



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년02월28일  
(11) 등록번호 10-2772810  
(24) 등록일자 2025년02월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 39/385 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
C07K 14/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)  
C07K 7/06 (2006.01) C07K 7/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
A61K 39/385 (2013.01)  
A61K 39/0011 (2025.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7001421
- (22) 출원일자(국제) 2018년06월15일  
심사청구일자 2021년01월15일
- (85) 번역문제출일자 2020년01월15일
- (65) 공개번호 10-2020-0015943
- (43) 공개일자 2020년02월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/037737
- (87) 국제공개번호 WO 2018/232230  
국제공개일자 2018년12월20일
- (30) 우선권주장  
62/520,267 2017년06월15일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
US20030091574 A1\*  
(뒷면에 계속)

- (73) 특허권자  
캔서 어드밴시스 아이엔씨  
미국 27713-2220 노스캐롤라이나, 더럼, 사우스  
엘스톤 애비뉴 4364, 웨스트파크 코퍼레이트 센터
- (72) 발명자  
서턴, 린다  
미국, 27713-2220 노스캐롤라이나, 더럼, 사우스  
엘스톤 애비뉴 4364, 웨스트파크 코퍼레이트  
센터, 케이토 홀딩 컴퍼니  
스미스, 질, 피.  
미국, 17011 펜실베이니아, 캠프힐, 노스 30번가  
129  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
이희숙, 김석만

전체 청구항 수 : 총 23 항

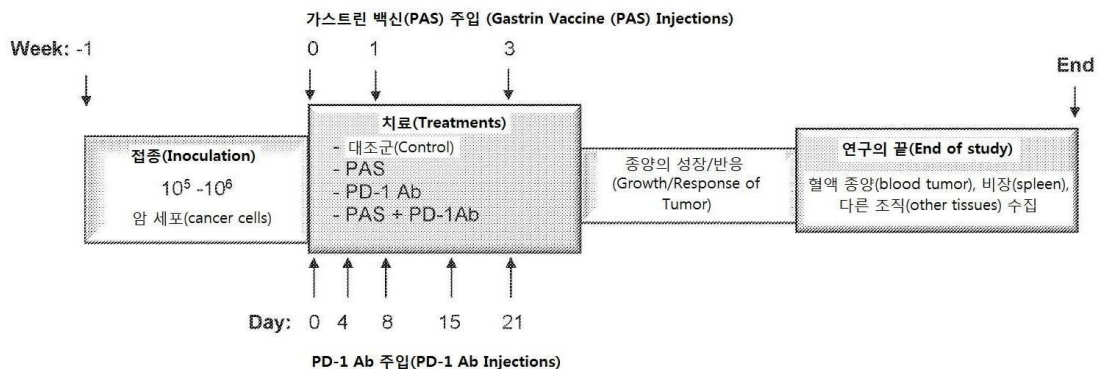
심사관 : 조경주

(54) 발명의 명칭 종양 및 암에 대한 체액성 및 세포 면역을 유도하기 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

체액성 및 세포성 면역 반응의 유도인자에 개체에서 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 감작시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 항-가스트린 항체, 가스트린 펩티드 및/또는 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 핵산을 갖는 조성물을 개체에 투여하는 것에 관한 것이다. 또한, 종양 및/또는 암과 관련된 섬유증의 형성을 예방, 감소 및/또는 제거하는 방법, 및 이를 필요로 하는 개체에게 개체에서 항-가스트린 체액성 또는 세포성 면역 반응을 제공 및/또는 유도하는 제1 제제 및 종양 및/또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 하나 이상의 자극제를 포함하는 제2 제제를 투여하는 것을 포함하는 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 치료하는 방법을 제공한다.

대표도



(52) CPC특허분류

*A61K 39/001102* (2025.01)  
*A61K 39/39541* (2013.01)  
*A61P 35/00* (2018.01)  
*C07K 14/00* (2013.01)  
*C07K 16/2818* (2013.01)  
*C07K 7/06* (2013.01)  
*C07K 7/08* (2013.01)  
*A61K 2039/6037* (2013.01)  
*A61K 2039/6081* (2013.01)

(72) 발명자

**오스본, 니콜라스**

미국, 27713-2220 노스캐롤라이나, 더럼, 사우스  
엘스톤 애비뉴 4364, 웨스트파크 코퍼레이트 센터,  
케이토 홀딩 컴퍼니

**후버, 브라이언, 이.**

미국, 27713-2220 노스캐롤라이나, 더럼, 사우스  
엘스톤 애비뉴 4364, 웨스트파크 코퍼레이트 센터,  
케이토 홀딩 컴퍼니

**케이토, 앨런**

미국, 27713-2220 노스캐롤라이나, 더럼, 사우스  
엘스톤 애비뉴 4364, 웨스트파크 코퍼레이트 센터,  
케이토 홀딩 컴퍼니

(56) 선행기술조사문헌

Pharmacol. Ther. 166: 9~29(2016.10. 공개) 1  
부.\*  
KR1020120135401 A  
US05607676 A  
US20160228561 A1  
US20160271239 A1  
W02016196935 A1

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

가스트린 펩티드에 대한 체액성 면역 반응을 유도하는 제1 제제의 유효량을 포함하는 제1 조성물로서, 상기 제1 제제는 링커(linker)를 통해 면역원성 담체(immunogenic carrier)에 접합된, 서열번호 1, 서열번호 2 및 서열번호 3으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열로 이루어진 가스트린 펩티드를 포함하는, 제1 조성물; 및 면역 체크포인트 억제제를 포함하는 제2 조성물;을 포함하는, 췌장 종양 또는 췌장암의 치료, 예방 또는 발달 억제용 조성물로서,

상기 면역 체크포인트 억제제는 세포독성 T-림프구 항원 4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(programmed cell death-1 receptor, PD-1), 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(programmed cell death 1 receptor ligand, PD-L1)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 면역원성 담체는 디프테리아 독소이드(diphtheria toxoid), 파상풍 독소이드(tetanus toxoid), 키홀-림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin), 및 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 링커는  $\epsilon$ -말레이미도 카프로 산 N-하이드록시숙신아미드 에스테르( $\epsilon$ -maleimido caproic acid N-hydroxysuccinamide ester)를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이서(amino acid spacer)에 의해 분리되는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 아미노산 스페이서는 1 내지 10 아미노산 길이인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 6

제4항에 있어서, 상기 아미노산 스페이서는 7 아미노산 길이인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 조성물은 보조제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, 상기 조성물은 오일-베이스 보조제(oil-based adjuvant)를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 9**

삭제

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

제1항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제는 이필리무맙(Ipilimumab), 트레멜리무맙(Tremelimumab), 니볼루맙(Nivolumab), 피딜리주맙(Pidilizumab), 펌브롤리주맙(Pembrolizumab), AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙(Atezolizumab), MPDL3280A, RG7446, R05541267, MEDI4736, 아벨루맙(Avelumab) 및 더발루맙(Durvalumab)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

제1항에 있어서, 상기 조성물은 췌장암 영역에서 발생한 섬유증(fibrosis)의 감소를 유도하거나 섬유증의 발생을 예방하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 15**

제1항에 있어서, 상기 제1 조성물, 제2 조성물 또는 이들 모두는 50 μg 내지 1000 μg, 50 μg 내지 500 μg, 100 μg 내지 1000 μg, 200 μg 내지 1000 μg, 및 250 μg 내지 500 μg으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 투여량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 16**

제15항에 있어서, 상기 투여량은 1회, 2회 또는 3회 반복 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 17**

제16항에 있어서, 제2회 투여는 제1회 투여 1주일 후에 투여되고, 제3회 투여는 제2회 투여 1주일 또는 2주일 후에 투여되는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 18**

가스트린 펩티드에 대한 체액성 면역 반응을 유도하는 제1 제제의 유효량을 포함하는 제1 조성물로서, 상기 제1 제제는 링커(linker)를 통해 면역원성 담체(immunogenic carrier)에 접합된, 서열번호 1, 서열번호 2 및 서열번호 3으로 이루어진 균에서 선택된 아미노산 서열로 이루어진 가스트린 펩티드를 포함하는, 제1 조성물; 및 면역

체크포인트 억제제를 포함하는 제2 조성물;을 포함하는, 췌장 종양 또는 췌장암의 영역에서 섬유증 형성의 예방, 감소 또는 제거용 조성물로서

상기 면역 체크포인트 억제제는 세포독성 T-림프구 항원 4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(programmed cell death-1 receptor, PD-1), 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(programmed cell death 1 receptor ligand, PD-L1)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 19**

제18항에 있어서, 상기 면역원성 단백질은 디프테리아 독소이드(diphtheria toxoid), 파상풍 독소이드(tetanus toxoid), 키홀-림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin), 및 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 20**

제18항에 있어서, 상기 링커는  $\epsilon$ -말레이미도 카프로 산 N-하이드록시숙신아미드 에스테르( $\epsilon$ -maleimido caproic acid N-hydroxysuccinamide ester)를 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 21**

제20항에 있어서, 상기 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이서에 의해 분리되는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 상기 아미노산 스페이서는 1 내지 10 아미노산 길이인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 23**

제21항에 있어서, 상기 아미노산 스페이서는 7 아미노산 길이인 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 24**

제18항에 있어서, 상기 제1 조성물은 보조제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 25**

제18항에 있어서, 상기 제1 조성물은 오일-베이스 보조제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 26**

삭제

**청구항 27**

제18항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 억제제는 이필리무맙(Ipilimumab), 트레멜리무맙(Tremelimumab), 니볼루맙(Nivolumab), 피딜리주맙(Pidilizumab), 펌브롤리주맙(Pembrolizumab), AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-

1105, 아테졸리주맵(Atezolizumab), MPDL3280A, RG7446, R05541267, MEDI4736, 아벨루맵(Avelumab) 및 더발루맵(Durvalumab)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 28**

삭제

**청구항 29**

가스트린 펩티드에 대한 체액성 면역 반응을 유도하는 제1 제제의 유효량을 포함하는 제1 조성물로서, 상기 제1 제제는 링커(linker)를 통해 면역원성 담체(immunogenic carrier)에 접합된, 서열번호 1, 서열번호 2 및 서열번호 3으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열로 이루어진 가스트린 펩티드를 포함하는, 제1 조성물; 및 면역 체크포인트 억제제를 포함하는 제2 조성물;을 포함하며, 상기 유효량은 개체에서 FoxP3<sup>+</sup> 억제 T-조절 세포의 수를 감소시키기에 충분한 양인, 가체장 종양 또는 체장암의 전이 예방, 감소 또는 제거용 조성물로서,

상기 면역 체크포인트 억제제는 세포독성 T-림프구 항원 4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(programmed cell death-1 receptor, PD-1), 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(programmed cell death 1 receptor ligand, PD-L1)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 출원은 2017년 6월 15일에 출원된 미국 가출원 제62/520,267호를 우선권으로 주장하고, 상기 명세서 전체는 본 출원의 참고문헌이다.

[0002] 본원에 기재된 주제는 종양 및 암에 대한 체액성 및 세포성 면역 모두를 유도하기 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 이를 필요로하는 개체에 가스트린 펩티드(gastrin peptide)에 대한 체액성 또는 세포성 면역 반응의 치료적 유도인자(therapeutic inducer) 및/또는 종양 또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 유도인자와 조합물을 투여하는 것이다.

**배경 기술**

[0003] 일반적으로 췌장관 선암(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)을 의미하는 췌장암은 몇몇 세포 성장 조절 경로에서 유전적 돌연변이의 연속적인 축적을 포함하는 복잡한 질병이다. 췌장 상피내 신생물(pancreatic intraepithelial neoplasia)에서 비교적 양성 질환(benign lesions)으로 시작하는 것 (PanIN; Hruban et al., 2008)은 다양한 비정상적 유전자 발현 패턴, 게놈 불안정성 및 궁극적으로 치료에 내성이 있는 침윤성 암으로 진행된다.

[0004] 조직학적으로, PDAC는 일반적으로 잘-분화되며 샘파리-관 변질 (acinar-ductal metaplasia), 면역 억제성 염증 세포의 존재, 세포 독성 T-세포의 결핍 및 밀도 섬유증 스트로마(dense fibrotic stroma)의 존재에 의해 정의된다. 이러한 증상은 광범위하게 변할 수 있으며 명백한 임상 증상 없이 발생할 수 있어, PDAC의 초기 진단이 드물다. PCAC 종양 스트로마는 섬유아세포(fibroblasts) 또는 췌장 성상세포(pancreatic stellate cells, PSCs)와 같은 중간엽세포(mesenchymal cell), 세포외 기질 단백질, 종양 주위 신경 섬유(peritumoral nerve fibers), 내피 세포(endothelial cells), 및 면역 세포(immune cells)로 이루어진다. 풍부한 섬유조직형성 효과를 생성하기 위해 기질 세포(stromal cells)에 영향을 미치는 특정 메커니즘은 성장 인자 활성화, 콜라겐 및 세포외 매트릭스 합성 및 분비(Zhang et al., 2007) 뿐만 아니라 혈관 및 사이토카인-매개 프로세스(cytokine-mediated processes)의 수많은 조절 인자의 발현(Hidalgo et al., 2012)을 포함한다.

[0005] 침습성 PDAC는 관내 암종 계열(carcinomas of ductal lineage)의 대다수(>85%)를 구성한다. PDAC는 조절되지 않은 침윤 및 초기 전이를 특징으로 한다. 관내 선암종(ductal adenocarcinoma)의 추정된 전구체는 선관내의 증식 변화(intraductal proliferative changes)와 궁극적으로 PanIN-1A에서 PanIN-3으로 일련의 신생 변형

(neoplastic transformations) 및 완전히 발달한 악성 암종(full-blown malignant carcinoma)을 겪는 PanIN 미세 병변(PanIN microscopic lesions)이다.

- [0006] PDAC의 중요한 특징은 종양 세포 표면에서 가스트린/콜레시스토키닌 수용체(gastrin/cholecystokinin receptor, CCK-B)의 비정상적인 발현(Smith et al., 1994) 뿐만 아니라 종양에 의한 높은 레벨의 가스트린의 발현(Prasad et al., 2005)이다. 가스트린(gastrin)(Smith, 1995) 및 콜레시스토키닌(cholecystokinin) (Smith et al., 1990; Smith et al., 1991) 단백질은 자가분비 메커니즘(autocrine mechanism)을 통해 췌장 종양 성장을 자극하고(Smith et al., 1996a; Smith et al., 1998b), 가스트린 발현의 억제(Matters et al., 2009) 또는 CCK-B 수용체 기능의 차단(Fino et al., 2012; Smith & Solomon, 2014)은 암 성장을 억제한다.
- [0007] 수년에 걸쳐 많은 암의 치료에서 인상적인 성공에도 불구하고, 비극적으로 PDAC에 대한 획기적인 치료제의 시장 승인에는 거의 성공하지 못하였으며(see Hidalgo, 2010; Ryan et al., 2014), 모든 위장 악성종양(gastrointestinal malignancies)의 가장 나쁜 예후를 나타낸다(Siegel et al., 2016). PDAC의 최근 5년 생존율은 약 6%로, 임의의 암 중 가장 낮다(Siegel et al., 2016).
- [0008] PDAC의 열악한 결과는 지난 30년 동안 변하지 않았다. 다중분야 진단 후 수술 및 화학 요법 및 방사선 요법이 최우선 치료법이다. 그러나, 소분자 화학요법 겐시타빈(gemcitabine) 및 5-플루오우라실(5-fluorouracil)을 기반으로 한 요법은 만족스러운 결과를 생성하지 않고 이러한 요법의 평균 생존율은 1년 미만이다(Hoff et al., 2011, Conroy et al., 2011).
- [0009] 열악한 생존율에 기여하는 요인은 초기 단계에서 이 질병을 진단할 수 없는 능력, 세포성 및 해부학적 종양 세포의 이질성, 높은 전이 속도, 및 약물 침투 및 노출을 억제하는 조밀한 섬유성 미세환경의 존재를 포함한다(Neesse et al., 2013). 접근할 수 없는 종양은 표준 화학요법 및 면역요법 제제에 대한 PDAC의 상대적 내성을 야기하고(Templeton & Brentnall, 2013) 이 치명적인 질환에 대한 나쁜 예후에 기여한다.
- [0010] 숙주 면역 반응은 PDAC의 냉담하고 공격적인 성질에 기여하는 또 다른 주요 요인이다. PDAC의 미세 환경에서 현저한 면역 세포는 항-종양 면역(anti-tumor immunity)을 지지하지 않는다(Zheng et al., 2013). 오히려, 이러한 세포(대식세포, T-조절(T-regulatory, T<sub>reg</sub>) 세포, 호중구 포함)은 실제로 종양 성장 및 침습을 촉진시킨다. 실제로, PDAC의 특징 중 하나는 면역 파괴(immune destruction)를 피하는 능력이다(Hanahan & Weinberg, 2011).
- [0011] PDAC를 포함하는 암은, 환자의 면역체계로부터의 공격을 벗어나고/나거나 패배시키기 위해 많은 도구를 사용한다(Pardoll, 2012; Weiner & Lotze, 2012) 종양 대사 환경(tumor metabolic milieu)의 성분은 이러한 반응을 조절하는 것으로 나타났다(Feig et al., 2012; Quante et al., 2013). 암 치료요법의 주요 돌파구는 면역 저항성의 메커니즘으로서 종양 세포에 의해 조절된 면역 체크포인트 경로의 발견과 함께 이루어졌다(Leach et al., 1996). 세포독성 T 림프구-관련 항원 4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4), 프로그램된 세포 사멸 단백질 1(programmed cell death protein 1, PD-1), 및 프로그램된 세포 사멸 리간드 1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)과 같은 체크포인트 경로에서 표적 단백질인 항체가 개발되었고 흑색종(melanoma), 비소세포성 폐암종(non-small cell lung carcinoma, NSCLC), 및 신장암(renal cancer)과 같은 일부 암에서 면역 저항성을 역전시키는데 임상적으로 효과가 있는 것으로 나타났다(Pardoll, 2012). 그러나, PDAC는 면역-억제 T 조절(T<sub>reg</sub>) 세포의 우위, CD8<sup>+</sup> 종양-침윤 효과 T 세포(CD8<sup>+</sup> tumor-infiltrating effector T cells)가 결핍하고, 열악한 혈관을 갖는 종양 미세환경을 특징으로 한다(Feig et al., 2012; Vonderheide & Bayne, 2013; Zheng et al., 2013), 조밀한 기질 환경의 섬유성 특성뿐만 아니라 혈류를 통한 접근성의 결핍은 기껏 PDAC가 항-PD-1 및 항-PD-L1 항체에 대해서만 반응하는 관찰을 부분적으로 설명한다(Brahmer et al., 2012, Zhang, 2018).
- [0012] PDAC 세포 표면의 체크포인트 리간드 PD-L1의 발현 수준은 면역 체크포인트 억제제 면역요법에 대한 반응의 또 다른 결정인자인 것으로 여겨진다(Zheng, 2017). 일부 연구는 낮은 수준의 PD-L1 발현이 면역 체크포인트 억제제에 대한 반응의 결핍과 관련이 있고(Soares et al., 2015), PD-1 또는 PD-L1 발현의 자극은 항-체크포인트 단백질 항체의 효과를 촉진시키는데 도움이 될 수 있다는 것(Lutz et al., 2014)을 제안하였다. PDAC의 다른 연구에서, PD-L1은 과반수의 종양 세포뿐만 아니라 많은 종양 샘플에서도 높게 발현되는 것을 발견하였다(Lu et al., 2017). 따라서, 면역 체크포인트 억제제 요법의 효과는 종양에서 PD-L1의 상태를 고려하고 PDAC-표적화 요법과 함께 PD-L1 발현을 조절하는 방법을 찾는 것으로서 잠재적으로 향상될 수 있다.
- [0013] 현재, PDAC의 치료를 위한 임상 시험은 항체 면역 체크포인트 억제제와 화학요법, 방사선, 케모카인 불활성화

(chemokine inactivation)(올라테시드(olaptesed)), 사이클린 의존성 키나아제 억제제(cyclin dependent kinase inhibition)(아메마시클립(abemaciclib)), TGF- $\beta$  수용체 I 키나아제 억제제(TGF- $\beta$  Receptor I kinase inhibitors)(갈루니세르팁(galunisertib)), 국소 부착 키나아제 억제제(focal adhesion kinase inhibitors)(디팩티닙(defactinib)), CSF1R 억제제(CSF1R inhibitors)(펙시다르티닙(Pexidartinib)), 비타민 D, 및 폴리 ADP 리보오즈 폴리머라제 억제제(Poly ADP ribose polymerase inhibitors)(니라파립(niraparib))을 조합하는 것을 포함한다. 이러한 연구는 PDAD 종양 미세환경에서 물리적 침투 및/또는 면역 세포 존재를 향상시킬 뿐만 아니라 면역 체크포인트 억제제 처리의 효과를 개선시킬 수 있는 제제를 조합하는 것을 목표로 한다. 최근 연구에서 (Smith et al., 2018), CCK-B 수용체 기능의 억제는 PDAC 섬유증을 감소시키고 항-PD-1 항체(Ab) 및 항-CTLA-4 Ab를 사용하는 항체 요법의 효과를 향상시켰다.

[0014] PDAC 종양의 복잡성이 정해졌을 때, 새로운 전략이 환자의 이질성에 걸쳐 PDAC 미세 환경의 면역 표현형을 변형하고, 화학- 및 면역-기반 요법 모두에 종양을 더 반응성을 만드는데 어떻게 사용될 수 있는지에 대한 더 깊은 이해가 필요하다.

[0015] 위암은 또 다른 치명적인 암이며, 위 선암종은 특히 모든 암의 가장 나쁜 예후 중 하나이며, 5년 생존율이 최대 30%이다(Ferlay et al., 2013). 이 악성 종양의 초기 검출은 찾기 힘들고 의도적인 검사 실행이 필요하며, 일반적으로 활용되지 않는다. 대부분의 진단은 이미 9-10 개월의 중간 생존율로 진행된 단계이다(Wagner et al., 2010; Ajani et al., 2017). 위암에 대한 현재 표준 케어는 적절한 때의 수술, 방사선 및/또는 5-플루오우라실과 같은 DNA 합성 억제제 및/또는 시스-백금(cis-platinum)과 같은 DNA 손상 제제에 의한 화학요법을 포함한다.

[0016] 일부 위암의 치료를 위한 표적 요법 또한 드러나기 시작했다. 인간 표피 성장 인자 수용체(human epidermal growth factor receptor 2, EGFR2)를 발현하는 조양은 화학 요법과 조합하여 트라스투주맙(trastuzumab)(Genentech, Inc., South San Francisco, California, United States of America에 의해 상표명 HERCEPTIN®으로 판매됨)으로 처리될 수 있다. 일부 위암은 또한 라무치루맙(ramucirumab)(Eli Lilly and Company, Indianapolis, Indiana, United States of America에 의해 상표명 CYRAMZA®으로 판매됨)과 같은 항-혈관형성 약물(anti-angiogenesis drugs)에 반응한다. 이런 일반적인 악성 종양에 대한 나쁜 예후를 개선하기 위해서는 추가적인 표적 요법이 급히 요구된다.

[0017] 위 선암종은 일반적으로 CCK-B 수용체로 불리는 가스트린 수용체(Smith et al., 1998a; McWilliams et al., 1998) 뿐만 아니라 가스트린을 과발현하고, CCK-B에 결합할 때 가스트린-매개 증식 효과는 이러한 종양에서 조절되지 않은 성장 및 발현의 자가분비 사이클(autochrine cycle)을 야기한다. 이 암에 대한 요법의 수단으로서 가스트린의 기능을 차단하는 것은 수년 동안 연구의 포커스였다(reviewed in Rai et al., 2012). 표적 요법의 후보자 중, 가스트린 백신 폴리클로날 항체 자극제(Polyclonal Antibody Stimulator, PAS)는 2상 임상 시험에서 위암 및 2상 및 3상 임상 시험에서 췌장암의 생존율을 개선시키는데 상당한 가능성을 나타냈다. PAS 백신접종은 가스트린에 대한 중화 항체의 생성에 의해 입증된 바와 같이 체액성 면역 반응을 유발하는 것으로 나타났다. 가스트린을 제거함으로써, 상기 백신은 종양 성장을 느리게 하고 장기적인 종양 사멸 활성을 제공하는 잠재성을 가지고 있다.

[0018] 특정 종양 항원에 대한 면역 반응을 일으키는 암 백신은 표적 항원의 면역-매개 고정화 또는 불활성화가 신체의 다른 곳에 해로운 영향을 미치지 않을 때 매력적인 치료 전략이다. 펩티드 백신은 면역 반응의 특이성을 줄일 수 있는 잠재적인 이점을 갖지만, 때때로 약한 면역원성(immunogenicity)을 유발하는 단점을 가질 수 있다. 펩티드 조성물의 신중한 선택뿐만 아니라 보조제 분자 및 전달 시스템의 도입은 강력한 면역 반응을 보장할 뿐만 아니라 원하는 면역 경로의 유도를 개시하는데 필요할 수 있다. 9-11개 아미노산만큼 짧은 펩티드는 특정한 CD8<sup>+</sup> T 세포-매개 반응을 생성할 수 있으나, 에피토프에서 심지어 하나의 아미노산의 변화가 반응을 예방할 수 있다(Gershoni et al., 2007). 펩티드에 포함된 에피토프의 선택은 CD4<sup>+</sup> 헬퍼 T 세포(CD4<sup>+</sup> helper T cells)를 유도하기 위한 MHC 클래스 II 에피토프 및 헬퍼 T 세포와 CD8<sup>+</sup> 세포독성 T 림프구를 유도하기 위한 MHC 클래스 I CD8 에피토프를 포함하여 원하는 면역 반응 유형의 고려를 요구한다(Li et al. al., 2014).

[0019] 면역 체크포인트 억제제와 조합된 PAS와 같은 가스트린 펩티드 백신의 조합은 가스트린 펩티드 호르몬에 의해 성장 자극되는 암에서 결과를 개선시키기 위한 신규 접근법을 나타낸다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0020] 이 요약은 본원에 기재된 주제의 몇몇 실시양태들을 열거하고, 많은 경우에 이들 실시양태들의 변형 및 치환을 나열한다. 이 요약은 단지 수많은 다양한 실시양태들의 예시일 뿐이다. 주어진 실시양태의 하나 이상의 대표적인 특징의 언급도 마찬가지로 예시적이다. 이러한 실시양태는 전형적으로 기재된 특징(들)과 함께 또는 특징(들)없이 존재할 수 있다; 마찬가지로, 이러한 특징들은 본 요약에 기재되어 있는지의 여부에 관계없이 본원에 기재된 주제의 다른 실시양태들에 적용될 수 있다. 과도한 반복을 피하기 위해, 이 요약에서는 이러한 기능의 가능한 모든 조합을 나열하거나 제안하지 않는다.
- [0021] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 가스트린 펩티드 및/또는 CCK-B 수용체 및 면역 체크 포인트 억제제에 대한 활성 및/또는 수동적 체액성 면역 반응을 유도 및/또는 제공하는 제1 제제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 가스트린 펩티드, 항-가스트린 항체 및 항-CCK-R 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 및 EGPWLEEEEEAYGWDMF(서열번호 4)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어진 가스트린 펩티드를 선택적으로 포함한다. 일부 실시양태에서, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기(pyroglutamate residue)이다.
- [0022] 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 선택적으로 링커를 통해, 면역원성 담체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 면역원성 담체는 디프테리아 독소이드(diphtheria toxoid), 파상풍 독소이드(tetanus toxoid), 키홀-림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin) 및 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 링커는 ε-말레이미도 카프로 산 N-하이드록시 숙신아미드 에스테르(ε-maleimido caproic acid N-hydroxysuccinamide ester)를 포함한다.
- [0023] 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이스에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이스는 1 내지 10 개 아미노산 길이이고, 추가로 아미노산 스페이스는 7 개 아미노산 길이이다.
- [0024] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 약학적 조성물은 보조제, 선택적으로 오일계 보조제(oil-based adjuvant)를 추가로 포함한다.
- [0025] 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 세포 독성 T- 림프구 항원 4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(programmed cell death-1 receptor, PD-1) 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(programmed cell death 1 receptor ligand, PD-L1)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 이필리무맙(Ipilimumab), 트레멜리무맙(Tremelimumab), 니볼루맙(Nivolumab), 피딜리주맙(Pidilizumab), 펌브롤리주맙(Pembrolizumab), AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙(Atezolizumab), MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736, 아벨 루맙(Avelumab) 및 두라발루맙(Durvalumab)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0026] 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암은 췌장암이다.
- [0027] 본원에 기재된 약학적 조성물의 일부 실시양태에서, 제1 제제는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3), 및 EGPWLEEEEEAYGWDMF(서열번호 4)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 필수적으로 구성되거나, 또는 아미노산 서열로 구성되는 가스트린 펩티드의 양을 포함하며, 항-가스트린 체액성 반응 및 제2 제제는 가스트린-관련 종양 또는 암을 가지고 있는 개체에게 투여될 때 가스트린-관련 종양 또는 암에 대한 세포성 면역 반응을 유도하거나 향상시키는데 효과적인 면역 체크 포인트 억제제의 양을 포함한다. 일부 실시양태에서, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다.
- [0028] 본원에 기재된 약학적 조성물의 일부 실시양태에서, 제1 제제는 하나 이상의 항-CCK-B 수용체 항체를 포함하고, 가스트린-관련 종양 또는 암을 갖는 개체에게 투여될 때 가스트린-관련 종양 또는 암에 존재하는 CCK-B 수용체를 통한 가스트린 신호 전달을 감소시키거나 억제하기에 충분한 양으로 약학적 조성물 중에 존재한다.
- [0029] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 또한 개체에서 가스트린-관련 종양 또는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린 펩티드 및/또는 CCK-B 수용체에 대한 활성 및/또는 수동적 체액성 면역 반응을 유도 및/또는 제공하는 제1 제제 및 가스트린-관련 종양 또는 암에 대한 세포성 면역 반응을 유도 및/또는 제공하는 제2 제제를 포함하는 조성물의 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시

양태에서, 제1 제제는 가스트린 펩티드, 항-가스트린 항체 및 항-CCK-R 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3), 및 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 필수적으로 구성되거나, 또는 아미노산 서열로 구성되는 가스트린 펩티드를 선택적으로 포함한다. 일부 실시양태에서, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 선택적으로 링커를 통해 면역원성 담체에 접합되며, 일부 실시양태에서 디프테리아 독소이드(diphtheria toxoid), 파상풍 독소이드(tetanus toxoid), 키홀-림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin) 및 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)으로 이루어진 군으로부터 선택 될 수 있다. 일부 실시양태에서, 링커는 ε-말레이미도 카프로 산 N-하이드록시숙신아미드 에스테르를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이스에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이스는 1 내지 10 개 아미노산 길이고, 추가로 아미노산 스페이스는 7 개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, 상기 조성물은 보조제, 선택적으로 오일계 보조제를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 유도제는 면역 체크 포인트 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 세포 독성 T- 림프구 항원 4(CTLA4), 프로그램된 세포 사멸 -1 수용체(PD-1) 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(PD-L1)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 이필리무맙(Ipilimumab), 트레멜리무맙(Tremelimumab), 니볼루맙(Nivolumab), 피딜리주맙(Pidilizumab), 펌브롤리주맙(Pembrolizumab), AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙(Atezolizumab), MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736, 아벨루맙(Avelumab) 및 두라발루맙(Durvalumab)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0030] 현재 개시된 방법의 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암은 췌장암이다. 일부 실시양태에서, 조성물은 췌장암과 관련된 섬유증의 감소를 유도 및/또는 발달을 예방한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 약 50 μg 내지 약 1000 μg, 약 50 μg 내지 약 500 μg, 약 100 μg 내지 약 1000 μg, 약 200 μg 내지 약 1000 μg, 및 약 250 μg 내지 약 500 μg로 이루어진 군으로부터 선택된 투여량으로 투여되고, 선택적으로 상기 투여량은 1 회, 2 회 또는 3 회 반복되며, 선택적으로 제2 투여량은 제1 투여량 1 주일 후에 투여되고, 제3 투여량은, 투여되는 경우에, 1 또는 2 주 후에 투여된다.

