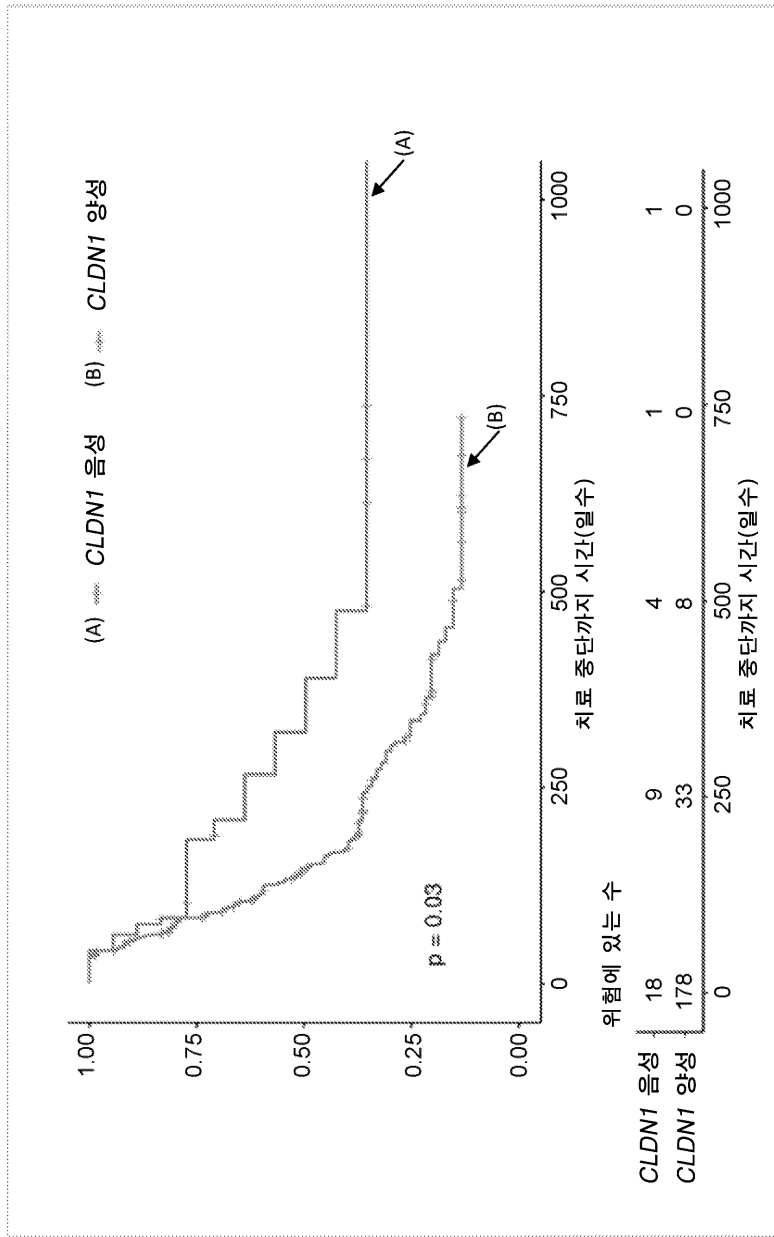
도면6



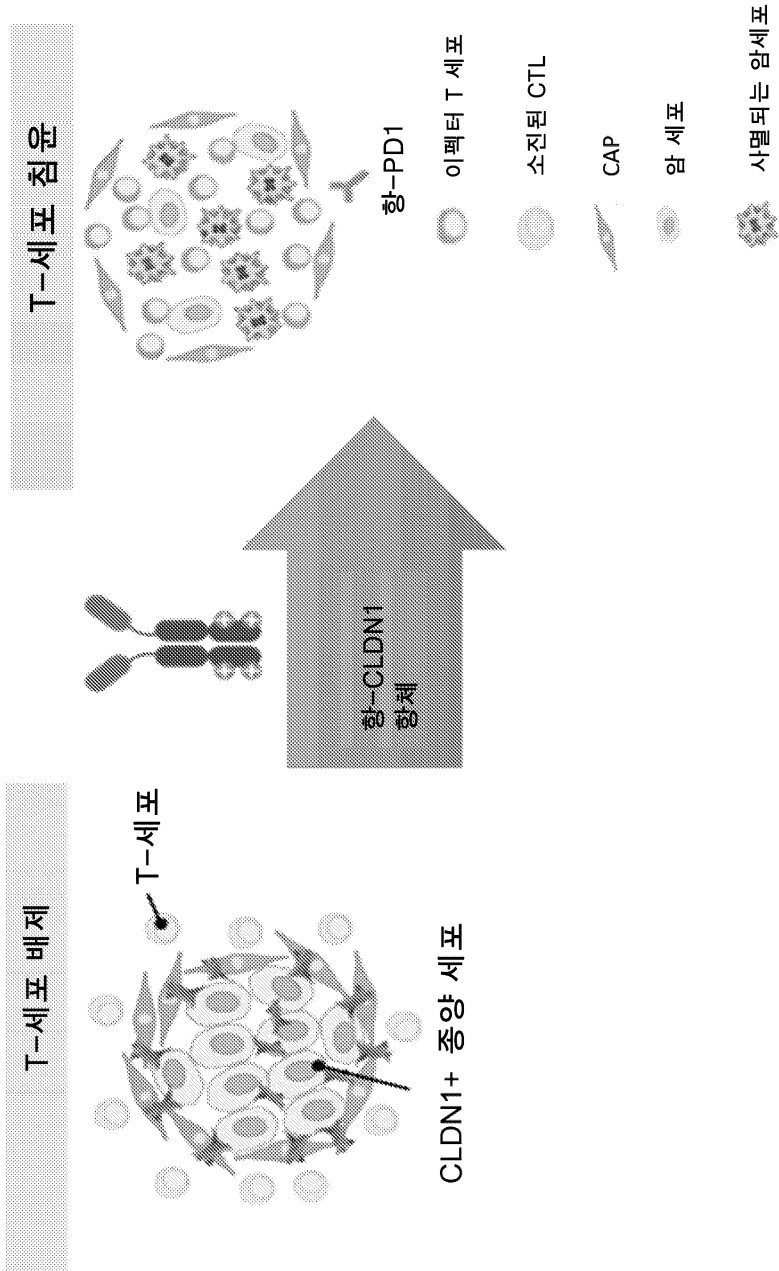
도면7a



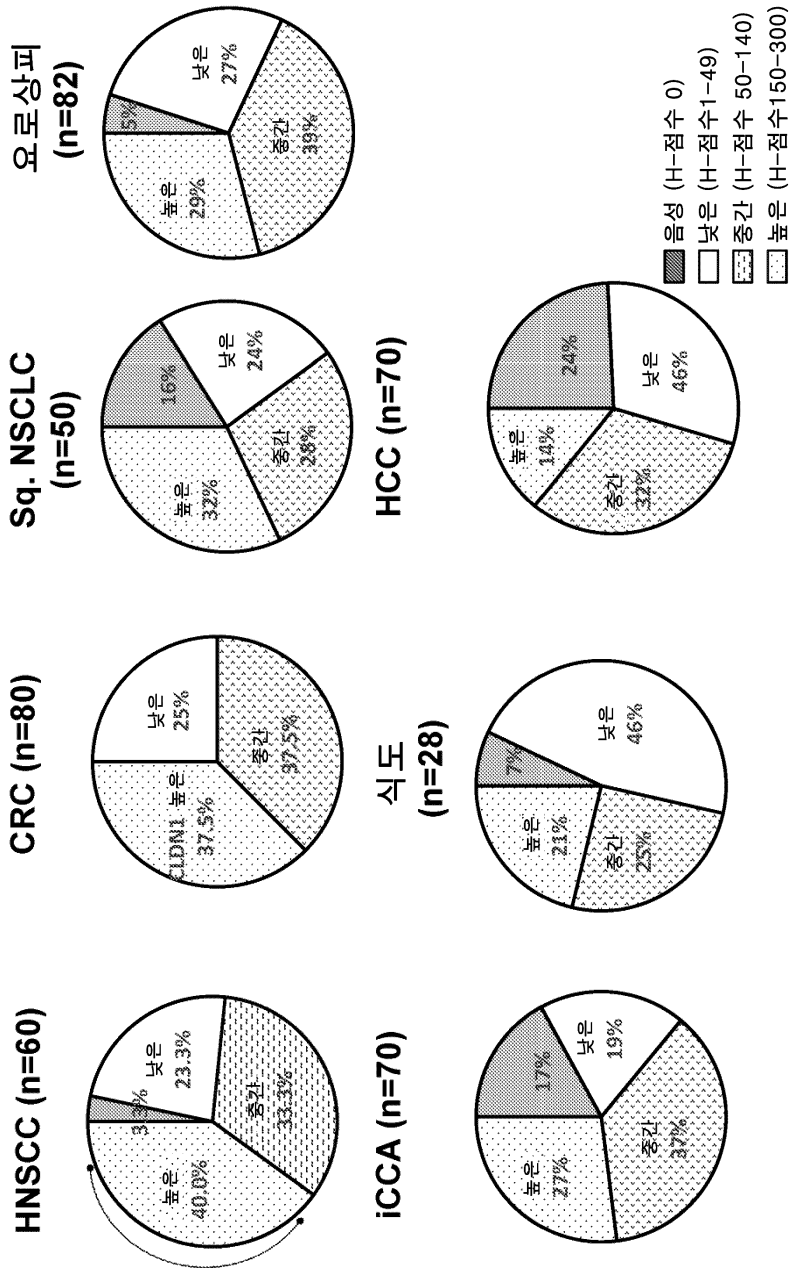