[0031] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 또한 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 이를 필요로 하는 개체에게 종양 및/또는 암에서 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 억제하는 제1 제제 및 종양 및/또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 자극제를 포함하는 제2 제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 가스트린 펩티드에 대한 체액성 면역 반응을 제공 및/또는 유도함으로써 종양 및/또는 암에서 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 억제하며, 선택적으로 상기 제제는 개체에서 중화 항-가스트린 항체의 생성을 유도하는 항-가스트린 항체 및 가스트린 펩티드로 이루어진 그룹으로부터 선택되며; 및/또는 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-가스트린 항체는 가스트린-17 (G17) 내에 존재하는 에피토프에 대한 항체이다. 일부 실시양태에서, 상기 에피토프는 아미노산 서열 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 또는 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4) 내에 존재한다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 및 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 면역원성 담체, 선택적으로 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 키홀-림펫 헤모시아닌 및 소 혈청 알부민으로 이루어진 군으로부터 선택된 면역원성 담체에 접합된 가스트린 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 링커, 선택적으로 ε-말레이미도 카프로 산 N-하이드록시숙신아미드 에스테르를 포함하는 링커를 통해 면역원성 담체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이스에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이스는 1 내지 10 개 아미노산 길이고, 추가로 아미노산 스페이스는 7 개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 보조제, 선택적으로 오일계 보조제를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 제제는 면역 체크 포인트 억제제이다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 세포 독성 T- 림프구 항원 4(CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(PD-1) 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(PD-L1)로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 이필리무맙, 트레멜리무맙, 니볼루맙, 피딜리주맙, 펌브롤리주맙, AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙, MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736 및 아벨로무맙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0032] 본원에 기재된 방법의 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암은 췌장암이다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 췌장암과 관련된 섬유증의 감소를 유도 및/또는 발달을 예방한다.
- [0033] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 개체에서 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린 면역원(gastrin immunogen), 하나 이상의 항-가스트린 항체, 하나 이상의 항-CCK-B 수용체 항체, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 제1 제제; 및 면역 체크 포인트 억제제를 포함하는 제2 제제를 포함하는 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 가스트린 펩티드, 항-가스트린 항체 및 항-CCK-R 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 제제는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 및 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어진 가스트린 펩티드를 선택적으로 포함한다. 일부 실시양태에서, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 면역원성 당체에 접합되며, 선택적으로 면역원성 당체는 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 키흔-림펫 헤모시아닌 및 소 혈청 알부민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 링커를 통해 면역원성 당체에 접합되고, 선택적으로 링커는  $\epsilon$ -말레이미도 카프로산 N-히드록시숙신아미드 에스테르를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이서에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이서는 1 내지 10 개 아미노산 길이이고, 추가로 아미노산 스페이서는 7 개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, 방법은 보조제, 선택적으로 오일계 보조제를 추가로 포함하는 조성물을 사용한다. 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 유도제는 면역 체크 포인트 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 세포 독성 T-림프구 항원 4(CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(PD-1) 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드 (PD-L1)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 이필리무맙, 트레멜리무맙, 니블루맙, 피딜리주맙, 펌브롤리주맙, AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙, MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736, 아벨 루맙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0034] 본원에 기재된 방법의 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암은 췌장암이다. 일부 실시양태에서, 조성물은 췌장암과 관련된 섬유증의 감소를 유도 및/또는 발달을 예방한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 약 50  $\mu\text{g}$  내지 약 1000  $\mu\text{g}$ , 약 50  $\mu\text{g}$  내지 약 500  $\mu\text{g}$ , 약 100  $\mu\text{g}$  내지 약 1000  $\mu\text{g}$ , 약 200  $\mu\text{g}$  내지 약 1000  $\mu\text{g}$ , 및 약 250  $\mu\text{g}$  내지 약 500  $\mu\text{g}$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 투여량으로 투여되고, 선택적으로 상기 투여량은 1 회, 2 회 또는 3 회 반복되며, 선택적으로 제2 투여량은 제1 투여량 1 주일 후에 투여되고, 제3 투여량은, 투여되는 경우에, 1 또는 2 주 후에 투여된다.
- [0035] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 개체에서 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역 반응을 유도 및/또는 향상시키는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린-관련 종양 또는 암을 갖는 개체에게 가스트린-관련 종양 또는 암에 존재하는 CCK-B 수용체를 통한 가스트린 신호 전달을 감소시키거나 억제하는 제제를 포함하는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 제제는 가스트린 펩티드, 항-가스트린 항체, 항-CCK-B 수용체 항체 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 가스트린 펩티드는 가스트린-17 (G17) 펩티드 또는 이의 면역원성 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 가스트린 펩티드 또는 이의 면역원성 단편은 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 및 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어진다. 일부 실시양태에서, 서열 번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 제제는 면역원성 당체에 접합된 가스트린 펩티드를 포함하고, 선택적으로 면역원성 당체는 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 키흔-림펫 헤모시아닌 및 소 혈청 알부민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 링커, 선택적으로  $\epsilon$ -말레이미도 카프로산 N-히드록시숙신아미드 에스테르를 포함하는 링커를 통해 면역원성 당체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이서에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이서는 1 내지 10 개 아미노산 길이이고, 추가로 아미노산 스페이서는 7 개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법에 사용되는 조성물은 보조제, 선택적으로 오일계 보조제를 추가로 포함한다.
- [0036] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 또한 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역 반응의 유도제에 대한 가스트린 및/또는 CCK-B 수용체 신호 전달과 관련된 종양 및/또는 암을 감작시키는 방법을 제공한다.
- [0037] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린 펩티드에 대한 활성 및/또는 수동적 체액성 면역 반응을 유도 및/또

는 제공하는 제1 제제 및 종양 및/또는 암, 또는 이들의 조합에 대한 세포성 면역 반응을 유도 및/또는 제공하는 제2 제제를 포함하는 조성물을 대상에게 투여하는 단계를 포함하고, 선택적으로, 제1 제제 및 제2 제제는 개체에서 세포성 면역 반응 또는 중화 항-가스트린 항체의 생성을 유도하는 가스트린 펩티드 및/또는 이의 단편 및/또는 이의 유도체로 이루어진 군으로부터 개별적으로 선택되고; 중화 항-가스트린 항체의 세포성 면역 반응 또는 생성을 개체에서 유도하며, 중화 항-가스트린 항체 및/또는 이의 단편 및/또는 유도체; 및/또는 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 핵산을 포함하는 조성물; 및/또는 CCK-B 수용체에서 가스트린의 생물학적 기능을 차단하는 제제를 포함하는 조성물이다.

[0038] 일부 실시양태에서, 항-가스트린 항체는 가스트린-17 (G17) 내에 존재하는 에피토프에 대한 항체이다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 아미노산 서열 EGPWLEEEEE(서열번호 1) 또는 EGPWLEEEEE(서열번호 2) 또는 EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 또는 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4) 내에 존재한다. 일부 실시양태에서, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다. 일부 실시양태에서, 상기 조성물은 면역원성 담체에 접합된 가스트린 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3 및 서열번호 4로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역원성 담체는 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 키홀-립렛 헤모시아닌 및 소 혈청 알부민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 링커를 통해 면역원성 담체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 링커는  $\epsilon$ -말레이미도 카프로산 N-하이드록시숙신아미드 에스테르를 포함한다. 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이서에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이서는 1 내지 10 개 아미노산 길이이고, 추가로 아미노산 스페이서는 7 개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법에 사용되는 조성물은 보조제, 선택적으로 오일계 보조제를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 유도제는 면역 체크 포인트 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 세포 독성 T-림프구 항원 4(CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체 (PD-1) 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드 (PD-L1)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 이필리무맙, 트레멜리무맙, 니볼루맙, 피달리주맙, 펌브롤리주맙, AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙, MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736, 아벨루맙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0039] 본원에 기재된 방법의 일부 실시양태에서, 가스트린 관련 종양 및/또는 암은 췌장암이다. 일부 실시양태에서, 상기 조성물은 췌장암과 관련된 섬유증의 감소를 유도 및/또는 발달을 예방한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 약 50  $\mu\text{g}$  내지 약 1000  $\mu\text{g}$ , 약 50  $\mu\text{g}$  내지 약 500  $\mu\text{g}$ , 약 100  $\mu\text{g}$  내지 약 1000  $\mu\text{g}$ , 약 200  $\mu\text{g}$  내지 약 1000  $\mu\text{g}$ , 및 약 250  $\mu\text{g}$  내지 약 500  $\mu\text{g}$ 로 이루어진 군으로부터 선택된 투여량으로 투여되고, 선택적으로 상기 투여량은 1 회, 2 회 또는 3 회 반복되며, 선택적으로 제2 투여량은 제1 투여량 1 주일 후에 투여되고, 제3 투여량은, 투여되는 경우에, 1 또는 2 주 후에 투여된다.

[0040] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 종양 및 또는 암과 관련된 섬유증의 형성을 예방, 감소 및/또는 제거하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 종양 및/또는 암의 세포와 종양 및/또는 암에서 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성을 직접 또는 간접적으로 억제하는 제제를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제제는 가스트린 펩티드에 대한 체액성 면역 반응을 제공 및/또는 유도하며, 선택적으로 제제는 항-가스트린 항체, 및/또는 이의 단편 및/또는 유도체로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; 개체에서 중화 항-가스트린 항체의 생성을 유도하는 가스트린 펩티드; 및/또는 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 핵산을 포함하고; 및/또는 가스트린 호르몬의 기능을 차단하는 소분자 화합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-가스트린 항체는 가스트린-17 (G17) 내에 존재하는 에피토프에 대한 항체이다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 아미노산 서열 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 또는 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4) 내에 존재한다. 일부 실시양태에서, 서열 번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다. 일부 실시양태에서, 제제는 면역원성 담체에 접합된 중화 항-가스트린 항체의 생성을 유도하는 가스트린 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 및 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 서열번호 1 내지 4 중 어느 하나의 아미노산 1의 글루탐산 잔기는 피로글루타메이트 잔기이다. 일부 실시양태에서, 면역원성 담체는 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 키홀-립렛 헤모시아닌 및 소 혈청 알부민으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 링커, 선택적으로  $\epsilon$ -말레이미도카프로산 N-하이드록시숙신아미드 에스테르를 포함하는 링커를 통해 면역원성 담체에 접합된다. 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이서에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이서는 1 내지 10 개 아미노산 길이이고, 추가로

아미노산 스페이서는 7 개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, 제제는 보조제, 선택적으로 오일계 보조제를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법은 종양 및/또는 암을 종양 및/또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 자극제를 포함하는 제2 제제와 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 제제는 면역 체크 포인트 억제제이다. Isae, 면역 체크 포인트 억제제는 세포 독성 T- 림프구 항원 4(CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(PD-1) 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(PD-L1)로 구성된 그룹으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제한다. 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 이필리무맙, 트레멜리무맙, 니볼루맙, 피달리주맙, 펌브롤리주맙, AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙, MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736 및 아벨로무맙으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 본원에 기재된 방법의 일부 실시양태에서, 종양 및/또는 암은 췌장암이다.

- [0041] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 가스트린-관련 종양 또는 암을 치료하기 위한 의약품을 제조하기 위하여 본원에 기재된 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0042] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 치료하기 위한 본원에 기재된 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0043] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 또는 암에 반응하는 개체에서 CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> T<sub>EMRA</sub> 세포의 수를 향상시키기에 충분한 본원에 개시된 바와 같은 약학적 조성물의 양을 가스트린-관련 종양 또는 암을 갖는 개체에 투여함으로써 가스트린-관련 종양 또는 암의 전이를 예방, 감소 및/또는 제거하기 위하여 본원에 기재된 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0044] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 가스트린-관련 종양 또는 암에 반응하는 개체에서 T<sub>EMRA</sub> 세포의 수를 증가시키기 위한 본원에 기재된 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0045] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 또는 암을 치료하기 위한 면역 체크포인트 억제제 및 가스트린 면역원성을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0046] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 가스트린-관련 종양 또는 암을 치료하기 위한 의약품의 제조를 위한 면역 체크포인트 억제제 및 가스트린 면역원성을 포함하는 조성물의 용도를 제공한다.
- [0047] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 가스트린-관련 종양 또는 암의 전이를 예방, 감소 및/또는 제거하기 위한 본원에 기재된 약학적 조성물의 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 CD8<sup>+</sup> 종양 침윤 림프구의 수를 향상시키기에 충분한 양으로 본원에 개시된 바와 같이 약학적 조성물의 양을 가스트린-관련 종양 또는 암을 갖는 개체에게 투여하는 것에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 용도 본원에 기재된 바와 같은 약학적 조성물을 수용하지 않는 개체에서 보이는 것과 비교하여 향상된 생존율, 종양 성장의 감소 및/또는 화학 요법 및/또는 면역 체크포인트 요법의 향상된 효능을 야기한다.
- [0048] 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 용도는 가스트린-관련 종양 또는 암을 갖는 개체에게 투여함으로써 가스트린-관련 종양 또는 암의 전이를 예방, 감소 및/또는 제거하는 것으로, 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, FoxP3<sup>+</sup> 억제성 T-조절 세포(FoxP3<sup>+</sup> inhibitory T-regulatory cells)의 수를 감소시키기에 충분하다.
- [0049] 따라서, 본원의 주제는 가스트린-관련 또는 CCK-B 수용체-함유 종양 및/또는 암의 치료 방법을 제공하는 것이다.
- [0050] 본원에 기재된 본 발명의 주제의 목적은 본원에 기재된 조성물 및 방법에 의해 전체적으로 또는 부분적으로 달성되며, 다른 목적은 하기에 가장 잘 설명된 바와 같이 첨부 도면과 관련하여 설명이 진행됨에 따라 명백해질 것이다.

**과제의 해결 수단**

- [0051] 참조 및 특정 섹션의 위치 결정을 돕기 위해 표제가 본원에 포함된다. 이들 표제는 하기에 설명된 개념의 범위를 제한하려는 것이 아니며, 이들 개념은 전체 설명에 걸쳐 다른 섹션에서 적용 가능할 수 있다.
- [0052] I. 일반적인 고려사항
- [0053] 본원에 기재된 주제는 체액성 면역 항-종양 효과와 세포성 면역 항-종양 효과를 함께 생성하는 치료의 조합을

사용하여 인간 및 동물 암을 치료하기 위한 방법 및 시스템에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본원에 기재된 주제는 일부 실시양태에서 다음과 같은 약물의 특정한 조합을 사용하는 것에 관한 것이다: (1) 종양 및/또는 순환 종양 성장 인자(들)에 대한 항체를 생성하는 면역학적 체액성 B 세포 반응을 유도하고; 및 (2) 세포독성 T 림프구 반응을 유도하기 위해 종양에 대한 면역학적 세포성 T 세포 반응을 유도하거나 그렇지 않으면 향상시킨다. 보다 구체적으로, 본원에 기재된 주제는 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 차단을 유발하는 제2 약물과 함께 항-가스트린 암 백신을 사용하여 인간 암을 치료하기 위한 방법 및 시스템에 관한 것이다. 더욱 특히, 본원에 기재된 주제는 일부 실시양태에서 특정 인간 암을 활성 형태의 성장 인자 가스트린에 대한 B 세포 항체 반응을 유도하도록 설계된 하나 이상의 암 백신으로 치료하는 것에 관한 것이다. 본원에 처음으로 기재된 바와 같이, 일부 실시양태에서, 항-가스트린 백신은 면역 체크포인트 억제제로의 치료에 반응하여 인간 종양을 초래할 수 있으므로, 전체 항-종양 효능을 향상시키는 예상치 못한 첨가제 또는 심지어 상승적인 조합 요법 효과를 생성할 수 있다. 본원에 기재된 주제는 체액성 면역 항-종양 효과와 세포성 면역 항-종양 효과를 함께 생성하는 치료의 조합을 사용하여 인간 및 동물 암을 치료하기 위한 방법 및 시스템에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본원에 기재된 주제는 일부 실시양태에서 다음과 같은 약물의 특정 조합을 사용하는 것과 관련된다: (1) 종양 및/또는 순환 종양 성장 인자(들)에 대한 항체를 생성하는 면역학적 체액성 B 세포 반응을 유도하고; 및 (2) 세포독성 T 림프구 반응을 유도하기 위해 종양에 대한 면역학적 세포성 T 세포 반응을 유도하거나 그렇지 않으면 향상시킨다. 보다 구체적으로, 본원에 기재된 주제는 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 차단을 유발하는 제2 약물과 함께 항-가스트린 암 백신을 사용하여 인간 암을 치료하기 위한 방법 및 시스템에 관한 것이다. 더욱 특히, 본원에 기재된 주제는 일부 실시양태에서 특정 인간 암을 활성 형태의 성장 인자 가스트린에 대한 B 세포 항체 반응을 유도하도록 설계된 하나 이상의 암 백신으로 치료하는 것에 관한 것이다. 본원에 처음으로 기재된 바와 같이, 일부 실시양태에서, 항-가스트린 백신은 면역 체크 포인트 억제제로의 치료에 반응하여 인간 종양을 초래할 수 있으므로, 전체 항-종양 효능을 향상시키는 예상치 못한 첨가제 또는 심지어 상승적인 조합 요법 효과를 생성할 수 있다.

[0054] 본원에 기재된 주제는 또한 일부 실시양태에서 체액성 항체 면역 반응(가스트린 암 백신) 및 세포성 T 세포 면역 반응(면역 체크포인트 차단)을 생성하는 방법의 조합을 사용하여 종양 및/또는 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본원에 기재된 주제는 체액성 면역 항-종양 효과와 세포성 면역 항-종양 효과를 함께 생성하는 약물 부류의 신규하고 독특한 조합을 사용하여 인간 및 동물 위장관 종양을 치료하는데 신규하고 예상치 못한 첨가제 및/또는 상승적인 효능을 생성하는 조성물 및 방법에 관한 것이다.

[0055] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 다음과 같은 약물의 특정 조합을 사용하는 것에 관한 것이다: (1) 종양 성장 인자 및/또는 순환 종양 성장 인자에 대한 면역학적 체액성 B 세포 반응을 유도하고; 및 (2) 세포독성 T 림프구 반응을 유도하기 위해 종양에 대한 면역학적 세포성 T 세포 반응을 유발 및/또는 향상시킨다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 본원에 기재된 가스트린 암 백신 및 면역 체크 포인트 차단을 야기하는 하나 이상의 제2 약물의 조합을 사용하여 인간 및 동물 암을 치료하기 위한 방법 및 시스템에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 활성 형태의 성장 인자 가스트린에 대한 B 세포 항체 반응을 유도하도록 설계된 하나 이상의 암 백신으로 특정 인간 암을 치료하는 것에 관한 것으로, 본원에 기재된 바와 같이 예상치 못하게 인간 종양이 면역 체크 포인트 억제제로의 치료에 보다 반응하는 것으로, 항-종양 효능을 향상시키는 예상치 못한, 부가적, 또는 상승적인 조합 요법 효과를 생성한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 면역 체크 포인트 억제제와 함께 PAS를 사용하는 것에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 체액성 및 세포성 면역 반응 둘 다를 유도하기 위해 암 백신으로서 PAS를 사용하는 것에 관한 것이다.

[0056] II. 정의

[0057] 본원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시 예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본원에 기재된 주제를 한정하려는 의도가 아니다.

[0058] 하기 용어는 당업자에 의해 잘 이해되는 것으로 여겨지나, 하기 정의는 본원에 기재된 주제의 설명을 용이하게 하기 위해 제시된다.

[0059] 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는, 달리 정의되지 않는 한, 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 본원에 사용된 기술에 대한 참조는 해당 기술에 대한 변형 또는 당업자에게 명백한 동등한 기술의 대체를 포함하여 당해 기술 분야에서 일반적으로 이해되는 기술을 의미하도록 의도된다. 하기 용어는 당업자에 의해 잘 이해되는 것으로 여겨지나, 하기 정의는 본원에 기재된 주제의 설명을 용이하게 하기 위해 제시된다.

- [0060] 본원에 기재된 주제를 설명함에 있어서, 많은 기술 및 단계가 기재되는 것으로 이해될 것이다. 이들 각각은 개별적인 이점을 가지며, 각각은 다른 기재된 기술들 중 하나 이상 또는 일부 경우에 모두 사용될 수 있다.
- [0061] 따라서, 명확성을 위해, 이 설명은 개별 단계들의 모든 가능한 조합을 불필요한 방식으로 반복하는 것을 자제할 것이다. 그럼에도 불구하고, 명세서 및 청구 범위는 이러한 조합이 본원에 기재되고 청구된 주제의 범위 내에 있다는 것을 이해하면서 읽어야 한다.
- [0062] 오랜 기간 특허법 협약에 따라, 용어 "a", "an" 및 "the"는 청구 범위를 포함하여 본 출원에서 사용될 때 "하나 이상"을 의미한다. 예를 들어, 문구 "억제제(an inhibitor)"는 복수의 동일한 억제제를 포함하는 하나 이상의 억제제를 의미한다. 유사하게, 본원에서 독립체(entity)를 지칭하기 위해 사용될 때 "적어도 하나 이상(at least one)"이라는 문구는, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 또는 그 이상의 독립체를 의미하며, 이에 제한되지 않으나, 1 내지 100 및 100보다 큰 정수 값을 의미한다.
- [0063] 달리 지시되지 않는 한, 명세서 및 청구 범위에 사용된 성분의 양, 반응 조건 등을 나타내는 모든 수치는 모든 경우에 용어 "약(about)"에 의해 변형되는 것으로 이해되어야 한다. 질량, 중량, 시간, 부피, 농도 또는 백분율과 같은 측정 가능한 값을 기재할 때 본원에 사용된 용어 "약(about)"은 지정된 양으로부터, 일부 실시양태에서  $\pm 20\%$ , 일부 실시양태에서  $\pm 10\%$ , 일부 실시양태에서  $\pm 5\%$ , 일부 실시양태에서  $\pm 1\%$ , 일부 실시양태에서  $\pm 0.5\%$ , 및 일부 실시양태에서  $\pm 0.1\%$ 를 의미하며, 이러한 변화는 기재된 방법을 수행하고/하거나 기재된 조성물을 사용하기에 적합하기 때문이다. 따라서, 반대로 지시되지 않는 한, 본 명세서 및 첨부된 청구 범위에 제시된 수치 파라미터는 본원에 기재된 주제에 의해 수득하기를 원하는 특성에 따라 변할 수 있는 근사치이다.
- [0064] 본원에 사용된 용어 " 및(and)/또는(or)"은 독립체 목록과 관련하여 사용될 때, 독립체(entity)는 단독으로 또는 조합하여 존재하는 것을 의미한다. 따라서, 예를 들어, 문구 "A, B, C 및/또는 D"는 A, B, C 및 D를 개별적으로 포함하지만, A, B, C 및 D의 임의의 및 모든 조합 및 하위 조합을 포함한다.
- [0065] 본원에 사용된 용어 "항체(antibody)" 및 "항체들(antibodies)"은 면역 글로불린 유전자(immunoglobulin gene) 또는 면역 글로불린 유전자의 단편에 의해 실질적으로 코딩된 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 의미한다. 면역 글로불린 유전자는 전형적으로 무수 면역 글로불린 가변 영역 유전자 뿐만 아니라 카파( $\kappa$ ), 람다( $\lambda$ ), 알파( $\alpha$ ), 감마( $\gamma$ ), 델타( $\delta$ ), 엡실론( $\epsilon$ ) 및 뮤( $\mu$ ) 불변 영역 유전자를 포함한다. 경쇄(Light chain)는  $\kappa$  또는  $\lambda$ 로 분류된다. 포유 동물에서, 중쇄(heavy chain)는  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  또는  $\epsilon$ 으로 분류되며, 이는 차례로 면역 글로불린 분류, IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE를 각각 정의한다. 다른 종은 다른 경쇄 및 중쇄 유전자(예를 들어, 특정 조류가 IgY를 의미하는 것을 생산하는데, 이는 계란의 노른자에 암탉에 침착되는 면역 글로불린 유형임)를 가지며, 이는 본원에 기재된 주제에 의해 유사하게 포함된다. 일부 실시양태에서, 상기 용어 "항체(antibody)"는 서열번호 1, 서열번호 2, 서열번호 3 또는 서열번호 4에 제시된 바와 같이 아미노산 서열 내에 존재하는 에피토프를 포함하지만 이에 제한되지 않는 가스트린 유전자 생성물에 존재하는 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다. 전형적인 면역 글로불린(항체) 구조 단위는 사량체(tetramer)를 포함하는 것으로 알려져있다. 각각의 사량체는 2 개의 동일한 쌍의 폴리펩타이드 사슬(polypeptide chain)로 구성되며, 각 쌍은 하나의 "경량(light)"쇄 (평균 분자량 약 25 킬로달톤(kDa)) 및 하나의 "중(heavy)"쇄 (평균 분자량 약 50-70 kDa)을 갖는다. 2 개의 동일한 쌍의 폴리펩티드 사슬은 중쇄 영역 내에 존재하는 이황화 결합(disulfide bond)에 의해 이량체 형태(dimeric form)로 함께 유지된다. 각 사슬의 N-말단은 항원 인식을 주로 담당하는 약 100 내지 110 개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 정의한다. 가변 경쇄(variable light chain)( $V_L$ ) 및 가변 중쇄(variable heavy chain)( $V_H$ )라는 용어는 각각 이들 경쇄 및 중쇄를 의미한다.
- [0066] 항체는 전형적으로 온전한 면역 글로불린 또는 다양한 펩티다아제(peptidases)의 분해(digestion)에 의해 생성될 수 있는 다수의 잘-특성화된 단편으로서 존재한다. 예를 들어, 파파인(papain)에 의한 항체 분자의 분해는 이황화 결합에 대한 위치 N-말단에서 항체를 절단한다. 이는 3 개의 단편: 경쇄 및 중쇄의 N-말단을 갖는 2 개의 동일한 "Fab" 단편 및 이황화 결합에 의해 함께 보유된 중쇄의 C-말단을 포함하는 "Fc" 단편을 생성한다. 반면에, 펩신(pepsin)은 힌지 영역(hinge region)에서 이황화 결합에 대한 항체 C-말단을 분해하여 "F(ab)'2" 단편으로 알려진 단편을 생성하는데, 이는 이황화 결합에 의해 인접된 Fab 단편의 이량체(dimer)이다. 온화한 조건(mild condition) 하에서 F(ab)'2 단편은 힌지 영역에서 이황화 연결을 끊음으로서, F(ab)'2 이량체를 2 개의 Fab' 단량체로 전환시킬 수 있다. 상기 Fab' 단량체는 필수적으로 힌지 영역의 일부를 갖는 Fab 단편이다(다른 항체 단편에 대한 보다 자세한 설명은 Paul, 1993. 참조). 이들 다양한 단편과 관련하여, Fab, F(ab)'2 및 Fab' 단편은 적어도 하나 이상의 온전한 항원 결합 도메인(antigen binding domain)을 포함하며, 항원에 결합할

수 있다.

- [0067] 다양한 항체 단편은 온전한 항체의 분해 측면에서 정의되지만, 당업자는 다양한 이들 단편(Fab ‘ 단편을 포함하지만 이에 제한되지 않음)이 화학적으로 또는 재조합 DNA 방법론(recombinant DNA methodology)을 이용하여 드노보(de novo)로 합성될 수 있음을 적용할 수 있다. 따라서, 본원에 사용된 상기 용어 “항체(antibody)”는 또한 전체 항체의 변형에 의해 생성되거나 재조합 DNA 방법론을 사용하여 드노보로 합성된 항체 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 용어 “항체(antibody)”는 하나 이상의 항원 결합 도메인을 갖는 단편을 포함한다.
- [0068] 항체는 폴리클로날(polyclonal) 또는 모노클로날(monoclonal)일 수 있다. 본원에 사용된 용어 "폴리클로날(polyclonal)"은 주어진 항체 컬렉션에 함께 존재하는 상이한 항체-생성 세포 (antibody-producing cell)(예를 들어, B 세포)로부터 유래된 항체를 의미한다. 예시적인 폴리클로날 항체는 특정 항원에 결합하고 동물이 항원에 대한 면역 반응을 생성한 후 동물의 혈액에서 발견되는 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 그러나, 항체의 폴리클로날 제형은 또한 적어도 동일하지 않은 2 개 항체를 혼합함으로써 인공적으로 제조될 수 있는 것으로 이해된다. 따라서, 폴리클로날 항체는 전형적으로 임의의 주어진 항원의 상이한 에피토프(때때로 "항원 결정기(antigenic determinant)" 또는 단지 "결정기(determinant)"를 의미함)에 대해 지시되는 (즉, 결합하는) 상이한 항체를 포함한다.
- [0069] 본원에 사용된 용어 "모노클로날(monoclonal)"은 단일 항체 종 및/또는 단일 항체 종의 실질적으로 동종의 집단을 의미한다. 다르게 표현하면, "모노클로날(monoclonal)"은 가능한 자연 발생 돌연변이, 또는 소량으로 존재할 수 있는 번역-후 변형(post-translational modification)을 제외하고, 항체가 특이성 및 친화성에서 동일한 개별 항체 또는 개별 항체의 집단을 지칭한다. 전형적으로, 모노클로날 항체(monoclonal antibody, mAb)는 단일 B 세포 또는 이의 자손 세포에 의해 생성된다(그러나 본원에 기재된 주제는 본원에 기재된 바와 같이 분자 생물학적 기술에 의해 생성된 "모노클로날" 항체도 포함한다). 모노클로날 항체(mAbs)는 매우 특이적이고, 전형적으로 단일 항원 사이트에 대한 것이다. 게다가, 폴리클로날 항체 제형과 대조적으로, 주어진 mAb는 전형적으로 항원 상의 단일 에피토프에 대해 지시된다.
- [0070] 이의 특이성에 더하여, mAb는 다른 항체에 의해 오염되지 않고 합성될 수 있다는 점에서 일부 목적에 유리할 수 있다. 그러나, 변형제(modifier) "모노클로날(monoclonal)"은 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제의 mAb는 Kohler et al., 1975에 의해 처음 기재된 하이브리도마 방법론(hybridoma methodology)을 사용하여 제조되고, 일부 실시양태에서 박테리아 또는 진핵 생물, 동물 또는 식물 세포에서 재조합 DNA 방법을 사용하여 제조된다 (예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조, 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨). mAbs는 또한 예를 들어 Clackson et al., 1991 및 Marks et al., 1991에 기재된 기술을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.
- [0071] 본원에 기재된 주제의 항체, 단편 및 유도체는 또한 키메라 항체를 포함할 수 있다. 본원에서 항체와 관련하여 사용된 바와 같이, 상기 용어 "키메라(chimeric)" 및 이의 문법적 변이는 실질적으로 또는 독점적으로 하나의 종으로부터 항체 불변 영역으로 유래된 불변 영역 및 실질적으로 또는 독점적으로 다른 종으로부터 가변 영역의 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체 유도체를 의미한다. 특정 종류의 키메라 항체는 "인간화된(humanized)" 항체이며, 여기서 항체는 인간 항체의 CDR에 대해, 예를 들어 마우스 항체의 상보성 결정 영역(complementarity determining regions, CDR)을 대체함으로써 생성된다 (예를 들어, PCT 국제 특허 출원 공개 번호 WO 1992/22653 참조). 따라서, 일부 실시양태에서, 인간화된 항체(humanized antibody)는 상응하는 인간 항체 영역으로부터 실질적으로 또는 독점적으로 유래된 CDR 이외의 불변 영역 및 가변 영역을 가지며, 인간 이외의 포유 동물로부터 실질적으로 또는 독점적으로 유래된 CDR을 갖는다.
- [0072] 본원에 기재된 주제의 항체, 단편 및 유도체는 또한 단일 사슬 항체 및 단일 사슬 항체 단편일 수 있다. 단일-사슬 항체 단편(Single-chain antibody fragment)은 본원에 기재된 전체 항체의 가변 영역 및/또는 CDR 중 적어도 하나 이상을 갖는 아미노산 서열을 함유하지만, 이들 항체의 불변 도메인의 일부 또는 전부가 결핍되어 있다. 이들 불변 도메인은 항원 결합에 필요하지 않지만 전체 항체 구조의 대부분을 구성한다.
- [0073] 단일-사슬 항체 단편은 불변 도메인의 일부 또는 전부를 함유하는 항체의 사용과 관련된 일부 문제점을 극복할 수 있다. 예를 들어, 단일-사슬 항체 단편은 생물학적 분자와 중쇄 불변 영역 사이의 원하지 않는 상호 작용, 또는 다른 원치 않는 생물학적 활성이 없는 경향이 있다. 또한, 단일-사슬 항체 단편은 전체 항체보다 상당히 작으므로 전체 항체보다 더 큰 모세관 투과성(capillary permeability)을 가질 수 있어, 단일-사슬 항체 단편이 표적 항원-결합 사이트를 보다 효율적으로 국소화하고 결합할 수 있게 한다. 또한, 항체 단편은 원핵 세포에서 비교적 큰 규모로 생산될 수 있어 생산을 용이하게 한다. 게다가, 상기 비교적 작은 크기의 단일-사슬 항체 단

편은 전체 항체보다 수용자(recipient)에서 면역 반응을 유발할 가능성이 더 적다. 본원에 기재된 주제의 단일-사슬 항체 단편은 이에 제한되지는 않으나, 탠덤 디-scFv(tandem di-scFv), 탠덤 트리-scFv(tandem tri-scFv), 디아바디(diabodies), 트리아바디(triabodies), 테트라바디(tetrabodies), 미니항체(miniantibodies), 및 미니바디(minibodies)와 같은 단일 사슬 단편 가변 (single chain fragment variable, scFv) 항체 및 이의 유도체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0074] Fv 단편은 면역 글로불린 중쇄 및 경쇄의 N-말단에서 가변 단편에 상응한다. Fv 단편은 Fab 단편보다 2개의 사슬의 상호작용 에너지가 더 낮은 것으로 나타난다. VH 및 VL 도메인의 연관을 안정화시키기 위해, 이들은 펩티드(peptide)(Bird et al., 1988; Huston et al., 1988 참조), 이황화 브릿지(disulfide bridges)(Glockshuber et al., 1990) 및 "노브 인 홀(knob in hole)" 돌연변이 (Zhu et al., 1997)와 연결되어있다. ScFv 단편은 당업자에게 널리 공지된 방법에 의해 생성될 수 있다(예를 들어, Whitlow et al., 1991 및 Huston et al., 1993 참조).

[0075] scFv는 대장균(E.coli)과 같은 박테리아 세포 또는 진핵 세포에서 생성될 수 있다. scFv의 한 가지 잠재적인 단점은 1가(monovalency) 생성물이며, 이는 다가 결합(polyvalent binding)으로 인한 증가된 결합력 및 짧은 반감기를 막을 수 있다. 이러한 문제를 극복하려는 시도에는 화학적 커플링(Adams et al., 1993; McCartney et al., 1995) 또는 비-결합된 C-말단 시스테인 잔기를 함유하는 scFv의 자발적 사이트-특이적 이량체화(spontaneous site-specific dimerization)(Kipriyanov et al., 1995 참조)에 의한 추가적인 C-말단 시스테인(C-terminal cysteine)을 함유하는 scFv로부터 생성되는 2가(scFv')<sub>2</sub>를 포함한다.

[0076] 대안적으로, scFv는 펩티드 링커를 3 내지 12 개의 잔기로 단축시켜 "디아바디(diabodies)"를 형성함으로써 다량체(multimer)를 형성하도록 강제할 수 있다(Holiger et al., 1993 참조). 상기 링커를 더욱 감소시키면 scFv 삼량체(trimer)("트리아바디(triabodies)"; Kortt et al., 1997 참조) 및 사량체(tetramer)("테트라바디(tetrabodies)"; Le Gall et al., 1999 참조)를 야기할 수 있다. 2가 scFv 분자의 구조는 또한 단백질 이량체화 모티프와의 유전자 융합에 의해 "미니 항체(miniantibodies)"(Pack et al., 1992 참조) 및 "미니바디(minibodies)"(Hu et al., 1996 참조)를 형성함으로써 달성될 수 있다. scFv-scFv 탠덤((scFv)<sub>2</sub>)은 두 번째 scFv 단위를 세 번째 펩타이드 링커로 연결하여 생성할 수 있다(Kurucz et al., 1995 참조).

[0077] 이중특이성 디아바디(Bispecific diabodies)는 다른 항체의 VL 도메인에 짧은 링커로 연결된 하나의 항체로부터 VH 도메인으로 이루어진 2 개의 단일 사슬 융합 생성물의 비-공유 결합(non-covalent association)을 통해 생성될 수 있다(Kipriyanov et al., 1998 참조). 이러한 이중특이성 디아바디의 안정성은 상기 기재된 바와 같이, 이황화 브릿지(disulfide bridges) 또는 "노브 인 홀(knob in hole)" 돌연변이의 도입 또는 2 개의 하이브리드 scFv 단편이 펩티드 링커를 통해 연결된 단일 사슬 디아바디(scDb)의 형성에 의해 향상될 수 있다(Kontermann et al., 1999 참조).

[0078] 4가 이중특이적 분자는, 예를 들어 IgG 분자의 CH3 도메인 또는 힌지 영역을 통해 Fab 단편에 scFv 단편을 융합 시킴으로써 제조될 수 있다(Coloma et al., 1997 참조). 대안적으로, 4가 이중특이적 분자는 이중특이적 단일 사슬 디아바디의 융합에 의해 생성되었다(Alt et al., 1999 참조). 더 작은 4가 이중특이적 분자는 또한 분자 내 페어링(pairing)을 방지하는 방향으로 나선-루프-나선형 모티프(helix-loop-helix motif)(DiBi 미니 항체; Muller et al., 1998 참조)를 함유하는 링커를 갖는 scFv-scFv 탠덤의 이량체화 또는 4개의 항체 가변 도메인을 포함하는 단일 사슬 분자(VH 및 VL)에 의해 형성될 수 있다(탠덤 디아바디(tandem diabody); Kipriyanov et al., 1999 참조).

[0079] 이중특이적 F(ab')<sub>2</sub> 단편은 Fab' 단편의 화학적 커플링 또는 류신 지퍼(leucine zippers)를 통한 이중이량체화(heterodimerization)에 의해 생성될 수 있다(Shalaby et al., 1992; Kostelny et al., 1992 참조). 또한 단리된 V<sub>H</sub> 및 V<sub>L</sub> 도메인이 이용가능하다(미국 특허 번호 제6,172,197호; 제6,248,516호; 및 제6,291,158호 참조).

[0080] 본원에 기재된 주제는 또한 항-가스트린 항체의 기능적 동등을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어 "기능적 동등물(functional equivalent)"은 항체를 의미할 때 주어진 항체와 유사한 결합 특성을 갖는 분자를 의미한다. 일부 실시양태에서, 키메라화, 인간화 및 단일 사슬 항체 뿐만 아니라 이의 단편은 이들이 기초로 하는 상응하는 항체의 기능적 동등물로 고려된다.

[0081] 기능적 동등물은 또한 본원에 기재된 주제의 항체의 가변 또는 초가변 영역의 아미노산 서열과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 아미노산 서열과 관련하여 본원에 사용된 문구 "실질적으로 동일한(substantially the same)"은 Pearson & Lipman, 1988에 따른 FASTA 검색 방법에 의해 결정된 바와

같이, 다른 아미노산 서열과 서열 동일성이 일부 실시양태에서 적어도 80% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 85% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 약 90% 이상, 실시양태에서 적어도 91% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 92% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 93% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 94% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 95% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 96% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 97% 이상, 일부 실시양태에서 적어도 98% 이상, 및 일부 실시양태에서 적어도 약 99% 이상인 서열을 의미한다. 일부 실시양태에서, 상기 동일성 백분율 계산은 본원에 기재된 주제의 항체의 아미노산 서열의 전체 길이에 걸쳐 수행된다.

- [0082] 기능적 동등물은 본원에 기재된 주제의 전체 항체의 것과 동일하거나 유사한 결합 특성을 갖는 항체의 단편을 추가로 포함한다. 이러한 단편은 Fab 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편, F(ab') 단편, Fv 단편 또는 적어도 하나 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 임의의 다른 단편 중 하나 또는 모두를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 항체 단편은 본원에 기재된 주제의 전체 항체의 6 개 CDR 모두를 함유하지만, 3개, 4개 또는 5개의 CDR과 같은 이러한 영역 모두를 함유하는 단편은 또한 본원에 정의된 바와 같은 기능적 동등물일 수 있다. 또한, 기능적 동등물은 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 및 이의 하위 그룹과 같은 면역 글로불린 부류 중 어느 하나의 구성원 뿐만 아니라, 비-포유류 개체에 적합한 다른 서브 클래스일 수 있거나 조합할 수 있다(예를 들어 닭 및 기타 조류 중의 경우 IgY).
- [0083] 기능적 동등물은 본원에 기재된 주제의 전체 단백질의 특성과 동일하거나 유사한 특성을 갖는 펩티드를 추가로 포함한다. 이러한 펩티드는 전체 단백질의 하나 이상의 항원을 함유할 수 있으며, 이는 치료된 개체에서 면역 반응을 유발할 수 있다.
- [0084] 기능적 동등물은 또한 앵타머(aptamer) 및 다른 비-항체 분자를 포함하며, 단, 이러한 분자는 본원에 기재된 주제의 전체 항체의 특성과 동일하거나 유사한 결합 특성을 갖는다.
- [0085] 상기 용어 "포함하는(comprising)"은 "포함하는(including)" "함유하는(containing)" 또는 "로 특징지어진(characterized by)"과 동의어이며, 이는 포괄적이거나 개방형이며 추가의 언급되지 않은 요소 및/또는 방법 단계를 배제하지 않는다. "포함하는(Comprising)"은 명명된 요소 및/또는 단계가 존재하지만, 다른 요소 및/또는 단계가 추가될 수 있고 여전히 관련 주제의 범위 내에 속한다는 것을 의미하는 기술 용어이다.
- [0086] 본원에 사용된 바와 같이, 문구 "~로 이루어진(consisting of)"은 구체적으로 언급되지 않은 임의의 요소, 단계 또는 성분을 배제한다. 상기 어구 "~로 이루어진(consisting of)"은 청구 범위의 본문의 절에 나타날 때, 전문을 즉시 따르는 것이 아니라, 그 절에 제시된 요소만을 제한한다는 것에 주목해야 하며, 다른 요소들은 전체적으로 청구 범위에서 배제되지 않는다.
- [0087] 본원에서 사용된 바와 같이, 어구 "필수적으로 이루어지는(consisting essentially of)"은 관련된 기재 또는 청구 범위의 범위를 특정된 재료 및/또는 단계로 제한하며, 기재된 및/또는 청구된 주제의 기본 및 신규 특성(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것들을 포함한다. 예를 들어, 약학적 조성물은 약학적 활성제 또는 복수의 약학적 활성제로 "필수적으로 이루어지는(consisting essentially of)" 것일 수 있는데, 이는 언급된 약학적 활성제(들)가 약학적 조성물에 존재하는 유일한 약학적 활성제(들)임을 의미한다. 그러나, 담체, 부형제 및/또는 다른 불활성제는 이러한 약학적 조성물에 존재할 수 있고 아마도 존재할 수 있고, 문구 "필수적으로 이루어지는(consisting essentially of)"의 본질 내에 포함된다는 것이 주목된다.
- [0088] 상기 용어 "포함하는(comprising)", "~로 이루어지는(consisting of)" 및 "필수적으로 이루어지는(consisting essentially of)"과 관련하여, 이들 3개의 용어 중 하나가 본원에 사용되는 경우, 본원에 기재되고 청구된 주제는 다른 2개의 용어 중 하나의 사용을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 항체를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 본원에 기재된 내용을 검토한 후 당업자는 본원에 기재된 내용의 주제가 본원에 기재된 주제의 항체로 이루어진 조성물 뿐만 아니라 본원에 기재된 주제의 항체의 필수적으로 이루어진 조성물을 포함한다는 것을 이해할 것이다.
- [0089] 본원에 사용된 바와 같이, 문구 "면역 세포(immune cell)"는 항원 제시 세포(antigen presenting cells), B 세포(B cells), 호염기성세포(basophils), 세포독성 T 세포(cytotoxic T cells), 수지상 세포(dendritic cells), 호산구(eosinophils), 과립구(granulocytes), 헬퍼 T 세포(helper T cells), 백혈구(leukocytes), 림프구(lymphocytes), 대식세포(macrophages), 비만 세포(mast cells), 기억세포(memory cells), 단핵구(monocytes), 자연 살해 세포(natural killer cells), 호중구(neutrophils), 포식세포(phagocytes), 플라즈마 세포(plasma cells) 및 T 세포(T cells)를 포함하나 이에 제한되지 않는, 포유 동물 면역계의 세포를 의미한다.
- [0090] 본원에 사용된 바와 같이, 문구 "면역 반응(immune response)"은 선천성 면역(innate immunity), 체액성 면역

(humoral immunity), 세포성 면역(cellular immunity), 면역(immunity), 염증 반응(inflammatory response), 후천성(적응성) 면역(acquired (adaptive) immunity), 자가 면역(autoimmunity) 및/또는 과잉 면역(overactive immunity)을 포함하나 이에 제한되지 않는 면역을 의미한다.

- [0091] 본원에 사용된 바와 같이, 문구 "가스트린-관련 암(gastrin-associated cancer)"은 종양 또는 암 또는 이로부터의 세포이며, 여기서 가스트린 유전자 생성물은 자가분비(autocrine) 및 주변분비(paracrine) 메커니즘을 통한 생체 내에 외인성으로 종양 및/또는 암에 적용되는 경우에 종양 및/또는 암 세포 성장을 자극하는 영양 호르몬(trophic hormone)으로서 작용한다. 예시적으로 가스트린-관련 암은 췌장암(pancreatic cancer), 위암(gastric cancer), 위 식도암(gastroesophageal cancer) 및 대장암(colorectal cancer)을 포함한다.
- [0092] 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어 "폴리뉴클레오티드(polynucleotide)"는 DNA, RNA, 상보적 DNA(complementary DNA, cDNA), 메신저 RNA(messenger RNA, mRNA), 리보솜 RNA(ribosomal RNA, rRNA), 작은 헤어핀 RNA(small hairpin RNA, shRNA), 작은 핵 RNA(small nuclear RNA, snRNA), 짧은 핵산 RNA(short nucleolar RNA, snoRNA), 마이크로 RNA(microRNA, miRNA), 게놈 DNA(genomic DNA), 합성 DNA(synthetic DNA), 합성 RNA(synthetic RNA), 및/또는 tRNA를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0093] 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어 "단일 사슬 가변 단편(single chain variable fragment)", "단일 사슬 항체 가변 단편(single-chain antibody variable fragments)" 및 "scFv" 항체는 링커 펩티드에 의해 연결된 중쇄 및 경쇄만의 가변 영역을 포함하는 항체의 형태를 d의미한다.
- [0094] 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어 "개체(subject)"는 임의의 무척추 동물 또는 척추동물 종의 구성원을 의미한다. 따라서, 상기 용어 "개체(subject)"는 일부 실시양태에서 동물계의 임의의 구성원을 포함하나 이에 제한되지 않는 척색동물문(phylum Chordata)(예를 들어, 경골어류(Osteichthytes(bony fish)), 양서류(Amphibia (amphibians)), 파충류(Reptilia (reptiles)), 조류(Aves (birds)) 및 포유류(Mammalia (mammals))의 분류 구성원) 및 모든 목(Orders) 및 과(Families)가 포함된다.
- [0095] 본원에 기재된 주제의 조성물 및 방법은 온혈 척추 동물(warm-blooded vertebrates)에 특히 유용하다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 포유동물 및 조류에 관한 것이다.
- [0096] 보다 구체적으로, 인간 및 다른 영장류와 같은 포유동물로부터 유래되고/되거나 포유동물에 사용하기 위한 조성물 및 방법이 제공되며, 예를 들어, 멸종 위기에 처한 중요한 포유류(예를 들어 시베리아 호랑이), 인간에게 경제적 중요성(사람이 소비하기 위해 농장에서 키운 동물) 및/또는 사회적 중요성(애완 동물이나 동물원에 있는 동물), 예를 들어, 인간 이외의 육식 동물(예를 들어, 고양이 및 개), 돼지류(돼지(pigs), 식용 돼지(hogs) 및 멧돼지(wild boars)), 반추 동물(소(cattle), 황소(oxen), 양, 기린, 사슴, 염소, 들소 및 낙타), 설치류(마우스, 쥐 및 토끼와 같은), 유대목 및 말에 사용된다. 또한 동물원에 서식하는 멸종 위기에 처한 조류 뿐만 아니라, 인간에게 경제적으로 중요한 닭, 특히 가축, 예를 들어, 칠면조, 닭, 오리, 거위, 꿩(guinea fowl) 등과 같은 가금류를 포함하는 조류에 상기 기재된 방법 및 조성물의 용도가 제공된다. 따라서, 길들여진 돼지류(돼지(pigs) 및 돼지(hogs)), 반추 동물, 말, 가금류 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 가축에 상기 기재된 방법 및 조성물의 용도가 또한 제공된다.
- [0097] 본원에서 사용된 바와 같이, 상기 용어 "T 세포(T cell)" 및 "T 림프구(T lymphocyte)"는 상호교환 가능하고 동의어로 사용된다. 예로는 천연 T 세포(naive T cells), 중앙 기억 T 세포(central memory T cells), 이펙터 기억 T 세포(effector memory T cells), 세포 독성 T 세포(cytotoxic T cells), T 조절 세포(T regulatory cells), 헬퍼 T 세포(helper T cells) 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.
- [0098] 본원에서 사용된 바와 같이, 문구 "치료제(therapeutic agent)"는, 이에 제한되지는 않으나 가스트린-관련 종양 및/또는 암과 같은 질병 또는 장애를 예를 들어, 치료, 억제, 예방, 효과 완화, 중증도 감소, 발병 가능성 감소, 진행 속도 둔화 및/또는 회복하는데 사용하는 제제를 의미한다.
- [0099] 본원에서 사용된 바와 같이, 상기 용어 "치료(treatment)" 및 "치료하는(treating)"은 치료적 치료 및 예방적 또는 예방적 조치 둘 다를 의미하는데, 여기서 목적은 표적화된 병리학 적 상태를 예방 또는 늦추고(감소), 병리학 적 상태를 예방, 유리한 결과를 추구하거나 얻는 것이며/이거나 치료가 궁극적으로 실패하더라도 개인의 상태, 질병 또는 장애를 일으킬 가능성을 낮추는 것이다. 치료를 필요로 하는 환자는 이미 상태(condition)를 갖는 환자 뿐만 아니라 상태, 질병 또는 장애가 있거나 그 경향이 있기 쉬운 환자, 또는 상태가 예방되어야 하는 환자를 포함한다.
- [0100] 본원에서 사용된 바와 같이, 상기 용어 "종양(tumor)"은 악성이든 양성이든, 임의의 신생물성 세포 성장

(neoplastic cell growth) 및/또는 증식, 및 가스트린의 자가분비 및/또는 주변분비 작용에 의해 직접 또는 간접적으로 영향을 받는 것의 전이의 개시, 진행, 성장, 유지하는 모든 전-암성 및 암성 세포 및 조직을 의미한다. 상기 용어 "암(cancer)" 및 "종양(tumor)"은 본원에서 상호 교환적으로 사용되며, 체장암, 위암, 위식도암 및 대장암(본원에서 포괄적으로 "가스트린-관련" 종양 및 / 또는 암을 의미함)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 개체에서 임의의 조직의 원발성 및 전이된 고형 종양 및 암종 모두를 의미할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 상기 용어 "암(cancer)" 및 "종양(tumor)"은 또한 다중세포 종양(multicellular tumors)뿐만 아니라 개별 신생물(neoplastic) 또는 전-신생물 세포(pre-neoplastic cells)를 의미하는 것으로 의도된다. 일부 실시양태에서, 암 또는 종양은 암종과 같은 상피 조직의 암 또는 종양을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 종양은 선암종이며, 일부 실시양태에서 체장, 간, 위, 식도, 대장 또는 직장의 선암종 및/또는 이로부터 유래된 전이성 세포이다. 일부 실시양태에서, 종양 및/또는 암은 섬유종과 관련되며, 이는 종양 및/또는 암의 발달의 직접적 또는 간접적 결과로서, 섬유종의 하나 이상의 영역이 전형적으로 종양 및/또는 암의 영역에서 발생한다는 것을 의미한다.

[0101] 본원에 기재된 모든 유전자, 유전자 명칭 및 유전자 생성물은 본원에 기재된 조성물 및 방법이 적용 가능한 임의의 종으로부터의 상동체(homologs) 및/또는 이종상동체(orthologs)에 상응하도록 의도된다. 따라서, 상기 용어는 인간 및 마우스로부터의 유전자 및 유전자 생성물을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. t는 특정 종으로부터의 유전자 또는 유전자 생성물이 기재될 때, 본 기재는 단지 예시적인 것으로 의도되며, 문맥상 명백하게 나타나지 않는 한 제한되는 것으로서 해석되지 않아야 한다는 것으로 이해된다. 따라서, 예를 들어, GENBANK® biosequence database Accession No: NP\_000796.1에 제시된 가스트린 유전자 생성물의 경우, 기재된 인간 아미노산 서열은 상동성 및 이종성 가스트린 유전자 및 포유류, 물고기, 양서류, 파충류 및 조류를 포함하나 이에 제한되지 않는 다른 동물의 유전자 산물을 포함한다.

[0102] III. 항-가스트린 백신(Anti-Gastrin Vaccine)의 개발

[0103] 종양-관련 항원-기반 백신에 대한 독특한 접근법은 PC 및 기타 위장 암의 주요 자가분비 및 주변분비 성장 인자로서 가스트린의 관여를 이용하여 수행되었다. 이 접근법은 "폴리클로날 항체 자극제(Polyclonal Antibody Stimulator)" 또는 PAS라는 화합물로 가스트린-17 (G17)에 대한 활성 체액성 면역을 통해 가스트린의 영양 효과(gastrin's trophic effect)를 중화시키는 것을 포함한다. PAS는 마우스 및 인간에서 동일하고 링커 분자를 통해 디프테리아 독소이드(diphtheria toxoid, DT)에 접합된 G17의 N-말단 서열로부터 유래된 9-아미노산 가스트린 에피토프(9-amino acid gastrin epitope)를 포함한다. 이 화합물은 오일계 보조제(oil-based adjuvant)로 제형화되어 PAS를 생성한다. PAS는 특이적이고 고-친화성 폴리클로날 항-G17 항체의 생산을 자극하는 반면, DT 단독으로는 효과가 없었다(Watson et al., 1996). 전임상 연구는 대장암(Singh et al., 1986; Smith & Solomon, 1988; Upp et al., 1989; Smith et al., 1996b), 위암(Smith et al., 1998a; Watson et al., 1989), 폐암(Rehfeld et al., 1989), 및 췌장암(Smith et al., 1990; Smith et al., 1991; Smith et al., 1995; Segal et al., 2014)을 포함하여 가스트린 반응이 있는 위장암(gastrointestinal (GI) cancer)이 있는 여러 동물 모델에서 수행되었다.