도면7b



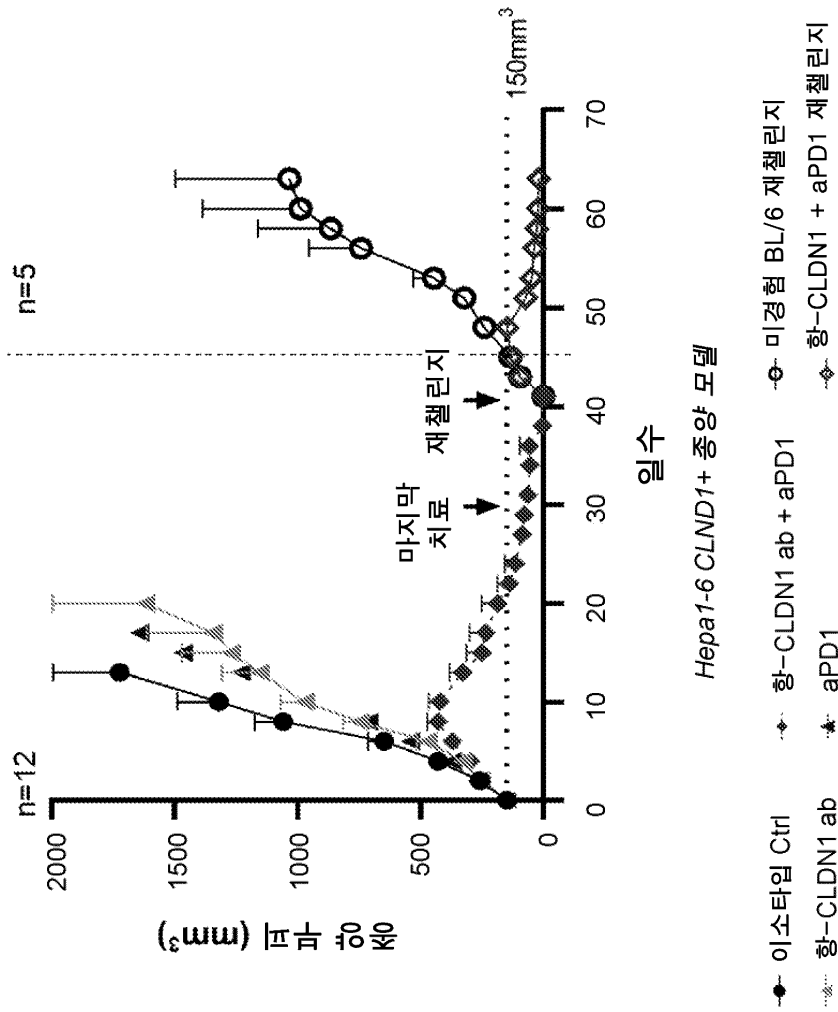
도면8b



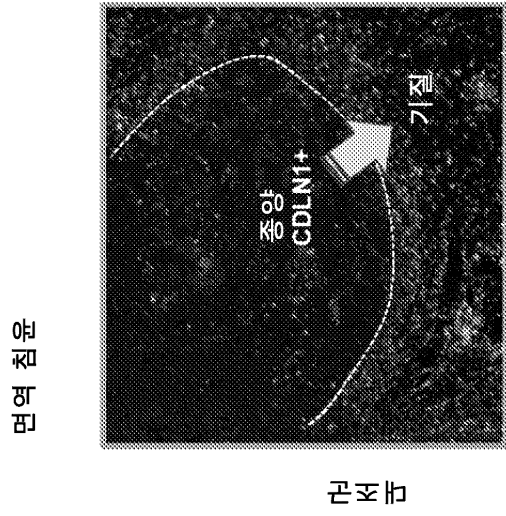
도면9



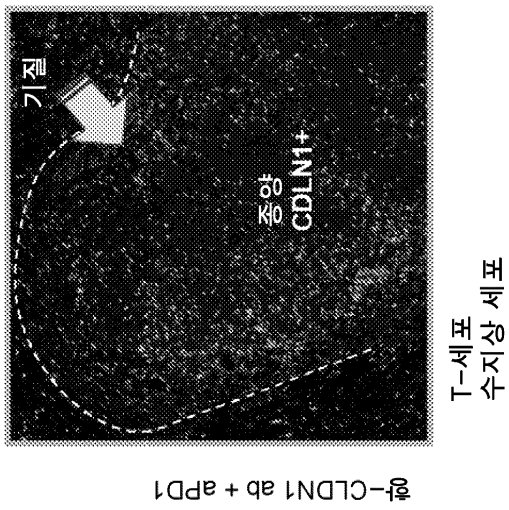
도면10a



도면10b



도면10c



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.