[0104] 동물에서, PAS-생성 항-17 항체(PAS-generated anti-G17 antibodies)는 위장 종양의 성장 및 전이를 감소시키는 것으로 나타났다(Watson et al., 1995; Watson et al., 1996; Watson et al., 1999). PAS에 의한 능동 면역화 및 PAS-생성 항-G17 항체에 의한 수동 면역화(Watson et al., 1999)는 GI 암의 동물 모델에서 종양 성장을 억제하는 것으로 나타났다(Watson et al., 1998; Watson et al., 1999).

[0105] 진행된 췌장암의 치료를 위한 PAS의 전향적, 무작위, 이중-블라인드(double-blind), 플라세보 조절된 그룹(placebo controlled group) 순차적 시험이 진행된 췌장암을 갖는 인간 개체에서 수행되었다. 이 연구의 주요 목표는 환자 생존을 플라세보에 단일 요법 PAS의 효과가 미치는 영향을 비교하는 것이다. 전체적으로, 환자의 65%가 PAS에 대한 항체 반응을 생성하였다. PAS 처리 그룹의 개체는 플라세보 그룹보다 더 오래 생존하였다(각각 평균 150일 대 84일; p = 0.016). 그러나, 환자가 PAS에 대한 면역 반응을 생성했는지(즉, PAS 반응) 또는 면역 반응을 생성하지 않았는지(즉, PAS 비-반응)에 기초하여 계층화될 때, 생존자는 반응자(responders)에서 현저하게 증가하였다(p = 0.003).

[0106] 현재까지, PDAC 환자 469명이 임상 시험에서 PAS로 치료되었다. 이들 개체의 대략 90%는 보호성 항체 역가(titer)를 유도하였다. 4 가지 연구(PC1, PC2, PC3 및 PC6; Brett et al., 2002; Gilliam et al., 2012)에서 수집한 데이터에 따르면, 반응자 환자는 비-반응자(106일; p = 0.0003)에 비해 평균 생존일(191 일)이 유의하게 증가한 것으로 나타났다. 중요하게도, 이들 환자 중 어느 것도 가스트린의 정상 수준 및 기능에 부정적인 영

항을 미치는 자가면역-형 반응(autoimmune-type reaction)의 증거를 나타내지 않았다.

- [0107] PAS는 가스트린에 대한 중화 항체의 생성으로 B 세포 반응을 유도하는 것으로 알려져 있다. 그러나 임상 연구에 따르면 장기 생존자도 있음이 밝혀졌으며, 이는 항-종양 면역의 추가 메커니즘이 또한 책임이 있음을 시사한다.
- [0108] IV. PAD+체크포인트 억제제 조합 요법
- [0109] IV. A. 일반적
- [0110] PAS 투여는 종양-태아 단백질 가스트린(onco-fetal protein gastrin)에 대한 체액성 항체 반응 및 세포성 면역 반응을 생성하는데, 이는 PDAC에서 부적절하게 발현(즉, 과발현)된다. PDAC에서 이러한 부적절한 가스트린 발현은 자가분비(autocrine) 및 주변분비(paracrine) 성장-촉진 효과를 유발한다. 가스트린에 대한 체액성 항체의 후속 세대를 이용한 PAS 투여는 이러한 병리적 성장-촉진 효과를 제거하는데 도움이 될 것이다. 또한, 가스트린에 대한 PAS-매개 체액성 면역 반응은 또한 혈관 신생의 촉진, 아포토시스의 우회(circumvention), 세포 이동의 증가 및 부적절한 가스트린 발현과 관련된 침습성 효소 발현의 증가(Watson et al., 2006)를 역전 시키는데 도움을 줄 것이다.
- [0111] PAS는 3개의 서브 유닛을 포함한다. 제1 서브 유닛은 가스트린 에피토프이며, 일부 실시양태에서, 시스테인 잔기에서 종결되는 카르복시-말단 7개 아미노산 스페이서 서열을 갖는 인간 G17의 아미노-말단 아미노산 잔기 1-9를 포함하는 펩티드이다. 이 제1 서브 유닛에 대한 예시적인 서열은 EGPWLEEEEE (서열 번호 2)이다.
- [0112] PAS의 제2 서브 유닛은 제1 서브 유닛을 제3 서브 유닛에 공유적으로 연결하는 링커이다. 일부 실시양태에서, 상기 링커는  $\epsilon$ -말레이미도 카프로 산 N-히드록시숙신아미드 에스테르( $\epsilon$ -maleimido caproic acid N-hydroxysuccinamide ester, eMCS)이지만, 폴리에틸렌 글리콜 링커(polyethylene glycol linkers)와 같은 비-펩타이드성 링커를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 링커가 이러한 목적으로 사용될 수 있다.
- [0113] PAS의 제3 서브 유닛은 디프테리아 독소이드이며, 이는 제1 서브 유닛에 대해 지시된 체액성 반응(특히, 위 에피토프에 대한 체액성 반응)을 향상시키기 위해 담체 단백질로 사용된다. 그러나, 일부 실시양태에서, 디프테리아 독소이드 이외의 담체 단백질, 예를 들어 파상풍 독소이드 또는 소 혈청 알부민이 사용될 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0114] 일부 실시양태에서, 3개의 서브 유닛은 근육 내(intramuscular (i.m.)) 주사용으로 제형화되고, 상기 제형은 우수한 물리적, 화학적 및 제약적 특성을 갖는다. PAS는 또한 가스트린에 대한 중화 항체의 생성으로 B 세포 반응을 유도한다. 이것은 PDAC와 관련하여, 가스트린이 세포 증식을 증가시키고, 혈관 신생을 촉진하고, 아포토시스를 우회하고, 세포 이동을 증가시키며, 침습성 효소 발현을 증가시키며, PDAC 미세환경에서의 섬유증과 관련된다. 본원에 기재된 주제의 일부 측면에 따르면, 가스트린의 작용이 차단되면, CD8<sup>+</sup> 림프구가 PDAC로 유입되어 면역 체크 포인트 요법(예를 들어, T-세포 매개 반응)에 반응할 가능성이 더 높아진다. 본원에 기재된 바와 같이, PAS는 또한 가스트린 자극에 반응하여 사이토카인을 생성하는 T 세포 반응 및 CD8<sup>+</sup> 세포를 유도한다.
- [0115] PAS는 치료 백신 또는 면역 치료제로 설계될 수 있다. PAS-유도 체액성 항체는 매우 특이적이고 전형적으로 G17 및 Gly-G17에 대한 높은 친화성을 특징으로 한다.
- [0116] PAS는 호르몬 G17 및 이의 전구체 G17-Gly에 대해 치료적으로 효과적인 수준의 항체를 지속적으로 유도하였다. 총 1,542 명의 환자를 대상으로 22 개의 임상 연구가 완료되었다. 중요하게도, PAS의 치료는 우수한 안전성 및 내약성 프로파일(tolerability profile)을 나타내었고, 추가로 대장, 위 및 체장암 환자에서 생존 이점을 야기하였다. 단일 요법으로서 사용된, 예시적인 투여량(dose) 및 스케줄은 0, 1 및 3 주에 250  $\mu$ g/0.2 ml 투여량인 것으로 확인되었다.
- [0117] 종합적으로 살펴보면 22 가지 연구와 PAS로 치료된 > 1,500 명의 환자로부터 얻을 수 있는 결론은 다음과 같다:
- [0118] (a) 비-임상 데이터는 항-G17 항체의 시험관 내(in vitro) 및 생체 내(in vivo) 항-종양 효능 모두를 입증하였으며, 인간 체장암 모델을 포함하는 다양한 암 모델에서 광범위한 치료 지수(index)를 나타냈다;
- [0119] (b) PAS는 매우 안전하고 견딜 수 있는 투여량으로 투여될 수 있으며, 부작용이 없고 음성 자가 면역 효과의 유도없이 가스트린에 대한 B 세포 항체 반응을 효과적으로 유발한다; 및
- [0120] (c) 다수의 임상 연구에서 체장암을 포함하는 위장관 종양에 걸친 생존 이점, 및 항-G17 항체 반응의 생성과 개선된 생존 사이의 상관 관계가 입증되었다.

- [0121] 그러나, 임상 연구는 또한 장기 생존자가 존재함을 입증하였으며, 이는 추가의 치료 이점이 또한 PAS 투여로부터 초래되었음을 시사한다. 임의의 특정 작동 이론에 구속되지 않을 뿐만 아니라, PAS 치료는 또한 이들 개체에서 세포 독성 T 세포 및 기억 세포의 활성화를 특징으로 하는 T 세포 면역 반응을 유도했을 수 있다.
- [0122] PDAC에서 체크 포인트 억제제의 사용은 제한되어 있으며, 적당한 결과만이 입증되었다. CTLA-4, PD-1 및 PD-L1 억제제는 다수의 임상 시험에서 국소 진행성 또는 전이성 PDAC 환자에서 연구되었다(Royal et al., 2010; Brahmer et al., 2012; Segal et al., 2014). 더바루맵(Durvalumab)(MEDI 4736)은 2014 년 미국 임상 종양 학회 (American Society of Clinical Oncology)에서 발표된 예비 분석에서 8%의 부분 반응율을 생성하였다 (Segal et al., 2014).
- [0123] 췌장 종양이 표적 체크포인트 억제제인 모노클로날 항체(mAb)-기반 면역 치료요법에 상대적으로 내성이 있는 이유는 알려져 있지 않다. 항-면역 체크 포인트 억제제 면역 치료요법의 실패는 실제로 항-종양 면역 반응을 억제할 수 있는 면역 억제 백혈구의 대량 침윤과 관련될 수 있다. 이것은 RAS 종양 유전자(oncogene)의 발현과 관련될 수 있으며, 이는 췌장 종양 미세 환경에서 면역 회피(immune privilege)를 확립하는 데 도움이 되는 염증 프로그램을 유발한다 (Zheng et al., 2013).
- [0124] IV.B. 체크-포인트 억제제(Check-Point Inhibitors)는 세포성 세포독성 T 세포 반응을 생성
- [0125] 면역계(immune system)는 감염에서 발견된 박테리아이든, 종양과 암에서 전형적으로 발견되는 변형 및/또는 형질 전환된 세포이든, 자기(즉, "정상(normal)" 세포) 및 "비-자기(non-self)" 또는 "외부(foreign)" 세포를 구별하는 데 핵심적인 중심 역할을 한다. 이 과정과 관련하여, 면역계는 "자기"를 인식할 때 "턴 오프(turn off)"하기 위해 적절한 조절을 필요로하므로, 외부 및/또는 형질전환된 세포를 인식할 때 "턴 온(turn on)"이 필요하며, 정상적인 신체 세포에 대한 자가 면역 반응을 일으키지 않는다. 실제로, 세포 형질 전환은 비교적 흔한 사건이지만, 면역계는 이것에 대한 효율적이고 효과적인 감시를 유지하여 외부 및/또는 형질전환된 세포를 효과적이고 효율적으로 제거한다. 종양 형성 및 암은 비교적 드문 경우이며, 형질전환된 세포가 정상적인 면역계 체크 포인트를 파괴할 수 있는 메커니즘을 개발하기 때문에, 면역계가 이를 형질전환된 것으로 인식하지 못하도록 하며, 예를 들어 형질 전환된 종양 세포에 대한 세포 독성 T 림프구 부착에 의한 면역 공격을 피한다.
- [0126] 프로그램된 세포 사멸 단백질 1(Programmed cell Death protein 1)(PD-1; CD279로도 알려져 있음)은 T 세포의 표면에서 발견되는 체크 포인트로서 작용하는 세포 표면 수용체이다. PD-1은 "오프 스위치(off switch)"로서 기능하여 T 세포가 신체의 정상 세포에 대한 세포 독성 T 림프구 공격을 일으키지 않는 것으로 나타난다. 인간 PD-1은 GENBANK® 바이오 시퀀스 데이터베이스의 Accession No. NP\_005009.2(GENBANK® Accession No. NM\_005018.2에 의해 코딩됨)로서 제공되는 예시적인 아미노산 서열인 288 아미노산 전구체 단백질로서 생성된다. 288 아미노산 전구체는 GENBANK® 288 아미노산 전구체는 GENBANK® Accession No. NP\_005009.2의 아미노산 1-20으로서 신호 펩티드를 포함하며, 이는 성숙한 펩티드(즉, GENBANK® Accession No. NP\_005009.2의 아미노산 21-288)를 생성하기 위해 제거된다. GENBANK® 바이오 시퀀스 데이터베이스에 존재하는 다른 종으로부터의 인간 PD-1의 이종상동체(ortholog)의 아미노산 서열은 Accession Nos. NP\_032824.1 (Mus musculus), NP\_001100397.1 (Rattus norvegicus), NP\_001301026.1 (Canis lupus familiaris), NP\_001138982.1 (Felis catus), NP\_001076975.1 (Bos taurus), XP\_004033550.1 (Gorilla gorilla gorilla), NP\_001107830.1 (Macaca mulatta), NP\_001271065.1 (Macaca fascicularis), 및 XP\_003776178.1 (Pongo abelii)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0127] PD-1 수용체에 대한 리간드는 프로그램된 사멸-리간드 1(Programmed death-ligand 1, PD-L1)를 의미한다. CD274 또는 B7 상동체 1(B7 homolog 1, B7-H1)이라고도 한다. 인간에는 PD-L1 단백질의 여러 이소형이 있으며, 이 중 가장 큰 것(이소형 a)은 290 개의 아미노산 전구체로 생성된다. 인간 PD-L1 전구체 단백질에 대한 예시적인 아미노산 서열은 GENBANK® 바이오 시퀀스 데이터베이스의 Accession No. NP\_054862.1 (GENBANK® Accession No. NM\_014143.3에 의해 코딩됨)로서 제공된다. 290 아미노산 전구체는 GENBANK® Accession No. NP\_054862.1의 아미노산 1-18로서 신호 펩티드를 포함하고, 이는 성숙한 펩티드(즉, GENBANK® Accession No. NP\_054862.1의 아미노산 19-290)를 생성하기 위해 제거된다. GENBANK® 바이오 시퀀스 데이터베이스에 존재하는 다른 종으로부터의 인간 PD-L1의 오르토 로그의 아미노산 서열은 Accession Nos. NP\_068693.1 (Mus musculus), NP\_001178883.1 (Rattus norvegicus), NP\_001278901.1 (Canis lupus familiaris), XP\_006939101.1 (Felis catus), NP\_001156884.1 (Bos taurus), XP\_018889139.1 (Gorilla gorilla gorilla), NP\_001077358.1 (Macaca mulatta), XP\_015292694.1 (Macaca fascicularis), 및 XP\_009454557.1 (Pongo troglodytes)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

- [0128] PD-L1은 주로 정상 세포에서 발견되며, PD-1 발현 T 세포가 PD-L1과 함께 정상 세포에 결합할 때, 이는 정상 세포 (즉, "자기(self)")이고 T 세포에 신호를 보내고, (정상) 세포에 대한 세포 독성 T 세포 반응이 억제된다. 대부분의 형질전환된 세포는 전형적으로 PD-L1을 발현하지 않기 때문에 일상적으로 제거되는데, 이는 PD-1 발현 T 세포가 이러한 세포를 만나면 "셧 다운(shut down)"되지 않고 오히려 "활성화"되어 형질전환된 세포를 제거하는 것을 의미한다. 그러나, 드문 경우에, 상기 형질전환된 세포는 PD-L1 리간드를 발현시켜, 형질전환된 세포에 대한 T 세포 반응을 셧 다운시킨다. 이에, PD-L1을 발현하는 형질전환된 세포는 세포 독성 T 세포 반응을 회피할 수 있다. 이것이 발생하면, 인식되지 않은 형질전환된 세포는 확장될 수 있고, 추가의 돌연변이를 획득하고, 악성 전이성 종양으로 성장할 수 있다.
- [0129] PD-1/PD-L1 체크 포인트("면역 체크 포인트 억제제(immune checkpoint inhibitors)"로 지칭됨)의 억제는 PD-1/PD-L1 결합을 방해할 수 있어, T 림프구가 종양 및/또는 암 세포를 비-자기(non-self)로 인식하게 하고, 종양 및/또는 암 세포에 대한 세포 독성 T 림프구 반응을 야기한다. 이는 PD-1/PD-L1 상호 작용을 효과적으로 차단하기 위해 T 세포상의 PD-1 또는 종양 및/또는 암 세포상의 PD-L1을 표적화하는 약물에 의해 성취될 수 있다. 이 프로세스에 중요한 것은 적어도 두 가지 이상의 요구 사항이다. 첫째, 상기 면역 체크 포인트 억제제는 PD-1과 PD-L1 사이의 임의의 상호 작용을 차단하기 위해 종양 및/또는 암 사이트에 도착해야 한다. 둘째, 종양 및/또는 암 자체는 세포 독성 T 세포에 접근 가능해야 한다.
- [0130] 다른 체크 포인트 단백질은 세포 독성 T-림프구 항원 4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4)(CTLA-4; CD152로도 알려져 있음) 단백질이다. PD-1과 마찬가지로 CTLA-4는 면역 반응을 하향 조절할 수 있는 세포 표면 수용체이다. T<sub>reg</sub>는 활성화된 T 세포와 같이 CTLA-4를 발현한다. CTLA-4 수용체가 PD-1과 같이 항원-제시 세포(APC)의 표면에 존재하는 CD80 또는 CD86에 결합할 때, 이는 면역 반응과 관련하여 "오프 스위치(off switch)"로서 기능한다.
- [0131] 인간 CTLA4-TM 이소형은 GENBANK® Accession No. NP\_005205.2 (GENBANK® Accession No. NM\_005214.4에 의해 코딩됨)에 제시된 아미노산 서열을 갖는 223 개의 아미노산 전구체 단백질이다. 이 단백질은 제거될 때, 188개의 아미노산 성숙 펩티드를 생성하는 35 개의 아미노산 신호 펩티드를 포함한다. GENBANK® 바이오 시퀀스 데이터베이스에 존재하는 다른 종으로부터의 인간 CTLA-4의 이종상동체의 아미노산 서열은 Accession Nos. NP\_033973.2 (Mus musculus), NP\_113862.1 (Rattus norvegicus), NP\_001003106.1 (Canis lupus familiaris), NP\_001009236.1 (Felis catus), NP\_776722.1 (Bos taurus), XP\_004033133.1 (Gorilla gorilla gorilla), XP\_009181095.2 (Macaca mulatta), XP\_005574073.1 (Macaca fascicularis), 및 XP\_526000.1 (Pan troglodytes)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0132] 이와 같이, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 하나 이상의 면역 체크 포인트 억제제와 함께 PAS의 투여에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 일부 실시양태에서 본원에 기재된 주제는 CTLA-4, PD-1 및/또는 PD-L1을 표적으로 하는 면역 체크 포인트 억제제의 사용에 관한 것이다. 이들 면역 체크 포인트 억제제를 억제하는 예시적인 화합물은 다음을 포함한다. CTLA-4에 대한 것: 이필리무맙(Ipilimumab) (YERVOY® brand; Bristol-Myers Squibb, New York, New York) 및 트레멜리무맙(Tremelimumab)(formerly Ticilimumab; Medimmune, LLC, Gaithersburg, Maryland). PD-1에 대한 것: 니볼루맙(Nivolumab)(OPDIVO® brand; Bristol-Myers Squibb, New York, New York), 피딜리주맙(Pidilizumab) (Medivation, San Francisco, California), 펌브롤리주맙(Pembrolizumab) (KEYTRUDA® brand; Merck & Co., Inc., Kenilworth, New Jersey), MEDI0680 (AMP514; Medimmune, LLC, Gaithersburg, Maryland), 및 AUNP-12 (Aurigene Discovery Technologies Limited/Laboratoires Pierre Fabre SA). PD-L1에 대한 것: BMS-936559/MDX-1105 (Bristol Myers Squibb, New York, New York), 아테몰리주맙(Atezolizumab)(TECENTRIQ® brand; Genentech/Roche, South San Francisco, California), 더발루맙(Durvalumab) (MEDI4736; Medimmune, LLC, Gaithersburg, Maryland), 및 아벨루맙(Avelumab) (BAVENCIO® brand; EMD Serono, Inc., Rockland, Maryland, and Pfizer Inc., New York, New York).
- [0133] 증거는 PD-1 및 PD-L1 억제제를 비교할 때 효능 및 세포독성과 관련된 발산보다는 더 많은 공통성이 있음을 강력히 시사한다. 실제로, 교차-시험 메타-유형 분석(cross-trial meta-type analyses)에서, 니볼루맙, 펌브롤리주맙, 아벨루맙, 아테졸리주맙 및 MDX1105는 세포독성 및 효능과 관련하여 매우 유사한(그러나 동일하지는 않은) 프로파일을 갖는 것으로 나타났다. 진화성 및 현재의 투약 요법은 다양한 PD-1 및 PD-L1 억제제에 대해 상이할 수 있음에도 불구하고, 일반적으로 모두에 대해 매우 광범위한 치료 창(therapeutic window)가 존재한다. 이러한 광범위한 치료 창과 관련하여, 이들 체크 포인트 억제제의 대부분은 1상(Phase I)에서 실패하지 않으며, 많

은 임상 개발 계획이 정량 투여보다는 평평한 투여 요법(flat dosing regimens)으로 이동하고 있는 것으로 관찰된다.

[0134] PD-1 및 PD-L1을 표적으로 하는 약물은 유사한 작용 방식, 효능 프로파일 및 세포독성 프로파일을 가짐에도 불구하고, 일반적으로 이들 사이에 약간의 미묘한 차이가 있다. 아벨루맙은 항체-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC) 반응으로 특히 출원-유래 B 세포 반응을 보완하는 능력으로 인해 다른 PD-L1 표적 약물들에 비해 약간의 이점을 가질 수 있다. 아벨루맙은 또한 천연 Fc 수용체(native Fc receptor)를 가지며, 따라서 "정상" ADCC 반응을 유발할 수 있는 반면, 아테졸리주맙은 ADCC 반응(적어도 인간에서)을 감소시킬 것으로 예상되는 Fc 영역에서 변형을 갖는다.

[0135] 상이한 PD-1 및 PD-L1 표적 약물을 비교할 때 주의해야 할 다른 차이점은 일부는 인간화된 mAb이고 다른 것은 완전한 인간 mAb라는 사실이다. 인간화된 mAb는 인간화된 mAb가 인간에게 투여될 때 완전한 인간 mAb와 비교하여 "알레르기(allergic)" 유형 반응을 유발할 가능성이 증가되는 것으로 특징될 수 있다.

[0136] V. 조성물

[0137] V.A. 약학적 조성물

[0138] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 일부 실시양태에서 본원에 기재된 주제의 방법에 사용될 수 있는 약학적 조성물을 제공한다.

[0139] 본원에 사용된 바와 같이, "약학적 조성물(pharmaceutical composition)"은 약학적 조성물이 이를 필요로 하는 개체에게 투여될 수 있는 치료의 일부 또는 다른 방법으로서 사용되는 조성물을 의미한다. 일부 실시양태에서, 이를 필요로 하는 개체는 종양 및/또는 암 및/또는 이와 관련된 세포에 직접적으로 및/또는 간접적으로 작용하는 약학적 조성물의 생물학적 활성으로 인해 적어도 부분적으로 개선될 것으로 예상되는 종양 및/또는 암의 적어도 하나 이상의 증상, 특징 또는 결과를 갖는 개체이다.

[0140] 약학적 조성물을 제조하는 기술은 당업계에 공지되어 있으며, 일부 실시양태에서 약학적 조성물은 약학적 조성물이 투여될 대상을 기초로 제형화된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서 약학적 조성물은 인간 개체에 사용하기 위해 제형화된다. 따라서, 일부 실시양태에서 약학적 조성물은 인간에게 사용하기에 제약상 허용된다.

[0141] 일부 실시양태에서 본원에 기재된 주제의 약학적 조성물은 가스트린 펩티드 및/또는 CCK-B 수용체에 대한 활성 및/또는 수동적 체액성 면역 반응을 유도 및/또는 제공하는 제1 체제; 및 면역 체크 포인트 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 체제는 가스트린 펩티드, 항-가스트린 항체 및 항-CCK-R 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 제1 체제는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3), 및 EGPWLEEEEEAYGWDMF(서열번호 4)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산을 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어진 가스트린 펩티드를 선택적으로 포함한다. 일부 실시양태에서, 글루탐산 잔기(glutamic acid residue)는 서열번호 1-4 중 어느 하나의 아미노산 위치 1이 피로글루타메이트 잔기(pyroglutamate residue)이다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 면역원성 담체에 접합되고, 선택적으로 면역원성 담체는 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 키홀-림펫 헤모시아닌 및 소 혈청 알부민으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 링커를 통해 면역원성 담체에 접합되고, 선택적으로 링커는 ε-말레이미도 카프로 산 N-히드록시숙신아미드 에스테르(ε-maleimido caproic acid N-hydroxysuccinamide ester)를 포함한다.

[0142] 일부 실시양태에서, 링커 및 가스트린 펩티드는 아미노산 스페이스에 의해 분리되고, 선택적으로 아미노산 스페이스는 1 내지 10 개 아미노산 길이이고, 추가로 아미노산 스페이스는 7 개 아미노산 길이이다.

[0143] 체액성 면역 반응을 유발하도록 설계된 본원에 기재된 주제의 약학적 조성물은 일부 실시양태에서 보조제, 선택적으로 오일-기반 보조제를 추가로 포함할 수 있다. 예시적인 보조제는 몬타나이드(montanide) ISA-51 (Seppic, Inc.); QS-21 (Aquila Pharmaceuticals, Inc.); Arlacel A; 올레산(oleic acid); 파상풍 헬퍼 펩티드(tetanus helper peptides); GM-CSF; 시클로포스아미드(cyclophosphamide); 바실러스 칼멧-구에린(bacillus Calmette-Guerin) (BCG); 코린박테리아 파르븀(corynebacterium parvum); 레바미솔(levamisole), 아지메존(azimezone); 이소피리니손(isoprinosone); 디니트로클로로벤젠(dinitrochlorobenzene) (DNCB); 프로인트 보조제(Freunds adjuvant)(완전 및 불완전)를 포함하는 키홀-림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanins) (KLH) ; 미네랄 겔(mineral gels); 알루미늄 하이드록사이드(aluminum hydroxide) (Alum); 리솔레시틴(lysolecithin); 플루로닉 폴리올(pluronic polyols); 폴리음이온(polyanions); 펩티드(peptides); 오일 에멀전(oil emulsions); 핵산(nucleic acids) (예를 들어, dsRNA) 디니트로페놀(dinitrophenol); 디프테리아 독소(diphtheria toxin) (DT);

톨-유사 수용체(toll-like receptor) (TLR, 예를 들어, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 또는 TLR9) 아고니스트(agonists) (예를 들어, 리포폴리사카라이드(lipopolysaccharide)(LPS)와 같은 내독(endotoxin); 모노포스포릴 리피드 A(monophosphoryl lipid A) (MPL); 폴리이노신-폴리시틸 산(polyinosinic-polycytidylic acid) (poly-ICLC/HILTONOL®; Oncovir, Inc., Washington, DC, United States of America); IMO-2055, 글루코피라노실 지질 A(glucopyranosyl lipid A) (GLA), QS-21-킬라하 껍질 나무(soap bark tree) 또는 킬라하 껍질(Soapbark)이라고도 하는 Quillaja의 껍질로부터 추출한 사포닌(saponin); 레시퀴모드(resiquimod) (TLR7/8 아고니스트), CDX-1401 - NY-ESO-1 종양 항원에 연결된 수지상 세포 수용체 DEC-205에 특이성을 갖는 완전 인간 단일 클론 항체로 구성된 융합 단백질; Juvaris' 양이온성 지질-DNA 복합체(Cationic Lipid-DNA Complex); 박스펙틴(Vaxfectin); 및 이의 조합물을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0144] 본원에 기재된 주제의 약학적 조성물은 일부 실시양태에서 면역 체크 포인트 억제제를 포함할 수 있다. 면역 체크 포인트 억제제는 세포 독성 T-림프구 항원 4(CTLA4), 프로그램된 세포 사멸-1 수용체 (PD-1), 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드 (PD-L1)로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제하는 화합물 부류이다. 일부 실시양태에서, 면역 체크 포인트 억제제는 이필리무맙, 트레멜리무맙, 니볼루맙, 피달리주맙, 펌브롤리주맙, AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙, MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736, 아벨루맙 및 더벨루맙으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0145] 본원에 기재된 약학적 조성물의 일부 실시양태에서, 제1 제제는 항-가스트린 체액성 반응을 유도하는데 효과적인 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3), 및 EGPWLEEEEEAYGWMDF(서열번호 4)로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 필수적으로 이루어지거나, 이루어진 가스트린 펩티드의 양을 포함하며, 제2 제제는 가스트린-관련 종양 또는 암을 가진 개체에게 투여될 때 가스트린-관련 종양 또는 암에 대한 세포성 면역 반응을 유도하거나 향상시키는데 효과적인 양의 체크 포인트 억제제를 포함한다.

[0146] 본원에 기재된 약학적 조성물의 일부 실시양태에서, 제1 제제는 하나 이상의 항-CCK-B 수용체 항체를 포함하고, 가스트린-관련 종양 또는 암을 갖는 개체에 투여될 때 가스트린-관련 종양 또는 암에 존재하는 CCK-B 수용체를 통한 가스트린 신호 전달을 감소시키거나 억제하기에 충분한 양으로 약학적 조성물에 존재한다.

[0147] 본원에 기재된 주제의 약학적 조성물은 일부 실시양태에서 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 치료하기 위해 사용된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제의 약학적 조성물은 췌장암을 치료하기 위한 것이다.

[0148] V.B. 핵산

[0149] 상기 용어 "RNA"는 적어도 하나 이상의 리보뉴클레오티드(ribonucleotide) 잔기를 포함하는 분자를 지칭한다. "리보뉴클레오티드(ribonucleotide)"는 β-D-리보푸라노스 모이어 티(β-D-ribofuranose moiety)의 2' 위치에 히드록실기를 갖는 뉴클레오티드를 의미한다. 상기 용어는 이중 가닥 RNA, 단일 가닥 RNA, 이중 가닥 및 단일 가닥 영역 모두를 갖는 RNA, 부분적으로 정제된 RNA, 필수적으로 순수한 RNA, 합성 RNA, 재조합으로 생성된 RNA 뿐만 아니라 변형된 RNA 또는 유사 RNA와 같은 단리된 RNA를 포함하며, 이는 하나 이상의 뉴클레오티드의 첨가, 결실, 치환 및/또는 변경에 의한 자연 발생 RNA와 상이하다. 이러한 변경은 siRNA의 말단(들) 또는 내부적으로, 예를 들어 RNA의 하나 이상의 뉴클레오티드에서 비-뉴클레오티드 물질의 첨가를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 주제의 RNA 분자의 뉴클레오티드는 또한 비-표준 뉴클레오티드, 예를 들어 비-천연 뉴클레오티드 또는 화학적으로 합성된 뉴클레오티드 또는 데옥시뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 이러한 변형된 RNA는 자연 발생 RNA의 유사체 또는 유사체를 의미할 수 있다.

[0150] 상기 용어 "작은 간섭 RNA(small interfering RNA)", "짧은 간섭 RNA(short interfering RNA)", "작은 헤어핀 RNA(small hairpin RNA)", "siRNA" 및 shRNA는 상호 교환적으로 사용되며 RNA 간섭(RNAi) 또는 유전자 침묵(gene silencing)을 매개할 수 있는 임의의 핵산 분자를 의미한다. 예를 들어, Bass, Nature 411:428-429, 2001; Elbashir et al., Nature 411:494-498, 2001a; 및 PCT 국제 공개 번호 WO 00/44895, WO 01/36646, WO 99/32619, WO 00/01846, WO 01/29058, WO 99/07409, 및 WO 00/44914를 참조한다. 일부 실시양태에서, siRNA는 상보적 센스(sense) 및 안티센스(antisense) 영역을 포함하는 이중 가닥 폴리 뉴클레오티드 분자를 포함하고, 상기 안티센스 영역은 표적 핵산 분자의 영역에 상보적인 서열(예를 들어, 가스트린 유전자 생성물을 코딩하는 핵산 분자)을 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 siRNA는 자기-상보적(self-complementary) 센스 및 안티센스 영역을 갖는 단일 가닥 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 여기서 안티센스 영역은 표적 핵산 분자의 영역에 상보적인 서열을 포함한다. 다른 실시양태에서, 상기 siRNA는 하나 이상의 루프 구조를 갖는 단일 가닥 폴리뉴클레오티드 및 자기-상보적 센스 및 안티센스 영역을 포함하는 줄기를 포함하고, 여기서 안티센스 영역은 표적 핵산

분자의 영역에 상보적인 서열을 포함하며, 여기서 폴리뉴클레오티드는 RNAi를 매개할 수 있는 활성 siRNA를 생성하기 위해 생체 내(in vivo) 또는 시험관 내(in vitro)에서 처리될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, siRNA 분자는 RNA만을 함유하는 분자로 제한될 필요는 없으며, 화학적으로 변형된 뉴클레오티드 및 비-뉴클레오티드를 추가로 포함한다.

[0151] 본원에 기재된 주제는 짧은, 이중 가닥 RNA 분자가, RNA 간섭으로 지칭되는 과정인 세포 유전자의 하향 조절을 유발하는 증력을 이용한다. 본원에 사용된 바와 같이, "RNA 간섭(RNA interference)"은 작은 간섭 RNA(siRNA)에 의해 매개되는 서열-특이적 전사 후 유전자 침묵(sequence-specific post-transcriptional gene silencing)의 과정을 의미한다. 일반적으로 Fire et al., Nature 391:806-811, 1998을 참조한다. 전사-후 유전자 침묵의 과정은 외부 유전자의 발현을 막기 위해 진화된 진화적으로 보존된 세포 방어 메커니즘인 것으로 생각된다 (Fire, Trends Genet 15: 358-363, 1999).

[0152] RNAi는 특정 바이러스(특히 이중 가닥 RNA 바이러스 또는 라이프 사이클에 이중 가닥 RNA 중간체가 포함된 바이러스)에 의한 감염 또는 단일 가닥 RNA 또는 이중 가닥 RNA 중의 하나에 대한 바이러스 게놈 RNA 상동성을 특이적으로 분해하는 메커니즘을 통해 숙주 게놈으로 도입하는 트랜스포손(transposon) 요소의 무작위 통합으로 인한 이중 가닥 RNA (dsRNA) 분자의 생성에 대한 세포 및 유기체를 보호하도록 진화했을 수 있다.

[0153] 세포에서 긴 dsRNA의 존재는 리보뉴클레아제 III(ribonuclease III), 효소 Dicer의 활성을 자극한다. 다이서(Dicer)는 작은 간섭 RNA(siRNA; Bernstein et al., Nature 409: 363-366, 2001)로 지칭되는 dsRNA의 짧은 스트레치로 dsRNA의 분해를 촉매한다. 다이서-매개 분해(Dicer-mediated degradation)로 인한 작은 간섭 RNA는 전형적으로 약 21-23 개 뉴클레오티드 길이이고 약 19 개의 염기쌍 듀플렉스(base pair duplexes)를 함유한다. 분해 후, 상기 siRNA는 RNA-유도 침묵 복합체(RNA-induced silencing complex, RISC)로 지칭되는 엔도뉴클레아제 복합체(endonuclease complex)에 통합된다. 상기 RISC는 siRNA 듀플렉스의 안티센스 가닥에 상보적인 세포 내에 존재하는 단일 가닥 RNA의 절단을 매개할 수 있다. Elbashir 등에 따르면, 표적 RNA의 절단은 siRNA 듀플렉스의 안티센스 가닥에 상보적인 단일 가닥 RNA 영역의 중간 부근에서 발생한다(Elbashir et al., Genes Dev 15 : 188-200, 2001b).

[0154] RNAi는 몇몇 세포 유형 및 유기체에서 설명되었다. Fire 등 (1998)은 C. elegans의 RNAi를 기술했다. Wianny & Zernicka-Goetz, Nature Cell Biol 2: 70-75, 1999는 마우스 배아에서 dsRNA에 의해 매개되는 RNAi를 기재한다. Hammond et al., Nature 404: 293-296, 2000은 dsRNA를 초파리 세포 내로 형질감염시킴으로써 초파리 세포에서 RNAi를 유도할 수 있었다. Elbashir et al. Nature 411: 494-498, 2001a는 합성 21 뉴클레오티드 RNA의 듀플렉스의 도입에 의해 인간 배아 신장 및 HeLa 세포를 포함하는 배양된 포유류 세포에서 RNAi의 존재를 입증하였다.

[0155] 다른 연구는 siRNA 듀플렉스의 표적-상보적 가닥상의 5'-포스페이트가 siRNA 활성을 용이하게 하고 ATP가 siRNA에서 5'-포스페이트 모이어티를 유지하는데 이용됨을 나타내었다(Nykanen et al., Cell 107: 309-321, 2001). siRNA 분자에 도입될 때 허용될 수 있는 다른 변형은 당-포스페이트 골격(sugar-phosphate backbone)의 변형 또는 뉴클레오티드를 질소 또는 황 헤테로 원자 중 적어도 하나 이상으로의 치환(PCT 국제 공개 번호 WO 00/44914 및 WO 01/68836) 및 이중 가닥 RNA-의존성 단백질 키나제 (double stranded RNA-dependent protein kinase, PKR), 구체적으로 2'-아미노(2' -amino) 또는 2'-O-메틸 뉴클레오티드(2' -O-methyl nucleotides), 및 2' -O 또는 4' -C 메틸렌 브릿지(methylene bridge)를 함유하는 뉴클레오티드의 활성을 억제할 수 있는 특정 뉴클레오티드 변형을 포함한다.

[0156] dsRNA 및 RNAi의 사용을 기재하는 다른 문헌은 PCT 국제 공개 번호 WO 01/75164 (Drosophila의 세포를 사용하는 시험 관내 RNAi 시스템 및 특정 기능성 게놈 및 특정 치료를 위한 특정 siRNA 분자의 용도); WO 01/36646 (dsRNA 분자를 사용하여 포유동물 세포에서 특정 유전자의 발현을 억제하는 방법); WO 99/32619 (유전자 발현 억제에 사용하기 위해 세포 내로 dsRNA 분자를 도입하기 위한 방법); WO 01/92513 (RNAi를 향상시키는 인자를 사용하여 유전자 억제를 매개하는 방법); WO 02/44321 (합성 siRNA 구축물); WO 00/63364 및 WO 01/04313 (폴리뉴클레오티드 서열의 기능을 억제하기 위한 방법 및 조성물); 및 WO 02/055692 및 WO 02/055693(RNAi를 사용한 유전자 발현 억제 방법)를 포함한다.

[0157] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 RNAi를 사용하여 적어도 하나 이상의 가스트린 유전자 생성물의 발현을 적어도 부분적으로 억제한다. 억제는 바람직하게는 정상 발현량의 적어도 약 10 % 이상이다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하기에 충분한 양으로 표적 세포에 RNA를 도입하는 단계를 포함하고, 상기 RNA는 관심 유전자의 코딩 가닥에 상응하는 리보뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시

양태에서, 상기 표적 세포는 개체에 존재하고, 상기 RNA는 개체에 도입된다.

- [0158] RNA는 표적 단백질(예를 들어, 가스트린 유전자 생성물)을 코딩하는 유전자의 코딩 가닥에 상응하는 리보뉴클레오티드 서열을 포함하는 제1 가닥 및 제1 가닥에 상보적인 리보뉴클레오티드 서열을 포함하는 제2 가닥을 포함하는 이중-가닥 영역(double-stranded region)을 가질 수 있다. 제1 가닥과 제2 가닥은 서로 혼성화되어 이중-가닥 분자를 형성한다. 상기 이중 가닥 영역은 적어도 15개 이상의 염기쌍 길이일 수 있고, 일부 실시양태에서, 15 내지 50 개의 염기쌍 길이일 수 있고, 일부 실시양태에서 상기 이중 가닥 영역은 15 내지 30 개의 염기쌍 길이이다.
- [0159] 일부 실시양태에서, 상기 RNA는 분자 내 자가-하이브리드화(intramolecular self-hybridization)에 의해 이중-가닥 영역을 형성하는 하나의 가닥을 포함하며, 이는 바람직하게는 적어도 19개 이상의 염기에 상보적이다. 일부 실시양태에서, 상기 RNA는 적어도 19개 이상의 염기에 상보적인 분자 내 하이브리드화에 의해 이중-가닥 영역을 형성하는 2개의 분리된 가닥을 포함한다.
- [0160] 당업자는 RNA를 표적 세포 내로 도입하기 위해 임의의 수의 적합한 공통 기술이 사용될 수 있음을 인식할 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 RNA를 코딩하는 벡터는 표적 세포에 도입된다. 예를 들어, 상기 RNA를 코딩하는 벡터는 표적 세포로 형질 감염될 수 있고, 그 다음 상기 RNA는 세포 중합 효소에 의해 전사된다.
- [0161] 일부 실시양태에서, RNA를 코딩하는 핵산을 포함하는 재조합 바이러스가 생성될 수 있다. RNA를 표적 세포 내로 도입하는 것은 상기 표적 세포를 재조합 바이러스로 감염시키는 것을 포함한다. 세포 중합 효소(Cellular polymerases)는 RNA를 전사하여 표적 세포 내에서 RNA를 발현을 야기한다. 엔지니어링 재조합 바이러스(Engineering recombinant viruses)는 당업자에게 잘 알려져 있다. 당업자는 본원에 추가로 상세하게 논의할 필요없이 본원에 기재된 주제와 함께 사용하기 위해, 재조합 바이러스 생산을 최적화하는데 필요한 적절한 바이러스 및 벡터 성분을 선택하는 것과 관련된 다수의 인자를 쉽게 인식할 것이다. 하나의 비-제한적인 예와 같이, siRNA를 코딩하는 DNA를 포함하는 재조합 아데노 바이러스가 조작될 수 있다. 상기 바이러스는 세포는 재조합 아데노 바이러스에 의해 감염될 수 있고, siRNA가 전사되고, 감염된 표적 세포에서 일시적으로 발현되는 것과 같이 복제 결핍이 되도록 조작될 수 있다. 재조합 바이러스 생산 및 사용의 세부 사항은 PCT 국제 특허 출원 공개 번호 WO 2003/006477에서 찾을 수 있으며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 대안적으로, 예를 들어 pSILENCER ADENO 1.0-CMV SYSTEM™ 브랜드 바이러스 생산 키트(Ambion, Austin, Texas, United States)와 같은 재조합 바이러스 생산을 위한 상업적 키트가 사용될 수 있다.
- [0162] V.C. 유전자 편집(Gene Editing)
- [0163] 유전자 생성물의 하향 조절은 또한 Zhang의 미국특허 제8,945,839호 및 그에 인용된 문헌, Al-Attar et al., 2011; Makarova et al., 2011; Le Cong et al., 2013; Seung Woo Cho et al., 2013a, b; Carroll, 2012; Gasiunas et al., 2012; Hale et al., 2012; 및 Jinek et al., 2012에 기재된 CRISPR-Cas 유전자 편집 시스템을 사용하여 달성될 수 있으며, 이들 모두는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, CRISPR-Cas 유전자 편집 시스템에 사용하기 위한 방법 및 조성물은 가스트린 유전자 서열을 표적으로 하는 핵산을 포함하고, 이는 일부 실시양태에서 중앙 및/또는 암에서의 가스트린 유전자 서열이다.
- [0164] V.D. 제형(Formulations)
- [0165] 본원에 기재된 바와 같은 조성물은 일부 실시양태에서 제약상 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 포함한다. 적합한 제제는 제제가 의도된 수용자의 체액과 등장성이 되도록 하는 항산화제, 완충제, 정균제, 살균 항생제 및 용질을 함유할 수 있고; 현탁제 및 증점제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 현탁액을 함유할 수 있는 수용성 및 비-수용성 멸균 주사 용액을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제의 제제는 보조제, 선택적으로 오일계 보조제를 포함한다.
- [0166] 상기 방법에 사용된 조성물은 유용성 또는 수용성 비히클(vehicles) 중의 현탁액, 용액 또는 에멀전과 같은 형태를 취할 수 있으며, 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제와 같은 제형화 제제를 함유할 수 있다. 상기 방법에 사용된 조성물은 입 주위, 정맥 내, 복강 내, 근육 내 및 중앙 내 제형을 포함하나 이에 제한되지 않는 형태를 취할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 상기 활성 성분은 사용 전에 적합한 비히클 (예를 들어, 멸균 발열 물질이 없는 물(sterile pyrogen-free water))로 구성하기 위해 분말 형태일 수 있다.
- [0167] 상기 제형은 단위-투여량(unit-dose) 또는 다회-투여량(multi-dose) 용기, 예를 들어 밀봉된 앰플 및 바이알에 제공될 수 있고, 사용 직전에 멸균 액체 담체의 첨가만을 필요로 하는 냉동 또는 동결 건조된 (동결 건조

(lyophilized)) 상태로 저장될 수 있다.

- [0168] 경구 투여를 위해, 상기 조성물은 결합제 (예를 들어, 전 젤라틴화 옥수수 전분, 폴리비닐 피롤리돈 또는 하이 드록시 프로필 메틸 셀룰로스); 충전제 (예를 들어, 락토스, 미정질 셀룰로오스 또는 인산 수소 칼슘); 윤활제 (예를 들어, 스테아르 산 마그네슘, 탈크 또는 실리카); 붕해제 (예를 들어, 감자 전분 또는 나트륨 전분 글리 콜레이트); 또는 습윤제 (예를 들어, 소듐 라우릴 설페이트)와 같은 약학적으로 허용되는 부형제를 갖는 통상적 인 기술에 의해 제조된 예를 들어, 정제(tablet) 또는 캡슐(capsules)을 취할 수 있다. 상기 정제는 당업계에 공 지된 방법으로 코팅될 수 있다. 예를 들어, 신경활성 스테로이드(neuroactive steroid)는 히드로클로로티아지드 (hydrochlorothiazide)와 함께 조합하여 형성될 수 있고, 장내 또는 지연 방출 코팅을 갖는 pH 안정화된 코어로 서, 신경성 스테로이드가 대장에 도달할 때까지 보호한다.
- [0169] 경구 투여용 액체 제형은, 예를 들어 용액, 시럽 또는 현탁액의 형태를 취할 수 있거나, 사용 전에 물 또는 다 른 적합한 비히클로 구성하기 위한 건조 생성물로서 제공될 수 있다. 이러한 액체 제형은 현탁액 (예를 들어, 소르비톨 시럽, 셀룰로오스 유도체 또는 수소화된 식용 지방); 유화제 (예 : 레시틴 또는 아카시아); 비-수용성 비히클 (예를 들어, 아몬드 오일, 유성 에스테르, 에틸 알코올 또는 분별 식물성 오일); 및 보존제 (예를 들어, 메틸 또는 프로필-p-하이드록시 벤조에이트 또는 소르브산)과 같은 약학적으로 허용되는 첨가제를 사용하여 통 상적인 기술에 의해 제조될 수 있다. 상기 제형은 또한 완충염, 향미제, 착색제 및 감미제를 적절하게 함유할 수 있다. 경구 투여용 제형은 활성 화합물의 조절된 방출을 제공하도록 적합하게 제형화될 수 있다. 구강 (buccal) 투여를 위해, 상기 조성물은 통상적인 방식으로 제형화 된 정제 또는 로젠지(lozenges) 형태를 취할 수 있다.
- [0170] 상기 화합물은 또한 이식 또는 주사를 위한 제제로 제형화 될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 상기 화합물은 적합 한 중합체성 또는 소수성 물질 (예를 들어, 허용 가능한 오일 중의 에멀전) 또는 이온 교환 수지, 또는 난 용성 유도체(예를 들어, 난용성염(sparingly soluble salt))로 제형화 될 수 있다.
- [0171] 상기 화합물은 또한 유중수 에멀전(water-in-oil emulsions), 수중유 에멀전(oil-in-water emulsions) 또는 수 중유중수 에멀전(water-in-oil-in water emulsions)으로 투여되는 오일로 제형화될 수 있다.
- [0172] 상기 화합물은 또한 직장 조성물 (예를 들어, 코코아 버터 또는 다른 글리세리드와 같은 통상적인 좌약베이스를 함유하는 좌약 또는 제류 관장), 크림 또는 로션, 또는 경피 패치로 제형화 될 수 있다.
- [0173] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 인간에게 사용하기에 제약 상 허용되는 조성물을 사용한다. 당업자는 인간에게 사용하기에 제약상 허용되는 조성물에 존재할 수 있는 성분의 성질 및 인간에서 사용하기에 제약 허용 되는 조성물에서 어떤 성분을 배제해야 하는지를 이해한다.
- [0174] V.E. 투여량(Doses)
- [0175] 본원에 사용된 바와 같이, 문구 "치료 유효량(treatment effective amount)", "치료학적 유효량 (therapeutically effective amount)", "치료량(treatment amount)" 및 "유효량(effective amount)"은 상호 교 환적으로 사용되며 측정 가능한 반응을 생성하기에 충분한 치료 조성물의 양(예를 들어, 치료되는 대상에서 생 물학적 또는 임상적으로 관련된 반응)을 의미한다. 본원에 기재된 주제의 약학적 조성물에서 활성 성분의 실제 투여량 수준은 특정 개체에 대한 원하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 양의 활성 화합물(들)을 투여하도록 변화될 수 있다.
- [0176] 상기 선택된 투여량 수준은 치료용 조성물의 활성, 투여 경로, 다른 약물 또는 치료제와의 병용, 치료되는 상태 의 중증도, 치료되는 개체의 상태 및 이전 의학적 이력 등에 의존할 수 있다. 그러나, 원하는 치료 효과를 달성 하고 원하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점차적으로 증가시키기 위해 요구되는 것보다 낮은 수준에서 화합 물의 투여량을 시작하는 것은 당업자에게 있다.
- [0177] 치료용 조성물의 효능은 다양할 수 있으므로, "치료학적 유효량(therapeutically effective amount)"은 다양할 수 있다. 그러나, 당업자는 본원에 기재된 주제의 후보 조절제의 효능 및 효과를 용이하게 평가하고 이에 따라 치료 요법을 조정할 수 있다.
- [0178] 본원에 기재된 주제의 본원의 기재를 검토한 후, 특정 제형, 조성물과 함께 사용될 투여 방법 및 다른 인자를 고려하여 당업자는 투여량을 개별적인 개체에 맞출 수 있다. 추가 투여량 계산은 개체 키와 체중, 증상의 중증 도와 단계, 및 추가적인 유해한 신체 상태의 존재를 고려할 수 있다. 이러한 조절 또는 변형, 뿐만 아니라 이러 한 조절 또는 변형을 언제 어떻게 수행하는지에 대한 평가는 의학 분야의 당업자에게 잘 알려져 있다.

[0179] 따라서, 일부 실시양태에서, 상기 용어 "유효량(effective amount)"은 가스트린 펩티드에 대한 체액성 또는 세포성 면역 반응을 제공 및/또는 유도하는 제제 및/또는 측정 가능한 항-종양 및/또는 항-암 생물학적 활성을 생성하기에 충분한 가스트린 유전자 생성물, 이의 약학적으로 허용 가능한 염, 이의 유도체 또는 이들의 조합물의 발현을 억제하는 핵산을 포함하는 조성물의 양을 의미하기 위해 본원에서 사용된다. 본원에 기재된 주제의 조성물에서 활성 성분의 실제 투여량 수준은 특정 개체 및/또는 적용에 대한 원하는 반응을 달성하는데 효과적인 양의 활성 화합물(들)을 투여하도록 변경될 수 있다. 선택된 투여량 수준은 상기 조성물의 활성, 제형, 투여 경로, 다른 약물 또는 치료제와의 병용, 치료되는 상태의 중증도, 및 신체 상태 및 치료되는 개체의 이전 병력을 포함하는 다양한 인자에 의존할 수 있다. 일부 실시양태에서, 최소 용량이 투여되고, 투여량-제한 독성이 없을 때 최소 유효량으로 용량이 증가된다. 유효 투여량의 결정 및 조정뿐만 아니라 이러한 조정을 언제 그리고 어떻게 수행하는지에 대한 평가는 당업자에게 공지되어있다.

[0180] 본원에 기재된 바와 같이 조성물의 투여를 위해, 무린 동물 모델에 투여된 투여량을 기초로 인간 투여량을 추론하는 통상적인 방법은 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 약물 투여량은 또한 신체 표면적  $1m^2$  당 밀리그램으로 제공될 수 있으며, 체중이 아닌 이 방법은 특정 대사 및 배설 기능과 좋은 상관관계를 달성할 수 있기 때문이다. 게다가, 신체 표면적은 Freireich et al., 1966에 기술된 바와 같이 다른 동물 종뿐만 아니라 성인 및 어린이의 약물 투여량에 대한 공통분모로 사용될 수 있다. 간략하게, 임의의 주어진 종에서 mg/kg 용량을 동등하게  $mg/m^2$  용량으로 나타내려면, 적절한 km 인자를 곱한다. 성인인간에서,  $100\text{ mg/kg}$ 은  $100\text{ mg/kg} \times 37\text{ kg/m}^2 = 3700\text{ mg/m}^2$ 이다.

[0181] 제형 및 투여량에 관한 추가 지침은 미국 특허 제5,326,902호; 제5,234,933호; PCT 국제 공개 번호 WO 93/25521; Remington et al., 1975; Goodman et al., 1996; Berkow et al., 1997; Speight et al., 1997; Ebadi, 1998; Duch et al., 1998; Katzung, 2001; Gerbino, 2005를 참조한다.

[0182] V.F. 투여 경로(Routes of Administration)

[0183] 본원에 기재된 조성물은 임의의 형태 및/또는 임의의 투여 경로에 의해 개체에게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 제형은 지속된 방출 제형, 조절된 방출 제형, 또는 지속 및 조절된 방출 모두를 위해 설계된 제형이다. 본원에 사용된 바와 같이, 상기 용어 "지속된 방출(sustained release)"은 대략적으로 일정한 양의 활성 제제가 시간이 지남에 따라 개체에게 이용 가능하게 하는 활성 제제의 방출을 의미한다. 상기 문구 "조절된 방출(controlled release)"은 시간이 지남에 따라 일정 수준에 있거나 없을 수 있는 활성 제제의 방출을 의미하며, 더 광범위하다. 특히, "조절된 방출(controlled release)"은 활성 성분이 반드시 일정한 속도로 방출되지 않는 상황 및 제형을 포함하나, 시간에 따른 방출 증가, 시간에 따른 방출 감소 및/또는 하나 이상의 방출 증가 기간에 의한 일정한 방출, 방출 감소 또는 이의 조합을 포함할 수 있다. 따라서, "지속된 방출(sustained release)"은 "조절된 방출(controlled release)"의 형태이지만, 후자는 또한 상이한 시간에 전달되는 활성 제제의 양의 변화를 이용하는 전달 방식을 포함한다.

[0184] 일부 실시양태에서, 지속 방출 제제, 제어 방출 제제 또는 이의 조합물은 경구 제형(oral formulation), 경구적 제형(peroral formulation), 구강 제형(buccal formulation), 장 제형(enteral formulation), 폐 제형(pulmonary formulation), 직장 제형(rectal formulation), 질 제형(vaginal formulation), 비강 제형(nasal formulation), 설측 제형(lingual formulation), 설하 제형(sublingual formulation), 정맥 내 제형(intravenous formulation), 동맥 내 제형(intraarterial formulation), 심장 내 제형(intracardial formulation), 근육 내 제형(intramuscular formulation), 복강 내 제형(intraperitoneal formulation), 경피 제형(transdermal formulation), 두개내 제형(intracranial formulation), 피내 제형(intracutaneous formulation), 피하 제형(subcutaneous formulation), 에어로졸화 제형(aerosolized formulation), 안구 제형(ocular formulation), 이식 가능한 제형(implantable formulation), 데포 주사 제형(depot injection formulation), 경피 제형(transdermal formulation) 및 이의 조합으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 투여 경로는 임플란트 및 데포 주사(depot injection)를 통해 경구, 경구적, 구강내, 장내, 폐내, 직장내, 질내, 비강내, 설측, 설하, 정맥 내, 동맥 내, 심장내, 근육 내, 복강 내, 경피 내, 두개 내, 피내, 피하, 안구로 이루어진 군으로부터 선택된다. 적용 가능한 경우, 연속적인 주입은 표적 사이트에서 약물 축적을 향상시킬 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 제6,180,082호 참조). 또한 경피 제형 및 조성물의 전달 방법에 대하여 미국 특허 제3,598,122호; 제5,016,652호; 제5,935,975호; 제6,106,856호; 제6,162,459호; 제6,495,605호; 및 제6,582,724호; 및 미국 특허 출원 공개 번호 2006/0188558를 참조한다. 일부 실시양태에서,

상기 투여는 경구, 정맥 내, 복강 내, 흡입 및 종양 내로 이루어진 군으로부터 선택된 경로를 통해 이루어진다.

[0185] 본원에 기재된 방법에 따라 사용되는 본원에 기재된 주제의 조성물의 특정 투여 방식은 사용되는 제형, 치료될 상태의 중증도, 상기 조성물(예를 들어, PAS) 중 활성 제제가 국소적 또는 전신적으로 작용하도록 의도되는지 여부, 및 투여 후 활성 제제의 대사작용 또는 제거를 위한 메커니즘을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 인자에 의존할 수 있다.

[0186] VI. 방법 및 용도

[0187] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 가스트린-관련 종양 및/또는 암 치료, 가스트린-관련 종양 및/또는 암 치료용 약제 생산, 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 성장 억제, 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대한 체액성 및/또는 세포성 면역 반응의 유도 및/또는 향상, 종양 및/또는 암에 대한 세포성 면역 반응의 유도인자에 대한 개체에서 가스트린 및/또는 CCK-B 수용체 신호 전달과 관련하여 종양 및/또는 암의 감작화, 특히 체장암과 관련하여, 종양 및/또는 암과 관련된 섬유증의 형성을 예방, 감소 및/또는 제거하고; 가스트린 관련 종양 및/또는 암의 전이를 예방, 감소 및/또는 제거하고; 종양 및/또는 암에서 종양 침윤성 CD8<sup>+</sup> 림프구 수의 증가; 종양 및/또는 암에 존재하는 FoxP3<sup>+</sup> 억제 T-조절 세포의 수 감소; 및 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 반응하는 개체에서 T<sub>EMRA</sub> 세포의 수를 증가시키는 것에 관한 다양한 방법 및/또는 용도와 관련하여 약학적 조성물을 이용하는 것에 관한 것이다. 이들 방법 및/또는 용도 각각은 하기에 보다 상세하게 설명된다.

[0188] VI.A. 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 치료방법

[0189] 본원에 기재된 일부 실시양태는 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 치료방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린 펩티드 및/또는 CCK-B 수용체에 대한 능동적(active) 및/또는 수동적(passive) 체액 면역 반응을 유도 및/또는 제공하는 제1 제제; 및 가스트린-관련 종양 또는 암에 대해 세포 면역반응을 유도 및/또는 제공하는 제2 제제를 포함하는 조성물의 유효량을 이를 필요로 하는 개체 (예를 들면, 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 가진 개체)에게 투여하는 단계를 포함한다. 따라서, 본원에 기재된 일부 실시양태는 2가지의 구별되는 면역 치료활성 (즉, 가스트린 펩티드 및/또는 CCK-B 수용체에 대한 능동적 및/또는 수동적 체액 면역반응을 제공 및/또는 유도하는 활성, 및 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대해 세포 면역반응을 유도 및/또는 제공하는 활성)을 제공하는 하나 이상의 활성 제제를 함유하는 약제학적 조성물의 사용에 의존한다.

[0190] 가스트린 펩티드 및/또는 CCK-B 수용체에 대한 능동적 및/또는 수동적 체액 면역반응을 제공 및/또는 유도하는 활성과 관련하여, 본원에 기재된 양태의 약제학적 조성물 내의 제1 제제는 가스트린에 대해 능동적 체액 면역반응을 유도하도록 설계된 가스트린 펩티드, 및/또는 가스트린 및/또는 CCK-B 수용체 (특정 실시양태에서는, 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 존재하는 CCK-B 수용체)에 대한 수동적 체액 면역반응을 제공하도록 설계된 항-가스트린 항체 및/또는 항-CCK-R 항체로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 특정 활성 이론에 얽매이지 않고, 가스트린 펩티드 및/또는 CCK-B 수용체에 대한 능동적 및/또는 수동적 체액 면역반응은, 개체내 존재하는 순환 가스트린(circulating gastrin)의 양을 감소시키고/감소시키거나 중화 및/또는 차단 항체를 사용하여 가스트린이 CCK-B 수용체에 결합하는 것을 방해함으로써 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 CCK-B 수용체를 통한 가스트린 시그널링을 부분적 또는 전체적으로 억제하도록 설계된다.

[0191] 따라서, 일부 실시양태에서 상기 제1 제제는 가스트린 펩티드, 선택적으로는 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3), 및 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나(comprising), 필수적으로 이루어지거나(consisting essentially of), 이루어지며(consisting of), 상기 서열번호 1 내지 4의 아미노산의 제1 잔기인 글루탐산은 피로글루타메이트(pyroglutamate) 잔기이다. 일부 실시양태에서, 가스트린 펩티드는 약학적 조성물 내에 면역원성 담체에 결합되며, 선택적으로는 링커를 통해 결합되고, 보다 선택적으로는 ε-말레이미도 카프로산 N-하이드록시숙신아미드 에스테르(ε-maleimido caproic acid N-hydroxysuccinamide ester)를 포함하는 링커에 의해 결합된다. 면역원성 담체의 비-제한적인 예로는, 디프테리아 독소이드(diphtheria toxoid), 과상풍 독소이드(tetanus toxoid), 키홀-림펫 해모시아닌(keyhole limpet hemocyanin), 및 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)이 포함된다. 제1 제제의 구조는 상기에서 보다 자세히 기재되어 있으나, 일부 실시양태에서는 상기 링커와 가스트린 펩티드가 아미노산 스페이서(amino acid spacer)로 분리될 수 있으며, 선택적으로는 상기 아미노산 스페이서는 1 내지 10 아미노산 길이이고, 보다 선택적으로는 상기 아미노산 스페이서는 7 아미노산 길이이다.

[0192] 본원의 기재내용을 고려하면 당업자가 이해할 수 있는 바와 같이, 일부 실시양태에서 상기 약제학적 조성물은,

능동적인 항-가스트린 체액 면역반응이 필요한 경우에 가스트린 펩티드 및/또는 가스트린 펩티드 컨쥬게이트의 면역원성을 향상시키기 위해, 보조제(adjuvant), 선택적으로는 오일-베이스 보조제를 추가로 포함한다.

[0193] 가스트린-관련 종양 또는 암에 대한 세포 면역반응을 유도하기 위해, 본원의 양태에 따른 방법은 하나 이상의 체크포인트 억제제(checkpoint inhibitor)를 포함하는 약제학적 조성물을 사용한다. 알려진 바와 같이, 체크포인트 억제제는 체크포인트 면역활성을 가지는 표적 폴리펩티드의 하나 이상의 생물학적 활성을 억제한다. 상기한 폴리펩티드의 예로는, 세포독성 T-림프구 항원 4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA4) 폴리펩티드, 프로그램된 세포 사멸-1 수용체(programmed cell death-1 receptor, PD-1) 폴리펩티드, 및 프로그램된 세포 사멸 1 수용체 리간드(programmed cell death 1 receptor ligand, PD-L1) 폴리펩티드가 포함된다. 일부 실시양태에서, 체크포인트 억제제는 PD-1 폴리펩티드와 PD-L1 폴리펩티드 사이의 상호작용을 억제하거나 방지함으로써 T 세포와 종양 세포 사이의 상호작용에 결합하고/하거나 방해하는 항체 또는 소분자를 포함한다. 상기한 항체 및 소분자의 예로는 이필리무맙(Ipilimumab), 트레멜리무맙(Tremelimumab), 니볼루맙(Nivolumab), 피딜리주맙(Pidilizumab), 펌브롤리주맙(Pembrolizumab), AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙(Atezolizumab), MPDL3280A, RG7446, RO5541267, MEDI4736, 아벨루맙(Avelumab) 및 더발루맙(Durvalumab)이 포함되며, 이에 한정되지 않는다.

[0194] 본원에 기재된 양태의 약제학적 조성물은, 체액 및 세포 반응이 개체 내에서 유도 및/또는 제공되고, 치료 효과를 극대화하고/하거나 바람직하지 않은 부작용을 최소화하기 위해 약제학적 조성물에 존재하는 제1 제제 및 제2 제제의 함유량이 조절될 수 있는 전제하에, 다양한 함유량의 제1 제제 및 제2 제제를 포함한다. 일부 실시양태에서 약제학적 조성물은 약 50 $\mu$ g 내지 약 1000 $\mu$ g, 약 50 $\mu$ g 내지 약 500 $\mu$ g, 약 100 $\mu$ g 내지 약 1000 $\mu$ g, 약 200 $\mu$ g 내지 약 1000 $\mu$ g, 약 250 $\mu$ g 내지 약 500 $\mu$ g로 이루어진 그룹 중에서 선택된 투여량으로 투여되며, 선택적으로는 상기 투여량은 1회, 2회 또는 3회 반복 투여되며, 선택적으로는 제2 투여량은 제1 투여량 후 1주 후에 투여되며, 만약 투여된다면 제3 투여량은 제2 투여량 후 1주 또는 2주 후에 투여된다.

[0195] 본원에 기재된 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 치료방법은 상기 종양 및/또는 암에서 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성을 직접적 또는 간접적으로 억제하는 제1 제제, 및 상기 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역반응의 활성화제를 포함하는 제2 제제를 이를 필요로하는 개체에 투여하는 것을 포함한다. 이와 같이, 일부 실시양태에서 상기 제1 제제는 가스트린 펩티드에 대해 체액 면역반응을 제공 및/또는 유도함으로써 상기 종양 및/또는 암에서 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성을 직접적 또는 간접적으로 억제하며, 선택적으로 상기 제1 제제는 개체에서 중화 항-가스트린 항체의 생성을 유도하는 항-가스트린 항체 및 가스트린 펩티드로 이루어진 그룹으로부터 선택되고/되거나, 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 핵산을 포함한다. 본원의 기재내용을 고려하면 당업자는 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 핵산을 이해할 것이며, 그 예는 상기한 바와 같다.

[0196] 항-가스트린 항체는 당업계에 공지되어 있으며, 미국특허 US 5,607,676호, US 5,609,870호, US 5,622,702호, US 5,785,970호, US 5,866,128호, US 6,861,510호에 기재되어 있으며, 또한 PCT 국제출원 공개공보 WO2003/005955 및 WO2005/095459호를 참조하기 바란다. 상기 미국특허 및 PCT 국제출원 공개공보에 기재된 내용 전체는 본원의 참조문헌으로 인용된다. 일부 실시양태에서, 항-가스트린 항체는 가스트린-17 (G17) 내에 존재하는 에피토프에 대한 항체이다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 아미노산 서열 EGPWLEEEEE(서열번호 1), EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 및 EGPWLEEEEEAYGWMDF(서열번호 4) 중 하나 이상의 아미노산 서열 내에 존재한다.

[0197] 일부 실시양태에서, 본원의 약제학적 조성물을 개체에 투여함으로써 췌장암과 관련된 섬유증(fibrosis)의 감소를 유도하고/하거나 섬유증의 발생을 예방한다.

[0198] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 치료방법은 개체에서 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 성장 및/또는 생존을 억제하도록 설계된다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 치료방법은 가스트린 면역원(gastrin immunogen), 하나 이상의 항-가스트린 항체, 하나 이상의 항-CCK-B 수용체 항체, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 제1 제제; 및 체크 포인트 억제제를 포함하는 제2 제제를 포함하는 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0199] 따라서, 본원의 일부 실시양태에서는 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 치료를 위한 상기 약제학적 조성물의 용도(use) 뿐만 아니라, 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 치료 약제의 제조를 위한 상기 약제학적 조성물의 용도(use)를 제공한다.

- [0200] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 복수-제제(multi-agent) 약제학적 조성물은 각 제제를 단독으로 사용하여 유사한 개체를 치료할 때에 비해 가스트린-관련 종양 및/또는 암의 치료에 있어서 보다 강화되고/되거나, 보다 효과적이고/이거나, 보다 성공적인 효과를 제공한다.
- [0201] VI.B. 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역반응을 유도 및/또는 강화하는 방법
- [0202] 본원에서는 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역반응을 유도 및/또는 강화하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린-관련 종양 또는 암에 존재하는 CCK-B 수용체를 통한 가스트린 시그널링(gastrin signaling)을 감소 또는 억제하는 제제를 포함하는 조성물의 유효량을 가스트린-관련 종양 또는 암을 가지는 개체에 투여하는 단계를 포함하여, 개체의 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역반응을 유도 및/또는 강화한다. 본원에서 “가스트린-관련 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역반응을 유도 및/또는 강화” 한다는 표현과 이의 문법적인 변형은, 가스트린-관련 종양 또는 암에 존재하는 CCK-B 수용체를 통한 가스트린 시그널링을 감소 또는 억제하는 제제를 포함하는 조성물의 유효량을 가스트린-관련 종양 또는 암을 가지는 개체에 투여한 결과, 투여 후 관련 시각(at a relevant time post administration)에서 개체내의 T 세포-기반 면역반응의 수준이 이러한 치료를 받지 않은 개체에서 존재하는 것보다 높은 상황을 지칭한다. 가스트린-관련 종양 또는 암에 존재하는 CCK-B 수용체를 통한 가스트린 시그널링을 감소 또는 억제하는 제제로는, 가스트린 펩티드와 CCK-B 수용체의 상호작용을 방해할 수 있는 본원에 기재된 제제를 포함하며, 비-제한적인 예로서 가스트린 펩티드 및/또는 면역원, 항-가스트린 항체, 항-CCK-B 수용체 항체, 가스트린/CCK-B 시그널링의 소분자 억제제, 및 이의 조합이 포함된다.
- [0203] VI.C. 종양 및/또는 암을 세포 면역반응의 유도인자(inducer)에 감작화(sensitizing)시키는 방법
- [0204] 본원의 일부 실시양태에서는, 개체에서 가스트린 및/또는 CCK-B 수용체 시그널링과 관련된 종양 및/또는 암을 상기 종양 및/또는 암에 대한 세포 면역반응의 유도인자에 감작화시키는 방법을 제공한다. 본원에서 표현 “개체에서 가스트린 및/또는 CCK-B 수용체 시그널링과 관련된 종양 및/또는 암을 세포 면역반응의 유도인자에 감작화” 시킨다는 것은, 치료받지 않았을 때와 비교하여, 하나 이상의 세포 면역반응 유도인자를 개체에 투여하였을 때의 개체에서 결과적으로 나타나는 세포 면역반응을 가져오는 치료를 지칭한다.
- [0205] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 가스트린 펩티드에 대한 능동적(active) 및/또는 수동적(passive) 체액 면역반응을 유도 및/또는 제공하는 제1 제제, 및 상기 종양 또는 암에 대해 세포 면역반응을 유도 및/또는 제공하는 제2 제제, 및 이의 조합을 포함하는 조성물, 선택적으로는 상기 제1 제제 및 제2 제제는 개체에서 세포 면역반응 또는 중화 항-가스트린 항체의 생산을 유도하는 가스트린 펩티드 및/또는 이의 단편 및/또는 이의 유도체, 및 중화 항-가스트린 항체 및/또는 이의 단편 및/또는 이의 유도체로 이루어진 그룹으로부터 각각 독립적으로 선택되며; 및/또는 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 핵산을 포함하는 조성물; 및/또는 CCK-B 수용체에서 가스트린의 생물학적 활성을 저지하는 제제를 포함하는 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 항-가스트린 항체는 가스트린-17 (G17) 내에 존재하는 에피토프에 대한 항체이다.
- [0206] 따라서, 개체에서 가스트린 및/또는 CCK-B 수용체 시그널링과 관련된 종양 및/또는 암을 세포 면역반응의 유도인자(inducer)에 감작화시키는 본원 발명의 일부 실시양태에서는, 개체에서 가스트린 펩티드에 대한 능동적 및/또는 수동적 체액 면역반응을 유도 및/또는 제공하고, 상기 종양 또는 암에 대해 세포 면역반응을 유도 및/또는 제공하기 위해 본원에 기재된 약제학적 조성물을 개체에 투여하는 단계를 포함한다.
- [0207] VI.D. 종양 및/또는 암과 관련된 섬유증의 예방, 감소 및/또는 제거 방법
- [0208] PC는 또한 조밀한 섬유성 환경(Neesse et al., 2011)을 특징으로 하며, 이는 혈관 신생을 촉진하고 화학 요법 및 면역 치료제의 취약 종양 부위로의 침투를 억제할 수 있는 물리적 장벽을 생성한다(Templeton & Brentnall, 2013). PAS 투여에 의해, 선택적으로 하나 이상의 면역 체크 포인트 억제제와 조합하여, PC 섬유증의 특징인 섬유성 특성이 감소 될 수 있다는 예상치 못한 놀라운 관찰이 본원에 개시된다. 특정 작동 이론에 구속되고 싶지는 않지만, 섬유증의 감소는 체크 포인트 mAb와 같은 거대 분자를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 약물의 더 큰 침투를 촉진할 수 있다. 이것은 왜 체크 포인트 억제제가 PDAC 세포로의 체크 포인트 mAb의 침투 부족으로 인해 매우 적당한 효능으로 특징지어졌는지를 설명할 수 있다. 따라서, 본원에 기재된 주제의 한 측면은 PAS+ 면역 체크 포인트 억제제가 단독 요법으로 제공 될 때 개별적으로 항-PDAC-종양 활성을 갖지만, 본원에 개시된 바와 같은 조합 요법으로 제공될 때, 훨씬 더 큰 활성을 갖는다는 것이다.
- [0209] 본원에 기재된 주제에 따라 다양하지만, 상보적이거나 심지어 상승작용 기전을 갖는 신규하고 혁신적인 약물 조합이, PDAC의 고유한 섬유성 성질을 다루고 항-면역 체크포인트 억제제 mAb에 제한되지 않는 큰 단일 클론 항

체(mAbs)의 종양 환경에 더 많이 접근할 수 있도록, 제공된다. 임의의 특정 작동 이론에 구속되기를 원하지 않지만, 병용 요법의 일부로서 함께 투여될 때 PAS+ 면역 체크포인트 억제제는 PDAC와 관련된 섬유증을 감소시킴으로써 화학요법 제제 및 면역 체크포인트 억제제 약물에 종양을 보다 접근 가능하게 하는 상승효과를 제공할 수 있으며, 이로써 항종양 치료제가 가스트린-관련 종양에 대한 세포성 면역 반응을 유도하기 위해 PD-1과 PD-L1의 상호 작용을 표적으로 할 수 있게 한다.

[0210] PAS로의 처리는 자가분비 및 주변분비 종양/암 성장인자 가스트린에 대한 체액성 면역학적 반응(즉, 항체 반응)을 초래한다. 그렇게 함으로써, PAS는 세포증식, 아팍토시스, 혈관신생, 침입 및 전이에 영향을 미침으로써 종양/암(예를 들어, PDAC) 표현형에 영향을 미친다. 본원에 기재된 바와 같이, PAS는 또한 PDAC와 관련된 섬유증을 감소시키는 데 효과적이다. 임의의 특정 작동 이론에 구속되기를 원하지 않지만, 이는 면역 체크포인트 억제제 mAb와 같은 큰 분자가 췌장 종양 부위에 더 많이 접근할 수 있는 능력을 향상시키는 것으로 여겨지며, 이는 결국 훨씬 더 큰 세포 면역 효과를 촉진할 것으로 예상된다. PAS는 또한 가스트린에 대한 세포성 면역 반응을 초래한다. 따라서, 효능을 위해 종양에 접근할 필요가 있는 치료제에 대한 내성에서 PDAC의 고유한 섬유성 및 재발성 특성을 다루기 위해, 본원 발명은 면역 체크포인트 억제제, 예컨대 항-PD-1, 항-PD-L1 및/또는 항-CTLA-4 mAb의 투여와 관련하여 PAS 투여에 의해 종양 및/또는 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0211] 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 종양 및/또는 암의 세포를 접촉시킴으로써, 관련된 섬유증의 형성을 예방, 감소 및/또는 제거하는 방법을 제공한다. 이는 선택적으로는 췌장암을 종양 및/또는 암에서 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 억제시키는 종양 및/또는 암의 세포를 작용제와 접촉시키는 것과 관련된 것이다. 가스트린의 하나 이상의 생물학적 활성을 직접적으로 또는 간접적으로 억제하는 작용 제제는 본원에 개시되어 있고, 가스트린 펩티드(예를 들어, 항-가스트린 항체 및/또는 단편 및/또는 이의 유도체), 및 개체에서 중화 항-가스트린 항체의 생성을 유도하는 가스트린 펩티드; 가스트린 유전자 생성물의 발현을 억제하는 억제 핵산; 가스트린 호르몬의 기능을 차단하는 소분자 화합물 및 이들의 조합에 반하는 체액성 면역 반응을 제공 및/또는 유도하는 제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-가스트린 항체는, 일부 실시 양태에서 EGPWLEEEEE(서열번호 1)에 존재하고, EGPWLEEEEE(서열번호 2), EGPWLEEEEEAY(서열번호 3) 및 EGPWLEEEEEAYGWMD(서열번호 4)의 하나 이상의 아미노산 서열에 있는 에피토프인 가스트린-17(G17) 내에 존재하는 에피토프에 반하여 지시된 항체를 포함한다.

[0212] 본원에 기재된 다른 면역원성 형태의 가스트린 및 가스트린 펩티드와 같이, 일부 실시 양태에서, 가스트린 펩티드는 면역원성 담체, 선택적으로 디프테리아 독소이드, 파상풍 독소이드, 키크-림렛 헤모시아닌 및 소 혈청 알부민으로 이루어진 군으로부터 선택된 면역원성 담체에서 선택된다.

[0213] 일부 실시양태에서, 종양 및/또는 암과 관련된 섬유증의 형성을 예방, 감소 및/또는 제거하는 방법, 선택적으로는 췌장암은 종양 및/또는 암을 종양 및/또는 암에 대한 세포성 면역 반응들이다. 세포 면역 반응의 예시적인 자극제는 면역 체크포인트 억제제, 예를 들어 세포독성 T-림프구 항원 4 (CTLA4), 프로그램된 세포사멸-1 수용체 (PD-1) 및 리필리무맙, 트레 멜리무맙, 니볼루맙, 피딜리주맙, 펠브롤리주맙, AMP514, AUNP12, BMS-936559/MDX-1105, 아테졸리주맙, MPDL3280A, RG7446, R05541267, MEDI4736 및 아벨루맙을 포함하지만 이에 제한되지 않는 프로그램된 세포사멸 1 수용체 리간드(PD-L1)로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 폴리펩티드의 생물학적 활성을 억제하는 것이다.

[0214] 일부 실시양태에서, 섬유증의 형성을 예방, 감소 및/또는 제거하는 종양 및/또는 암은 췌장암이다.

[0215] VI.E. 존재하는 개체 및 종양에서 T 세포 소집단을 조절하는 방법

[0216] 본원에 기재된 바와 같이, 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 갖는 피험자에게 현재 개시된 대상의 억제 조성물의 투여는 가스트린-관련 종양 및/또는 암으로 치료된 개체에 존재하는 순환 T 세포 소집단(circulating T cell subpopulations)들 뿐만 아니라 종양 및/또는 암 자체에 존재하는 T 세포 소집단들, 둘 모두를 변형시키는 것으로 관찰되었다.

[0217] 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 갖는 피검체에 본 발명의 주제인 약학적 조성물의 투여는 가스트린-관련 종양 및/또는 존재하는 CD8+ 종양 침윤 림프구(TIL)의 수를 향상을 시킨다. TIL은 항-종양 및 항-암 활성을 가지며, 따라서 종양 및/또는 암에서 TIL의 수를 증가시키는 것이, 단독 또는 1차 및/또는 2차 치료와 조합하는 본원에 기재된 내용의 약학적 조성물과의 다양한 치료 전략의 항-종양 및/또는 항-암 효능을 증가시킬 수 있다는 것이 당-업계에 인식되어있다.

[0218] 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 갖는 피검체에 본 발명의 주제인 약학적 조성물의 투여는

가스트린-관련 종양 및/또는 암에 존재하는 FoxP3<sup>+</sup> 억제 T-조절 세포 (T<sub>reg</sub>)의 수를 감소시킨다. T<sub>regs</sub>는 면역 억제 활성, 특히 종양 및 암-특이적 면역 억제 활성을 가지며, 따라서 종양 및/또는 암에서 FoxP3<sup>+</sup> 억제 T<sub>regs</sub>의 수를 감소시키는 것이 본원에 기재된 주제인 약학적 조성물 단독 또는 다른 1차 및/또는 2차 치료와의 조합에 의한 다양한 치료 전략의 더 큰 항종양 및/또는 항암 효능을 유도할 수 있다. 일부 실시양태에서, 종양 및/또는 암에서 FoxP3<sup>+</sup> 억제 T<sub>reg</sub>의 수를 감소시켜서 1차 화학 요법의 효능이 더 커질 수 있다.

[0219] 일부 실시양태에서, 가스트린-관련 종양 및/또는 암을 갖는 피험체에 본원 발명의 약학적 조성물의 투여는 피험체에서 항-가스트린 T<sub>EMRA</sub> 세포의 증가를 초래한다. T<sub>EMRA</sub>세포는 말초 순환 및 조직에서 발견되는 효과 기억 T 세포이다. T<sub>EMRA</sub> 세포는 전이를 인식하는 데 관여할 수 있는 감시 활성을 갖는 것으로 보인다. 따라서, 개체에서 항-가스트린 T<sub>EMRA</sub> 세포의 증가는 가스트린-관련 종양 및/또는 암과 관련된 전이를 예방, 감소 및/또는 제거할 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 개체를 본원에 개시된 약학적 조성물로 치료함으로써 가스트린 관련 종양 및/또는 암 항원을 인식하는 T<sub>EMRA</sub> 세포 및 이를 발현하는 세포를 증가시키는 방법에 관한 것이다.

[0220] 요약하면, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는, 단독 요법으로서 또는 가스트린-관련 종양 및/또는 암에 걸려있는 개체에 적합할 것으로 보이는 다른 요법과 조합하여, 가스트린 관련 종양 및/또는 암을 치료하기 위한 면역 체크포인트 억제제 및 가스트린 면역원을 포함하는 본원에 기재된 조성물의 용도에 관한 것이다.

[0221] VII. 결론

[0222] 따라서, 본원에 개시된 주제는 일부 실시양태에서 체액성 항체 면역 반응(예를 들어, 위암 백신 PAS 사용) 및 세포성 T 세포 면역 반응(예를 들어, 위 트린 암 백신 PAS 또는 면역 체크 포인트 억제제 사용), 둘 모두를 개별적으로 또는 함께 생성하는 방법의 조합을 사용하여 암치료를 위한 조합 요법에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 세포성 면역 항종양 효과와 조합하여 체액성 및 세포성 면역 항종양 반응을 생성하는 약물 분류의 즉시 기재된 조합을 사용하여 인간 및 동물 위장 종양을 치료하는데 있어서 예상치 못한 첨가제 및/또는 상승효과가 기술되어 있다.

[0223] 보다 구체적으로, 본원에 기재된 주제는 일부 구체 양태에서 (i) 종양 성장인자 또는 순환 종양 성장인자에 대한 체액성 B 세포 면역 반응을 유도하고; 그리고 (ii) 종양 독성 및/또는 암에 대한 세포성 면역 반응(즉, 항-종양 및/또는 항-암 T 세포 반응)을 유도 및/또는 향상시켜 세포 독성 T 림프구 반응을 유도한다.

[0224] 이와 같이, 본원에 개시된 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 실패를 극복하는 제2 약물과 조합된 가스트린 암 백신의 조합을 사용하여 인간 및 동물 종양 및 암을 치료하는 방법이다. 따라서, 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 주제는 B 세포 및/또는 항체 면역 반응 및 성장 인자 가스트린의 활성 형태에 대한 세포 면역 반응을 유도하는 암 백신으로 특정 인간 암을 치료하는 것에 관한 것이며, 이 백신 치료는 또한 면역 체크포인트 억제제에 의한 치료에 종양을 보다 반응성 만들어 항-종양 효능을 향상시키는 예상치 못한, 부가적, 또는 상승적인 조합 치료 효과를 생성한다는 것을 관찰하였다.

[0225] 또한, 본 발명의 주제의 약학적 조성물은 약제의 양의 가스트린 관련 종양 또는 암을 갖는 개체에게 CD8<sup>+</sup> 종양 침윤 림프구의 수를 향상시키기에 충분한 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서 약학적 조성물의 양을 투여함으로써 가스트린 관련 종양 또는 암의 전이를 예방, 감소 및/또는 제거하기 위해 사용될 수 있다.

[0226] 제104항에 있어서, 투여는, 약학적 조성물은 투여되지 않은 경우와 비교했을 때, 개체의 생존을 개선시키고, 종양 성장을 감소시키고/시키거나 개체에서 화학요법 제제 및/또는 면역 체크포인트 요법의 효능을 향상시키도록 한다.

[0227] 가스트린-관련 종양 또는 암을 갖는 개체에게 FoxP3<sup>+</sup> 억제 T-조절 세포의 수를 감소시키기에 충분한 정도의 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 양을 투여함으로써, 가스트린-관련 종양 또는 암의 전이를 예방, 감소 및/또는 제거하기 위한 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 사용이다.

**도면의 간단한 설명**

[0228] 도 1은 마우스에서 췌장 세포 종양의 성장에 영향을 미치는 면역 체크포인트 억제제(immune checkpoint

inhibitor)라 있거나 없는 특허 출원의 능력을 테스트하기 위한 예시적인 실험 전략의 개략도이다. 특정 실시양태에서, 피하 종양은 처리 전 -1주에  $5 \times 10^5$  뮤린 mT3 췌장암 세포를 C57BL/6 마우스에 주입함으로써(C57BL/6는 mT3 세포와 동종임) 생성되었다. 10 마리 마우스의 그룹(총 40마리)은 t=0, 1, 및 3주 째에 PAS 및/또는 t=0, 4, 8, 15, 및 21일 째에 항-PD-1 항체(PD1-1 Ab; Bio X cell, West Lebanon, New Hampshire, United States of America)를 처리하였다. 처리 사이에, 종양 부피를 측정하였다. 연구를 종료하고 비장으로부터 PBMC를 수집하였고 마우스로부터 종양을 절제하고 분석하였다.

도 2는 대조군(포스페이스트-완충 식염수(phosphate-buffered saline)만; PBS), PAS 단독(투여 당 100 µg; PAS100), PD-1 Ab 단독(투여당 150 µg; PD-1) 또는 PAS(투여당 100 µg) 및 PD-1 Ab(투여당 150 µg)의 조합물(PAS100 + PD-1)로 처리한 mT3-함유 마우스의 평균 종양 중량을 그래프로 나타내는 막대그래프이다. NS:  $p \geq 0.05$ (즉, 중요하지 않음); \*PBS와 비교하고 PAS100과 비교하여  $p < 0.05$ ; PD-1과 비교하여  $\#p = 0.0017$ , 오차막대는  $\pm$ SEM이다.

도 3A 및 도 3B는 PBS, PD-1 Ab 단독(투여당 150 µg; PD1); PAS 단독(투여당 100 µg; PAS), 또는 PAS(투여당 100 µg) 및 PD 1 Ab(투여당 150 µg)의 조합물(PAD/PD1)로 처리한 후 CD3<sup>+</sup> 말단 분화된 T 세포에 존재하는 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>-</sup> 및 CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> T<sub>EMRA</sub> 세포의 플롯 시리즈(a series of plot)이다. 도 3A는 다양한 처리를 수행한 마우스에서 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> 및 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup> (즉, T<sub>EMRA</sub>) 세포의 백분율을 나타낸다. 도 3B는 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup> T<sub>EMRA</sub> 세포인 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> 세포의 일부를 나타낸다. CD3<sup>+</sup> T 세포 분획(fraction)에서 CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup> T<sub>EMRA</sub> 세포의 부분을 계산하기 위해 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> 림프구의 백분율에 CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> 림프구/10000의 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup> T<sub>EMRA</sub> 세포의 백분율을 곱하여 세포의 일부를 계산하였다(도 3B 참조). \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ . 오차 막대는  $\pm 1$  표준 편차이다.

도 4A 및 4B는 PAS100으로 처리 후 가스트린으로 재-자극 없는 것(도 4A) 및 재-자극 있는(도 4B) 다양한 T 세포 소집단에서 TNF α, 그랜자임 B(Granzyme B), 퍼포린(Perforin) 및 INF γ에 대한 사이토카인 활성 분석을 요약한 막대 그래프이다. 도 4A는 PAS100으로 처리된 마우스의 비장으로부터 분리된 T 세포가 실제로 활성화된 것을 나타낸다. 이러한 동일한 세포를 6 시간 동안 배양하며 가스트린으로 재-자극하였을 때, 이는 재-자극되었고 각 사이토카인의 양이 훨씬 더 많이 방출되었다. 검정 막대(black bar): INF γ. 밝은 회색 막대(light gray bar): 그랜자임 B(Granzyme B). 어두운 회색 막대(Dark gray bar): 퍼포린(Perforin). 빗금 회색 막대(hatched gray bar): TNF α.

도 5A 및 5B는 PAS 단일 요법(도 5A) 또는 PAS100 + PD-1 조합물 요법(도 5B)으로 처리한 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>-</sup> (각 도면의 왼쪽 그룹), CD8<sup>+</sup> (각 도면의 가운데 그룹) 및 CD4<sup>+</sup>(각 도면의 오른쪽 그룹) T 세포 소집단에서 TNF α, 그랜자임 B, 퍼포린, 및 INF γ에 대한 사이토카인 방출을 비교하는 막대그래프이다. 활성화된 T 림프구는 PBS 처리된 마우스로부터의 림프구와 비교하여 증가된 사이토카인을 방출하였다. 상기 조합물 처리된 마우스로부터의 림프구는 현저하게 높은 레벨의 사이토카인을 방출하여, 조합 요법이 활성화된 T 세포를 자극하는데 더 우수한 것을 제안한다. TNF α는 특히 PAS+PD-1 Ab 조합물 요법으로 2배 이상 증가하였다. 검정 막대(black bar): INF γ. 밝은 회색 막대(light gray bar): 그랜자임 B(Granzyme B). 어두운 회색 막대(Dark gray bar): 퍼포린(Perforin). 빗금 회색 막대(hatched gray bar): TNF α.

도 6A 및 6B는 마우스에서 mT3 췌장암 세포 종양에서 섬유증의 발생에 대한 PBS 대조군, PD-1 단일요법, PAS100 단일요법 및 PAS100 & PD-1 조합물 요법의 결과를 나타낸다. 도 6A는 콜라겐 블루로 염색하고 섬유증의 지표를 제공하는 Masson's 트리크롬 염색(Masson's Trichrome Stain)으로 염색된 mT3 종양을 나타낸다. 도 6B는 도 6A에 나타난 염색 결과를 요약한 막대 그래프이다. PD-1 단일요법 및 PAS100 단일요법으로 처리된 종양의 통합된 밀도가 음성대조군 PBS 처리와 현저하게 다르지만, 상기 PAS+PD-1 Ab 조합물 요법은 밀도의 감소(따라서 섬유증)를 초래한 것으로 PBS 단독( $p < 0.005$ ) 및 PAS100 단독( $p < 0.001$ )과 비교하여 통계적으로 유의하다는 것에 주목한다. \*\*\* $p < 0.005$ 는 PBS와 비교한 것이고  $p < 0.001$ 은 PAS100과 비교한 것이다. 검정 막대(black bar): PBS. 밝은 회색 막대(light gray bar): PD-1 단독. 흰색 막대(white bar): PAS100 단독. 빗금 회색 막대(hatched gray bar): PAS100+PD-1.

도 7A 및 7B는 마우스의 mT3 췌장암 세포내에 CD8<sup>+</sup> 세포의 침윤시 PBS 대조군, PD-1 단일요법, PAS100 단일요법 및 PAS & PD-1 조합물 요법의 결과를 나타낸다. 도 7A는 마우스의 mT3 췌장암 세포 종양으로 CD8<sup>+</sup> 세포의 침윤시 PBS, PD-1 Ab(PD-1) 단일요법, PAS100 단일요법(특허 출원) 및 PAS100 & PD-1 조합물 요법으로 처리후 CD8에 결합하는 항체로 염색된 예시적인 mT3 종양을 나타낸다. 도 7B는 도 7A에 의해 예시된 데이터를 요약한 막대 그래프이다. PD-1(PD-1 Ab) 단일요법 또는 PAS100 단독으로의 처리는 음성 대조군 PBS 처리와 비교하여 종양에서 유의미하게 높은 레벨의 CD8<sup>+</sup> 세포(각각 p=0.0019 및 p=0.0026)를 야기하였다. 상기 PAS + PD-1 Ab 조합물 요법은 PBS 단독(p=4.7×10<sup>-5</sup>)과 비교하였을 때 PD-1 단독(p=0.042)과 비교하였을 때, PAS100 단독(p=0.039)과 비교하였을 때, 종양에서 더 높은 레벨의 CD8<sup>+</sup> 세포를 야기하였다. PAS100 단독과 비교하여 PD-1 단독은 유의미하게 상이하지 않다(p>0.05). PBS와 비교하여 \*\*p = 0.0026; \*\*\*p = 0.0019; \*\*\*\*p = 4.7 x 10<sup>-5</sup>. 오차막대는 ±SEM이다.

도 8A 및 8B는 mT3 종양에서 Foxp3<sup>+</sup> 세포의 분석을 나타낸다. 도 8A는 Foxp3 단백질, T<sub>regs</sub>에 대한 마커에 결합하는 항체로 염색된 예시적인 mT3 종양을 나타낸다. 필드(fields)의 비교는 PBS(왼쪽 상단 패널), PD-1 단일요법(오른쪽 상단 패널), 또는 PAS 100 단일요법(왼쪽 하단 패널)과 비교하여, PAS100 & PD-1 조합물 요법은 종양 내 T<sub>regs</sub>의 존재의 감소를 야기하였으며, PAS100 + PD-1 조합물 요법은 단일요법 단독과 비교하여 종양 내 미세 환경이 낮은 정도의 T<sub>reg</sub>-기반 면역억제에 의해 특징화 될 수 있도록 종양 내 환경을 변형시킬 수 있음을 나타낸다. 도 8B는 도 8A에 의해 예시된 데이터를 요약한 막대 그래프이다. PBS와 비교하여, PD-1 단일요법 또는 PAS100 단일요법으로 처리된 종양에서 Foxp3<sup>+</sup>의 수는 유의미하게 상이하지 않았다. PAS100 + PD-1 Ab 조합물 요법으로 처리된 종양은 음성대조군보다 Foxp3<sup>+</sup> 세포가 유의미하게 적었다. \* p = 0.038. 검정 막대(black bar): PBS. 밝은 회색 막대(light gray bar): PD-1 Ab 단독. 흰색 막대(white bar): PAS100 단독. 빗금 회색 막대(hatched gray bar): PAS100+PD-1 Ab. 오차막대는 ±SEM이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0229] 하기 실시예는 예시적인 실시양태를 제공한다. 본 발명의 기재 및 당업자의 일반적인 수준을 고려하여, 당업자는 하기 실시예가 단지 예시적인 것이며 다수의 변화, 변형 및 변경이 본원에 기재된 주제의 범위를 벗어나지 않고 이용될 수 있다.
- [0230] 실시예를 위한 재료 및 방법
- [0231] 세포주(Cell Line): Murine mT3 췌장 세포주는 Dr. David Tuveson 실험실(Cold Spring Harbor Laboratories, Cold Spring Harbor, New York, United States of America; see also Boj et al., 2015)에서 얻었다. 이러한 세포는 CCK-B 수용체를 발현하고 가스트린을 생성하는 것으로 나타났고, 종양 모델로서 사용되었다. 이러한 세포는 C57BL/6 마우스에서 종양을 생성한다(Smith et al., 2018).
- [0232] 연구 설계(Study Design): 모든 동물 연구는 Georgetown University(Washington, D.C., United States of America)의 동물 관리 및 사용 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)에 의해 승인된 프로토콜에 따라 윤리적 방식으로 수행되었다. 40마리 수컷(6주령) C57BL-6 마우스 옆구리에 500,000개의 세포를 피하주사하였다. 접종 후 6일 췌에, 100%의 마우스가 촉진성 종양을 가졌고, 베이스라인 종양이 모든 그룹에서 동일하도록 각각 n=10 마우스의 4개 그룹 중 하나에 할당되었다. 상기 그룹은 하기와 같다.
- [0233] 1. PBS 대조군(PBS)
- [0234] 2. PAS 100 μg (PAS100)
- [0235] 3. PD-1 Ab 150 μg (PD-1)
- [0236] 4. PD-1 Ab (150 μg) + PAS 100 μg (PD-1 + PAS100)
- [0237] mT3 세포가 주사된 후 1주일(7일) 췌에, 비-대조군 그룹의 마우스는 다음과 같이 특허 출원 및/또는 PD-1 Ab의 투여를 받았다: 마우스가 PAS를 받을 그룹에 있다면, 상기 PAS를 무작위화 시점(기준 시간=0)에서 시작하여 1주차 및 3 주차에 다시 100 μl로 ip 주사로 주입한다. PD-1 항체(Bio X cell, West Lebanon, New Hampshire, United States of America)를 연구 기간 동안 5회(t = 0, 4, 8, 15 및 21일 췌에) i.p. 150 μg의 투여량으로 제

공하였다. 대조군 마우스는 PAS가 투여된 것과 동일한 날에 PBS를 받았다. 캘리퍼(caliper)로 매주 종양 부피를 측정하였고  $L \times (W)^2 \times 0.5$ 로 계산하였다.

[0238] 조직학(Histology): 성장 31일 후, 마우스를 CO<sub>2</sub> 질식 및 경추 탈골법에 의해 윤리적으로 안락사시켰다. 마우스의 무게를 측정하였고, 췌장 종양을 절제하여, 무게를 측정하였다. 상기 종양을 나누고 조직학을 위해 종양의 절반을 포르말데하이드에서 4% 파라핀으로 고정시키고, 절반은 액체 질소에 급속 냉동시켰다. 종양-관련 섬유증은 Masson's 트리크롬 염색(Masson's trichrome staining)으로 평가하였다. Masson's 트리크롬의 분석은 ImageJ 이미지 프로세싱 및 분석 소프트웨어(미국 국립 보건원(United States National Institutes of Health, NIH)(Bethesda, Maryland, United States of America)의 Wayne Rasband에 의해 개발되었고, NIH의 웹사이트를 통해 이용 가능함.)를 사용하여 처리에 대해 블라인드된 기술자에 의해 수행되었다.

[0239] 면역 조직화학을 위해, 종양을 파라핀 포매된 블록(10 μm)을 절단하였고 슬라이드에 고정시켰다. 종양 섹션을 항-CD8 항체(1:75; EBIOSCIENCE™, San Diego, California, United States of America) 또는 항-Foxp3 항체(1:30; EBIOSCIENCE™)로 염색하였다. 면역 반응성 세포를 수동으로 계수하였다.

[0240] 비장 T-세포 분리(Spleen T-cell isolation): 각 동물로부터 비장을 제거하였고, 무게를 측정하였고, 5ml RPMI1640 배지를 함유하는 60mm 접시(dish)에 넣었다. 먼도날을 사용하여 비장을 기계적으로 잘게 절단하였다. 상기 비장 조직을 함유하는 배지를 100 μm 세포 스트레이너를 통해 50ml 튜브로 여과하였고 최종 부피가 40ml가 될 때까지 여러번 행구었다. 그 다음, 비장 조직을 40 μm 세포 스트레이너를 사용하여 50ml 튜브로 다시 여과시키고, 4℃에서 5분 동안 1500rpm으로 원심분리하여 세포를 펠렛 다운(pellet down)시켰다. 상등액을 제거하고 세포 펠렛을 40ml PBS로 재현탁시킨 후, 4℃에서 5분 동안 1500rpm으로 원심분리하여 다시 펠렛화(repelleted)하였다. 상등액을 버리고, 세포 펠렛을 3ml 워싱 버퍼(2mM EDTA 및 0.5% 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)을 갖는 PBS)로 재현탁시킨 다음, 15ml 튜브에 5ml Ficol1 배지의 상부로 천천히 첨가하였다. 감속을 0으로 설정하고 20분 동안 2100rpm으로 원심분리한 후, 림프구를 버퍼와 Ficol1 사이의 백색 층으로부터 수집하였다. 상기 림프구를 추가로 2회 세척하였고 배지에 재현탁시키고, 계수하였다.

[0241] 유세포 분석(Flow cytometry). 백만 개의 림프구를 5ml 투명 튜브(Catalogue # 352054; BD Falcon, Bedford, Massachusetts, United States of America)에 첨가하였고, 부피를 PBS와 동일하게 하고, 세포를 5분 동안 1500rpm으로 펠렛화하였다. PBS로 세척한 후, 50 μl의 미리-희석된 ZOMBIE NIR™ brand fixable viability solution (BIOLEGENDB®, San Diego, California, United States of America)을 세포에 첨가한 다음, 30분 동안 어두운 곳에서 실온에서 배양하였다. 상기 세포를 세척한 다음 5 μl 정제된 랫 항-마우스 CD16/CD32(Mouse BD Fc BLOCK™ brand reagent; BD Biosciences, San Jose, California, United States of America)를 첨가하고 20분 동안 배양함으로써 블로킹하였다.

[0242] 표 1에 열거된 항체를 림프구에 반응시키고 FACSAria™ IIu brand cell sorter (BD Biosciences)을 사용하여 375 nm, 405 nm, 488 nm 및 633 nm 레이저 라인(laser line)으로 유세포 분석을 수행하였다.

**표 1**

[0243] 유세포 분석을 위한 T-세포 염색에 사용되는 항체

형광 표지 (Fluorescent Label)	항원 (Antigen)	공급 업체 (Supplier)
PE	CD4	eBioscience™ (San Diego, California, United States of America)
Fitc	CD3	BIOLEGENDB® (San Diego, California, United States of America)
PE/Dazzle 594	CD62L	BIOLEGENDB®
eFlour 450/BV421	CD8a	eBioscience™
APC	CD25	BIOLEGENDB®
BV 605	CD69	BIOLEGENDB®
BV 510	CD44	BIOLEGENDB®
BV 650	CD45	BIOLEGENDB®

[0244] 재-자극(For re-stimulation). 1 또는 2 백만개의 분리되고 세척된 림프구를 2개의 복제 플레이트(duplicate plate)에 대한 6-웰 플레이트의 각 웰에 첨가하였고, 상기 부피를 각각 동일하게 하였다(2 또는 3ml).

Brefeldin A 용액(BIOLEGEND®, 1000X Catalogue No. 420601)을 각 웰에 1 µl/ml로 첨가하였다. 1 µM 가스트린-14(아미노산 서열 pEGPWLEEEAYGW: 서열번호 5를 갖는 Sigma Aldrich Catalogue No. SCP0152)는 1nM의 최종 가스트린 농도를 위해 1개의 플레이트에 농도가 1 µl/ml이 되도록 각 웰에 첨가하였다. 다른 복제 플레이트는 가스트린-15로 처리되지 않고 대조군으로서 작용하였다. 상기 6-웰 플레이트는 37°C에서 6시간 동안 세포 배양 인큐베이터에 두었다. 그 다음 상기 세포를 세포내 고정 & 투과 버퍼 세트(Intracellular Fixation & Permeabilization Buffer Set (EBIOSCIENCE™ Catalogue No. 88-8824-00))를 사용하여 제거, 세척 및 투과시켰다. 표 2에 열거된 4개 항체를 포함하는 사이토카인 항체 마스터 믹스(8개 샘플당 4개 항체, 마스터믹스(mastermix)를 만들기 위해 각 항체의 10 µl)를 첨가하고 밤새 4°C에서 배양하였다.

**표 2**

재-자극 분석에 사용되는 항체

[0245]

형광표지 (Fluorescent Label)	표적 (Target)	공급 업체 (Supplier)
PE/Dazzle594	TNF α	eBioscience™
APC	IFN γ	eBioscience™
PE	Granzyme-B	eBioscience™
FITC	Perforin	eBioscience™

[0246]

유세포 분석을 수행하여 가스트린 또는 PBS로 재-자극된 세포에서 사이토카인을 분석하였다. 유세포 분석 데이터의 분석은 FCSEXPRESS-6 소프트웨어(De Novo Software, Glendale, California, United States of America)를 사용하여 수행되었다.

[0247]

실시예 1

[0248]

마우스에서 종양 생성

[0249]

PAS 치료가 체액성 및 세포성 면역 반응을 유도하고, 면역 체크포인트 항체 요법의 상승 효과를 제공하는지 여부를 결정하기 위해, 0.1 mL PBS 중  $5 \times 10^5$  뮤린 mT3 췌장암 세포를 오투리에 피하로 도입함으로써 면역 적합 마우스(immune competent mice)(예를 들어, 뮤린(murine) mT3 췌장 암세포와 공통 유전자인 C57BL/6)에 종양을 생성하였다. 종양이 정착하도록 1주일 동안 허용한 후, 도 1에 나타난 바와 같이 마우스를 PAS 및 하나 이상의 면역 체크포인트 억제제로 처리하였다.

[0250]

mT3 췌장암 세포 접종 1주일 후에 동물을 치료하였고, 이 기간의 연구에서 모든 동물은 촉진 가능한 피하 종양을 가지는 것을 보장하며, 그 치료는 종양 개시를 방해하지 않았다. 1차 엔드 포인트(primary end point)는 종양 성장 및 생존이었다. 종양의 성장은 캘리퍼(caliper)로 매주 측정하였고 종양의 부피를  $L \times W^2 \times 0.5$ 로 계산하였다. 종양을 종양-침윤 림프구(tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) 및 T 조절 세포(T Regulatory cells, Tregs)를 포함하나 이에 제한되지 않는 면역 세포에 대한 면역 조직 화학에 의해 조직학적으로 절제하고 검사하였다. 종양은 또한 PDAC와 전형적으로 연관된 섬유증 발달의 존재 및 정도에 대하여 검사하였다. 비장을 제거하였고, T-세포를 분리하고 가스트린으로 재-자극시켰다. 상기 세포는 사이토카인에 대한 관련 항체의 패널(panel)로 표지되었고 유세포 분석에 의해 특성화되었다.

[0251]

각 실험은  $5 \times 10^5$ 개 췌장 뮤린 암 세포가 이식된 40 마리 마우스(그룹 당 n=10; 도 1 참조)를 사용하였다. mT3 뮤린 췌장 종양을 갖는 면역 적합 공통유전자 마우스(immune competent syngeneic mice)그룹은 PBS(음성 대조군), PAS 단일 요법(monotherapy)(종양 세포 접종 후 0, 1, 2, 및 3 주에 투여당 100 µg), 면역 체크포인트 억제제(1차 PAS 백신 접종 후 0, 4, 8, 15 및 21일 에 투여당 150 µg)로서의 항-PD-1 항체 (PD1-1 Ab; Bio X cell, West Lebanon, New Hampshire, United States of America), 또는 PAS 백신(종양 세포 접종 후 0, 1, 2 및 3 주에 투여당 100 µg) 및 면역 체크포인트 억제제(1차 PAS 백신 접종 후 0, 4, 8, 15 및 21일에 투여당 150 µg)의 조합으로 처리하였다. 프로그램된 세포 사멸 단백질 1(PD1-1 Ab; Bio X cell, West Lebanon, New Hampshire, United States of America)에 대한 면역 체크포인트 차단(blockade) 항체를 복강 내 투여하였다. 데이터는 하기 표 3 및 도 2에 요약되어 있다.

**표 3**

[0252] 각 치료 그룹에서 평균 마우스 체중

치료 그룹 (Treatment Group)	평균 체중 (Mean Weight) (g ± SEM)	p 값 (p value)
PBS (음성 대조군(negative control))	27.500 ± 0.563	-
PD-1	27.333 ± 0.645	NS
PAS100 alone	27.400 ± 0.499	NS
PD-1 + PAS100	28.000 ± 0.577	NS

[0253] NS: 중요하지 않음(not significant)

[0254] PD-1 및 PAS100-처리된 그룹의 마우스에서 종양의 무게와 PBS 대조군 마우스 사이에서 그램 단위의 최종 종양 무게의 통계적 차이는 없었다. 대조적으로, PD-1 및 PAS100의 조합으로 처리된 마우스는 PBS(p=0.014) 및 PD-1 대조군(p=0.0017)에 비하여 상당히 작은 종양을 가졌다. 게다가, PD-1 및 PAS100의 조합 요법은 PAS100 단일 요법보다 상당히 작은 종양을 야기하였다(p<0.05).

[0255] 실시예 2

[0256] CD3 말단 분화된 T 세포 소집단(CD3 Terminally Differentiated T Cell Subpopulation)에서 T<sub>EMRA</sub> CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> 세포의 분석

[0257] 실시예 1에 제시된 바와 같이 마우스에서 종양을 유도하였다. PBS, PD-1 Ab, PAS 100 또는 PAS100 + PD-1 Ab로 처리된 마우스로부터 분리된 T 림프구는 비장 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)로부터 분리되었다. T 세포의 다양한 소집단은 표 1에 열거된 항체를 사용하여 유세포 분석에 의해 확인되었다. 특히, CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>인 첫 번째 T 세포 소집단이 분리되었고, 이 소집단에서 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup>인 T<sub>EMRA</sub> 세포를 나타내는 추가 소집단이 분리되었다. PBS, PD-1 Ab, PAS100 또는 PAS100 + PD-1 Ab로 처리된 마우스에 존재하는 다양한 소집단의 백분율 및 비율을 측정하였고, 그 결과를 도 3A 및 3B에 나타내었다.

[0258] 도 3A는 PBS, PD-1 Ab, PAS100 또는 PAS100 + PD-1 Ab로 처리된 마우스의 CD3<sup>+</sup> T 세포 중 T<sub>EMRA</sub> 세포(CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup>)의 백분율을 나타낸다. 도 3B는 T<sub>EMRA</sub> 세포인 각각의 처리 그룹에서 CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> 세포의 비율을 보여준다.

[0259] 치료 그룹들 사이에서 가장 중요한 차이점은 PAS100이 PBS보다 CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> T<sub>EMRA</sub> 세포가 낮은 반면, PAS100 + PD-1 처리는 PBS와 비교하여 유사한 CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> T<sub>EMRA</sub> 세포를 야기하였다. PAS100/PD1로 처리된 마우스로부터 T 세포 중 T<sub>EMRA</sub> 세포(CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup>) 부분은 PBS 또는 PAS100 단독으로 처리된 마우스의 것 보다 2배 이상 높았으며, 이는 T<sub>EMRA</sub> 세포(CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>/CD44<sup>-</sup>/CD62L<sup>-</sup>)가 가스트린-관련 종양 및 암에 대하여 방어하고 싸우는데 양호하다는 것을 제시한다.

[0260] 실시예 3

[0261] PAS100으로 사이토카인 활성화 분석(Cytokine Activation Assay)

[0262] T 림프구는 PAS100 처리된 마우스로부터 분리된 비장 말초 혈액 단핵 세포(PBMCs)로부터 분리하였다. 이들 세포는 유세포 분석으로 평가되어 인터페론-γ (Interferon-γ), 그랜자임-B(Granzyme-B)(granzyme), 퍼포린(Perforin), 및 종양 괴사 인자-α(Tumor necrosis factor-α, TNF α)에 대한 사이토카인 활성화에 의해 유도된 활성화된 T-세포인지를 결정하였다. 상기 결과는 도 4A 및 4B에 제공된다.

[0263] 도 4A는 PAS100으로 처리된 마우스로부터 분리된 T 세포가 실제로 활성화된 것을 보여준다. 이러한 동일한 세포를 6 시간 동안 배양하여 가스트린으로 재-자극 했을 때(도 4B 참조), 이들은 재-자극되고 더 많은 사이토카인을 방출하여, PAS100에 의한 백신 접종이 T 세포를 자극하였고 추가로 이러한 T 세포가 가스트린에 특이적으로

반응하는 것을 확인하였다.

- [0264] 실시예 4
- [0265] PAS & PD-1의 조합 요법에 대한 PAS100의 비교
- [0266] T 림프구는 PAS100 또는 PAS100 및 PD-1의 조합으로 처리된 마우스로부터 분리된 비장 PBMC로부터 분리되었다. C 세포는 유세포 분석으로 평가되어 인터페론- $\gamma$ , 그랜자임-B(granzyme), 퍼포린, 및 종양 괴사 인자- $\alpha$  (TNF  $\alpha$ )에 대한 사이토카인 활성화에 의해 유도된 활성화된 T-세포인지를 결정하였다. 결과는 도 5A 및 5B에 제공된다.
- [0267] PAS100 단독으로 처리된 마우스의 활성화된 T 림프구는 PBS 처리된 마우스의 림프구와 비교하여 증가된 사이토카인을 방출하였다(도 5A 참조). 그러나, 상기 조합 처리된 마우스의 림프구는 현저하게 많은 사이토카인을 방출하였고(도 5B 참조), 상기 조합 요법은 활성화된 T 세포를 자극하는데 더 나은 것을 제시한다. TNF  $\alpha$ 는 특히 PAS100 단독 처리와 비교하여 PAS100 + PD-1 Ab 조합 요법으로 2배 이상 증가하였다(도 5A 및 5B 비교).
- [0268] 실시예 5
- [0269] 섬유증에 대한 PD-1 단일 요법, PAS100 단일 요법 및 PD-1 + PAS100 조합 요법의 효과 분석
- [0270] PBS, PD-1 단독, PAS100 또는 PAS100 + PD-1로 처리된 마우스의 종양을 4% 파라포름알데히드(paraformaldehyde), 파라핀 포매로 고정시키고, 8  $\mu$ m 섹션(section)을 절단하여 마운팅하였다. 조직 섹션을 Masson's 트리크롬으로 섬유증을 염색하였다.
- [0271] Masson's 트리크롬으로 염색된 대표적인 섹션을 도 6A에 나타내었다. 섬유증 정량 스코어(quantitative score)는 ImageJ 프로세싱 및 분석 소프트웨어를 사용하여 컴퓨터 프로그램으로 분석하였고 상기 결과는 도 6B에 나타내었다. PD-1 단일요법 및 PAS100 단일요법으로 처리된 종양의 통합된 밀도는 음성 대조군 PBS 처리와 크게 다른 반면, PAS + PD-1 Ab 조합 요법은 PBS 단독(p<0.005) 및 PAS100 단독(p<0.001)과 비교하여 통계적으로 유의미한 밀도의 감소(및 섬유증)를 야기하였다는 점에 주목한다.
- [0272] 실시예 6
- [0273] CD8<sup>+</sup> T 세포 침윤에 대한 PD-1 단일 요법, PAS100 단일 요법 및 PD-1 + PAS100 조합 요법의 효과 분석
- [0274] 종양을 4% 파라포름알데히드(paraformaldehyde), 파라핀 포매로 고정시키고, 8  $\mu$ m 섹션을 절단하여 마운팅하였다. CD8<sup>+</sup> 림프구를 CD8 항체 (1:75 titer; EBIOSCIENCE™, San Diego, California, USA)로 종양 미세환경에서 염색하였고, CD8<sup>+</sup> 세포는 블라인드 방식으로 수동 계수하였다. 결과는 도 7A 및 7B에 나타내었다.
- [0275] 도 7A 및 7B에 나타난 바와 같이, CD8<sup>+</sup> 종양-침윤 림프구(CD8<sup>+</sup> tumor-infiltrating lymphocytes, TILs)는 PAS100 및 PD-1 단독에서 증가하였으나, 상기 조합 요법에서 현저하게 증가하였다. 상기 조합 PAS100 + PD-1 CD8+ 세포는 PD-1 단독(p=0.042) 보다 유의하게 더 크고 PAS100 단독(p=0.039) 보다 더 크다.
- [0276] 실시예 7
- [0277] Foxp3<sup>+</sup> T<sub>reg</sub> 침윤에 미치는 PD-1 단일 요법, PAS100 단일 요법 및 PD-1 + PAS100 조합 요법의 효과 분석
- [0278] 종양을 4% 파라포름알데히드(paraformaldehyde), 파라핀 포매로 고정시키고, 8  $\mu$ m 섹션을 절단하여 마운팅하였다. 종양을 항-Foxp3 항체(1:30; EBIOSCIENCE™)와 반응시키고 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 수동으로 계수하였다. 상기 결과는 도 8A 및 8B에 나타내었다.
- [0279] 도 8A는 T<sub>regs</sub>에 대한 마커인 Foxp3 단백질에 결합하는 항체로 염색된 예시적인 mT3 종양을 나타낸다. 필드의 비교는 PBS(왼쪽 상단 패널), PD-1 단일요법(오른쪽 상단 패널), PAS100 단일요법(왼쪽 하단 패널)과 비교하여 나타내며, PAS100 & PD-1 조합 요법은 종양내 T<sub>regs</sub>의 존재가 감소하는 것을 야기하며, PAS100 + PD-1 조합 요법은 종양 내 미세 환경이 단일 요법 단독과 비교하여 낮은 등급의 T<sub>reg</sub>-기반 면역억제(T<sub>reg</sub>-based immunosuppression)에 의해 특징되는 정도로 종양 내 환경을 변형시킬 수 있음을 제시한다.
- [0280] 도 8B는 도 8A에 의해 예시된 데이터를 요약한 막대 그래프이다. PBS와 비교하여, PD-1 단일 요법 또는 PAS100

단일요법으로 처리된 종양에서 Foxp3<sup>+</sup> 세포의 수는 유의미하게 상이하지 않다. PAS100 + PD-1 조합 요법으로 처리된 종양은 음성 대조군인 Foxp3<sup>+</sup> 세포보다 현저하게 적었다.

- [0281] 참고문헌
- [0282] 모든 특허, 특허 출원 및 이의 간행물, 과학 저널 기사 및 데이터베이스 항목(GENBANK® 바이오 시퀀스 데이터베이스 항목을 포함하나 이에 제한되지 않고 여기에 사용 가능한 모든 주석을 포함)을 포함하나 이에 제한되지 않는 본원에 열거된 모든 참고문헌은 본원에 사용된 방법론, 기술 및/또는 조성물을 보충, 설명, 배경을 제공하고/하거나 가르치는 정도로 그 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다. 참고문헌에 대한 논의는 저자의 주장을 요약하기 위한 것이다. 임의의 참고문헌(또는 임의의 참고문헌의 일부)은 관련 선행기술인 것을 인정하지 않는다. 출원인은 임의의 인용된 참고문헌의 정확성 및 관련성에 이의를 제기할 권리가 있다.
- [0283] Adams et al. (1993) *Cancer Res* 53:4026-4034.
- [0284] Ajani et al. (2017) *Nat Rev Dis Primers* 3:17036.
- [0285] Al-Attar et al. (2011) *Biol Chem* 392:277-289.
- [0286] Alt et al. (1999) *FEBS Lett* 454:90-94.
- [0287] Bass (2001) *Nature* 411:428-429.
- [0288] Berkow et al. (1997) The Merck Manual of Medical Information, Home ed., Merck Research Laboratories, Whitehouse Station, New Jersey, United States of America.
- [0289] Berna & Jensen (2007) *Curr Top Med Chem* 7:1211-1231.
- [0290] Berna et al. (2010) *J Biol Chem* 285:38905-38914.
- [0291] Bernstein et al. (2001) *Nature* 409:363-366.
- [0292] Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426.
- [0293] Boj et al. (2015) *Cell* 160:324-338.
- [0294] Brahmer et al. (2012) *N Engl J Med* 366:2455-2465.
- [0295] Brand & Fuller (1988) *J Biol Chem* 263:5341-5347.
- [0296] Brett et al. (2002) *J Clin Oncol* 20:4225-4231.
- [0297] Canadian Patent Application No. 2,359,180.
- [0298] Carroll (2012) *Mol Ther* 20:1658-1660.
- [0299] Clackson et al. (1991) *Nature* 352:624-628.
- [0300] Coloma et al. (1997) *Nature Biotechnol* 15:159-163.
- [0301] Duch et al. (1998) *Toxicol Lett* 100-101:255-263.
- [0302] Ebadi (1998) CRC Desk Reference of Clinical Pharmacology. CRC Press, BocaRaton, Florida, United States of America.
- [0303] Elbashir et al. (2001a) *Nature* 411:494-498.
- [0304] Elbashir et al. (2001b) *Genes Dev* 15:188-200.
- [0305] Falconi et al. (2003) *Dig Liver Dis* 35:421-427.
- [0306] Ferlay et al. (2013) *Eur J Cancer* 49:1374-1403.
- [0307] Feig et al. (2012) *Clin Cancer Res* 18:4266-4276.
- [0308] Fino et al. (2012) *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 302:G1244-G1252.
- [0309] Fire (1999) *Trends Genet* 15:358-363.

- [0310] Fire et al. (1998) Nature 391:806-811.
- [0311] Freireich et al. (1966) Cancer Chemother Rep 50:219-244.
- [0312] Gasiunas et al. (2012) Proc Nat Acad Sci U S A 109:E2579-E2586.
- [0313] GENBANK® biosequence database Accession Nos. NM\_000805.4; NM\_005018.2; NM\_005214.4; NM\_014143.3; NP\_000796.1; NP\_005009.2; NP\_005205.2; NP\_032824.1; NP\_033973.2; NP\_054862.1; NP\_068693.1; NP\_113862.1; NP\_776722.1; NP\_001003106.1; NP\_001009236.1; NP\_001076975.1; NP\_001077358.1; NP\_001100397.1; NP\_001107830.1; NP\_001138982.1; NP\_001156884.1; NP\_001178883.1; NP\_001271065.1; NP\_001278901.1; NP\_001301026.1; XP\_526000.1; XP\_003776178.1; XP\_004033133.1; XP\_004033550.1; XP\_005574073.1; XP\_006939101.1; XP\_009181095.2; XP\_009454557.1; XP\_015292694.1; XP\_018889139.1.
- [0314] Gerbino (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 21<sup>st</sup> Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania, United States of America.
- [0315] Gershoni et al. (2007) BioDrugs 21:145-156.
- [0316] Gilliam et al. (2012) Pancreas 41:374-379.
- [0317] Glockshuber et al. (1990) Biochemistry 29:1362-1367.
- [0318] Goodman et al. (1996) Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 9<sup>th</sup> ed., McGraw-Hill Health Professions Division, NewYork, NewYork, United States of America.
- [0319] Hale et al. (2012) Mol Cell 45:292-302.
- [0320] Hammond et al. (2000) Nature 404:293-296.
- [0321] Hanahan & Weinberg (2011) Cell 144:646-674.
- [0322] Hidalgo (2010) N Engl J Med 362:1605-1617.
- [0323] Holliger et al. (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:6444-6448.
- [0324] Hruban et al. Int J Clin Exp Pathol 2008; 1: 306-316.
- [0325] Hu et al. (1996) Cancer Res 56:3055-3061.
- [0326] Huston et al. (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85:5879-5883.
- [0327] Huston et al. (1993) Int Rev Immunol 10:195-217.
- [0328] Jinek et al. (2012) Science 337:816-821.
- [0329] Katzung (2001) Basic & Clinical Pharmacology. 8<sup>th</sup> ed., Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Pub. Division, NewYork, NewYork, United States of America.
- [0330] Kipriyanov et al. (1995) Cell Biophys 26:187-204.
- [0331] Kipriyanov et al. (1998) Int J Cancer 77:763-772.
- [0332] Kipriyanov et al. (1999) J Mol Biol 293:41-56.
- [0333] Kohler et al. (1975) Nature 256:495.
- [0334] Kontermann et al. (1999) J Immunol Meth 226:179-188.
- [0335] Kortt et al. (1997) Protein Eng 10:423-433.
- [0336] Kostelny et al. (1992), J Immunol 148:1547-1553.
- [0337] Kurucz et al. (1995) J Immunol 154:4576-4582.
- [0338] Le Cong et al. (2013) Science 339:819-823.

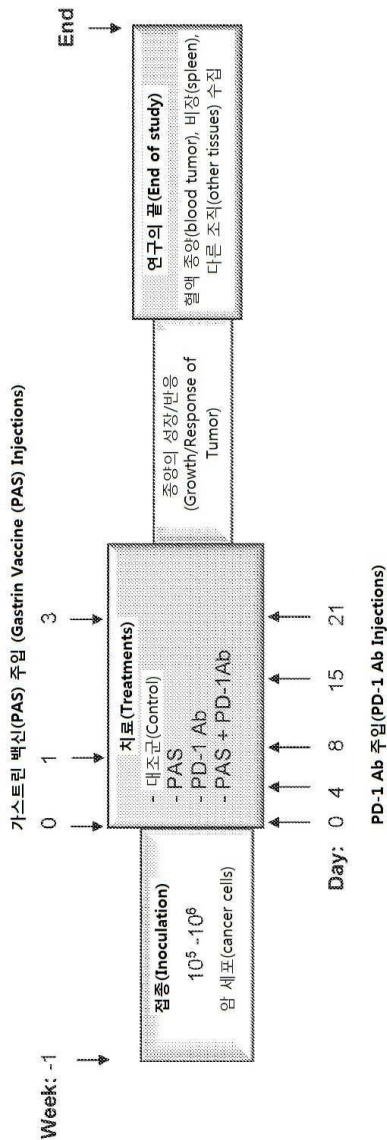
- [0339] Le Gall et al. (1999) FEBS Lett 453:164-168.
- [0340] Leach et al. (1996) Science 271:1734-1736.
- [0341] Li et al. (2014) Vaccines 2:515-536.
- [0342] Lutz et al. (2014) Oncoimmunology. 11:e962401.
- [0343] Makarova et al. (2011) Nat Rev Microbiol 9:467-477.
- [0344] Marks et al. (1991) J Mol Biol 222:581-597.
- [0345] Matters et al. (2009) Pancreas 38:e151-e161.
- [0346] McCartney et al. (1995) Protein Eng 8:301-314.
- [0347] McWilliams et al. (1998) Gut 42:795-798.
- [0348] Muller et al. (1998) FEBS Lett 432:45-49.
- [0349] Neesse (2013) Onco Targets Ther 7:33-43.
- [0350] Neesse et al. (2011) Gut 60:861-868.
- [0351] Nykanen et al. (2001) Cell 107:309-321.
- [0352] Nywening et al. (2016) Lancet Oncol 17:651-662.
- [0353] Pack et al. (1992) Biochemistry 31:1579-1584.
- [0354] Pardoll (2012) Nat Rev Cancer 12:252-264.
- [0355] Paul (1993) Fundamental Immunology, Raven Press, NewYork, NewYork, United States of America.
- [0356] PCT International Patent Application Publication Nos. WO 1992/22653; WO 1993/25521; WO 1999/07409; WO 1999/32619; WO 2000/01846; WO 2000/44895; WO 2000/44914; WO 2000/44914; WO 2000/63364; WO 2001/04313; WO 2001/29058; WO 2001/36646; WO 2001/36646; WO 2001/68836; WO 2001/75164; WO 2001/92513; WO 2002/055692; WO 2002/055693; WO 2002/044321; WO 2003/006477.
- [0357] Pearson & Lipman (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85:2444-2448.
- [0358] Quante et al. (2013) Gastroenterology 145:63-78.
- [0359] Rai et al. (2012) Surg Oncol 21:281-292.
- [0360] Rehfeld et al. (1989) Cancer Res 49:2840-2843.
- [0361] Remington et al. (1975) Remington's Pharmaceutical Sciences, 15<sup>th</sup> ed., MackPub. Co., Easton, Pennsylvania, United States of America.
- [0362] Royal et al. (2010) J Immunother 33:828-33.
- [0363] Ryan et al. (2014) N Engl J Med 371:1039-1049.
- [0364] Saillan-Barreau et al. (1999) Diabetes 48:2015-2021.
- [0365] Schally & Nagy (2004) Trends Endocrinol Metab 15:300-310.
- [0366] Segal et al. (2014) J Clin Oncol 32(5 s):abstr 3002.
- [0367] Seung Woo Cho et al. (2013a) Nat Biotechnol 31:1-10.
- [0368] Seung Woo Cho et al. (2013b) Nat Biotechnol 31:230-232.
- [0369] Shalaby et al. (1992) J Exp Med 175:217-225.
- [0370] Siegel et al. (2014) CA Cancer J Clin 64:9-29.

- [0371] Siegel et al. (2016) 66(1):7-30.
- [0372] Singh et al. (1986) Cancer Res 46:1612-1616.
- [0373] Singh et al. (1995) J Biol Chem 270:8429-8438.
- [0374] Smith & Solomon (1988) Gastroenterology 95:1541-1548.
- [0375] Smith & Solomon (2014) Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 306:G91-G101.
- [0376] Smith et al. (1990) Dig Dis Sci 35:1377-1384.
- [0377] Smith et al. (1991) Regul Pept 32:341-349.
- [0378] Smith et al. (1994) Am J Physiol 266:R277-R283.
- [0379] Smith et al. (1995) Am J Physiol 268:R135-R141.
- [0380] Smith et al. (1996a) Am J Physiol 270:R1078-R1084.
- [0381] Smith et al. (1996b) Am J Physiol 271:R797-R805.
- [0382] Smith et al. (1998a) Int J Oncol 12:411-419.
- [0383] Smith et al. (1998b) Intl J Mol Med 2:309-315.
- [0384] Smith et al. (2004) Regul Pept 117:167-173.
- [0385] Smith et al. (2014) Pancreas 43:1050-1059.
- [0386] Smith et al. (2017) Cell Mol Gastroenterol Hepatol 4:75-83.
- [0387] Smith et al. (2018) Cancer Immunol Immunother 67:195-207.
- [0388] Soares et al. (2015) J Immunother 1:1-11.
- [0389] Speight & Holford (eds.) (1997) Avery's Drug Treatment: A Guide to the Properties, Choice, Therapeutic Use and Economic Value of Drugs in Disease Management, 4<sup>th</sup> ed., Adis International, Philadelphia, Pennsylvania, United States of America.
- [0390] Templeton & Brentnall (2013) Surg Clin North Am 93:629-645.
- [0391] U.S. Patent Application Publication No. 2006/0188558.
- [0392] U.S. Patent Nos. 3,598,122; 4,816,567; 5,016,652; 5,234,933; 5,326,902; 5,935,975; 6,106,856; 6,162,459; 6,172,197; 6,172,197; 6,180,082; 6,248,516; 6,248,516; 6,291,158; 6,291,158; 6,495,605; 6,582,724; 8,945,839.
- [0393] Upp et al. (1989) Cancer Res 49:488-492.
- [0394] Vonderheide & Bayne (2013) Curr Opin Immunol 25:200-205.
- [0395] Wagner et al. (2010) Cochrane Database Syst Rev 3:CD004064.
- [0396] Watson et al. (1989) Br J Cancer 59:554-558.
- [0397] Watson et al. (1995) Int J Cancer 61:233-240.
- [0398] Watson et al. (1996) Cancer Res 56:880-885.
- [0399] Watson et al. (1998) Int J Cancer 75:873-877.
- [0400] Watson et al. (1999) Int J Cancer 81:248-254.
- [0401] Watson et al. (2006) Nature Reviews Cancer 6:936-946.
- [0402] Weiner & Lotze (2012) N Engl J Med 366:1156-1158.

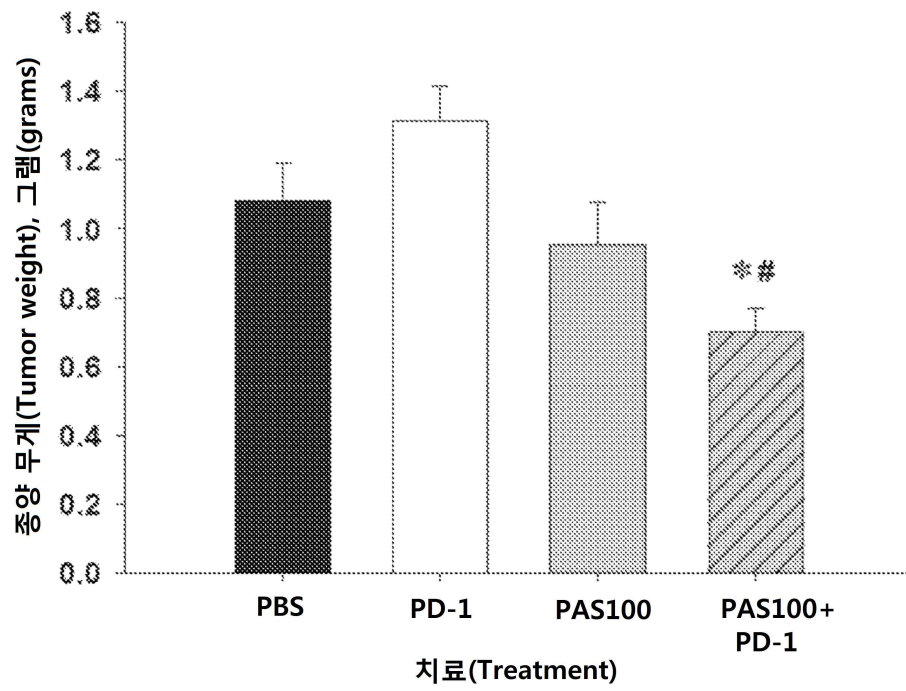
- [0403] Whitlow et al. (1991) Methods Companion Methods Enzymol 2:97-105.
- [0404] Wianny & Zernicka-Goetz (1999) Nature Cell Biol 2:70-75.
- [0405] Zhang et al. (2007) Cancer Biol Ther 6:218-227.
- [0406] Zhang et al. (2014) Int Immunopharmacol 20:307-315.
- [0407] Zhang et al. (2018) Cancers (Basel) 10(2):39.
- [0408] Zheng et al. (2013) Gastroenterology 144:1230-1240.
- [0409] Zhu et al. (1997) Protein Sci 6:781-788.
- [0410] 본원에 기재된 주제의 다양한 세부 사항은 본원에 기재된 주제의 범위로부터 벗어나지 않고 변경될 수 있다는 점이 이해될 것이다. 게다가, 전술한 설명은 단지 예시를 위한 것이며 제한하기 위한 것이 아니다.

도면

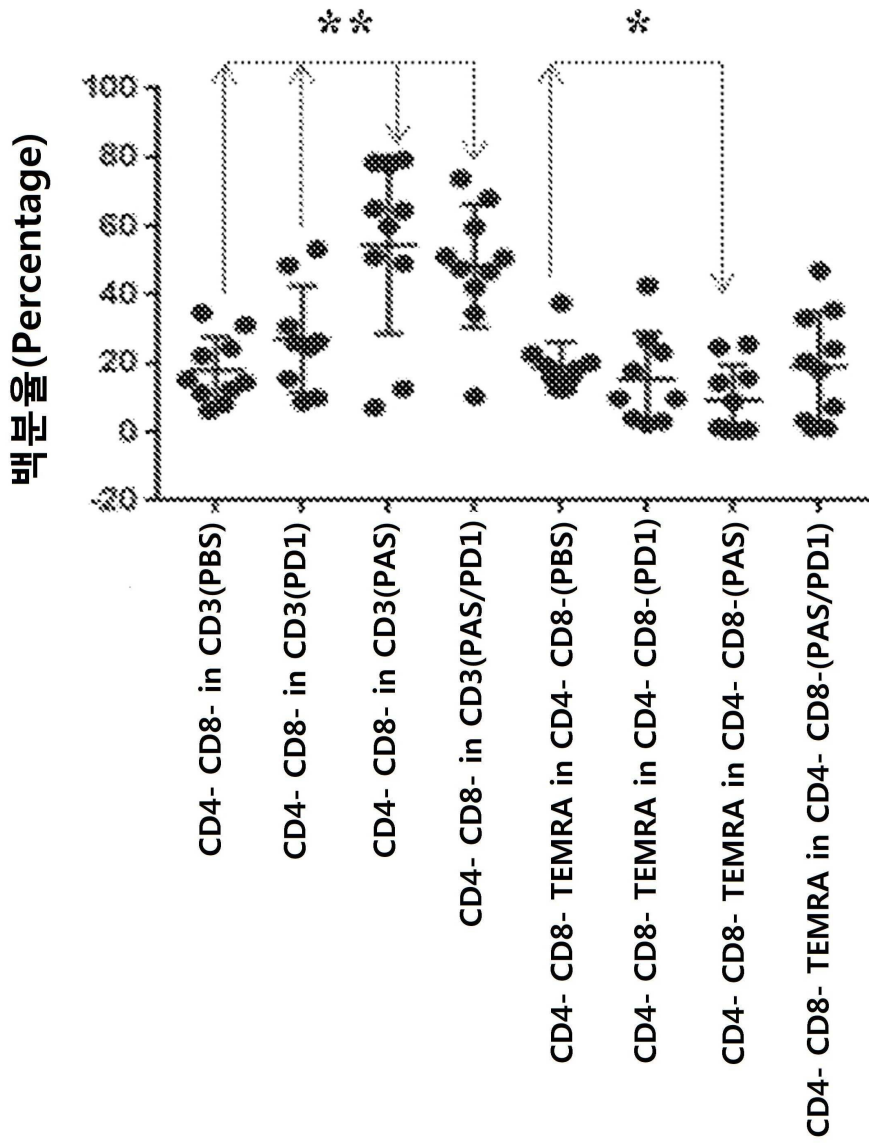
도면1



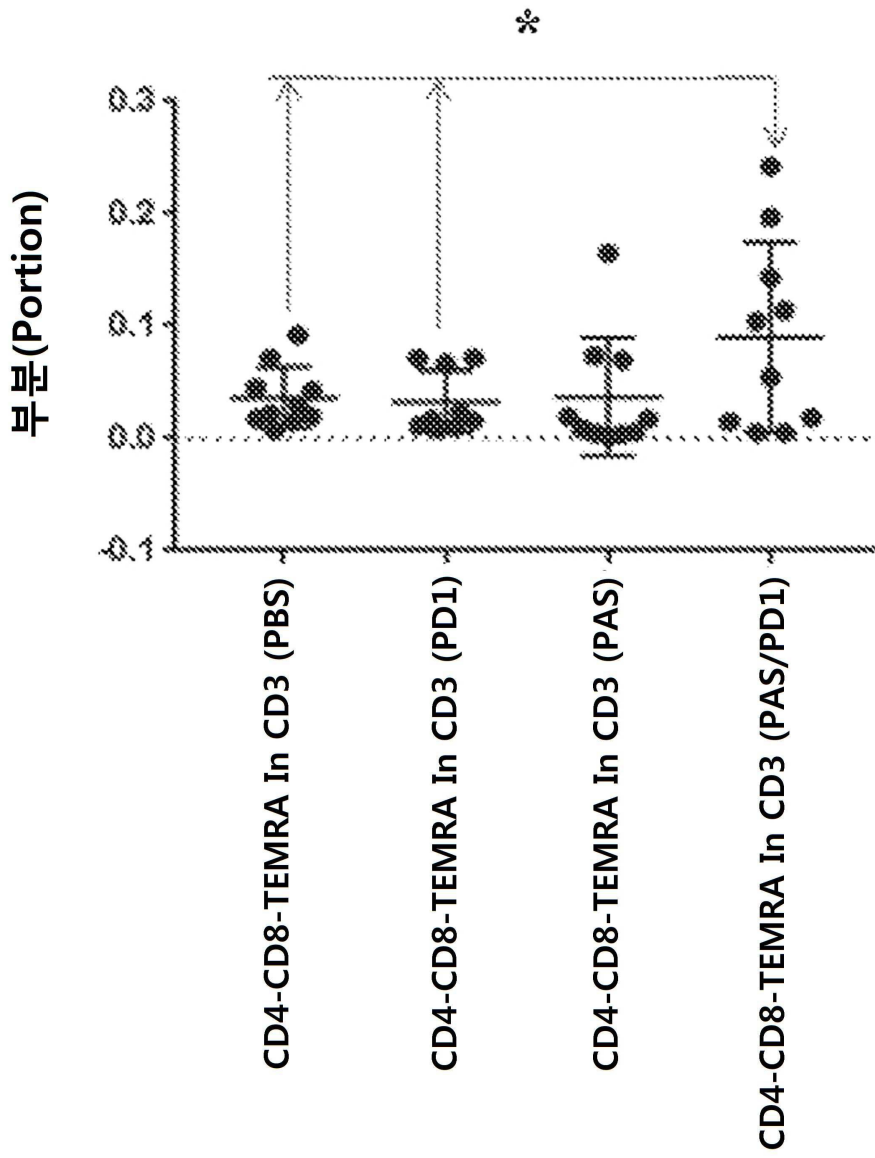
도면2



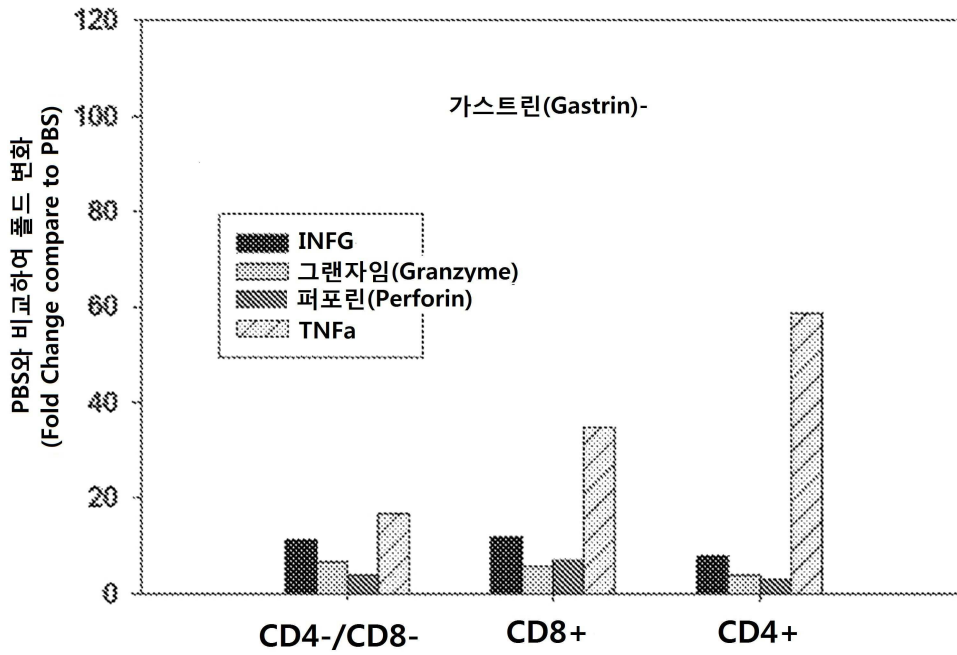
도면3a



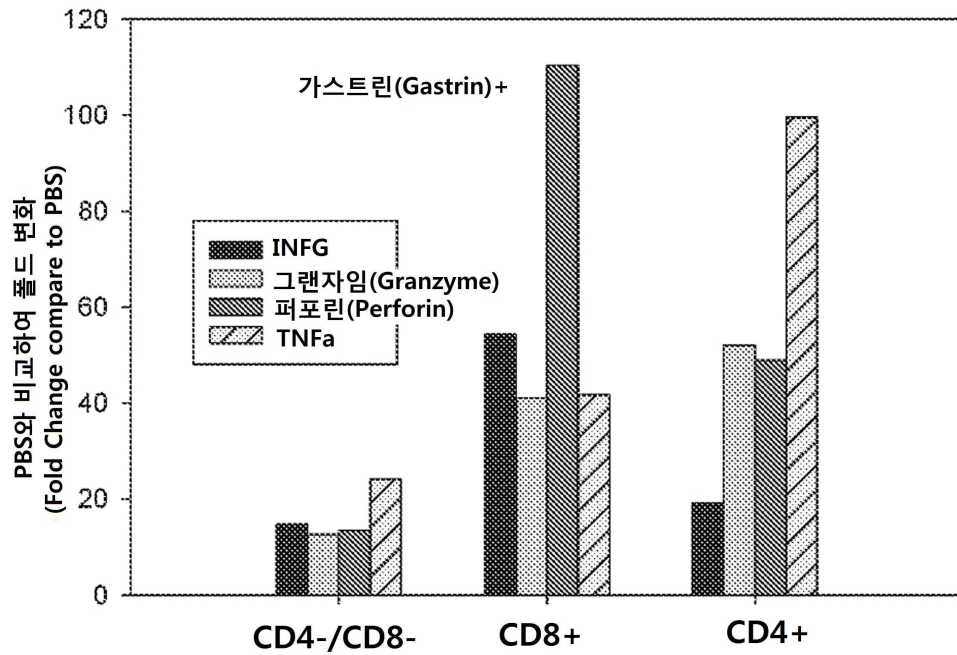
도면3b



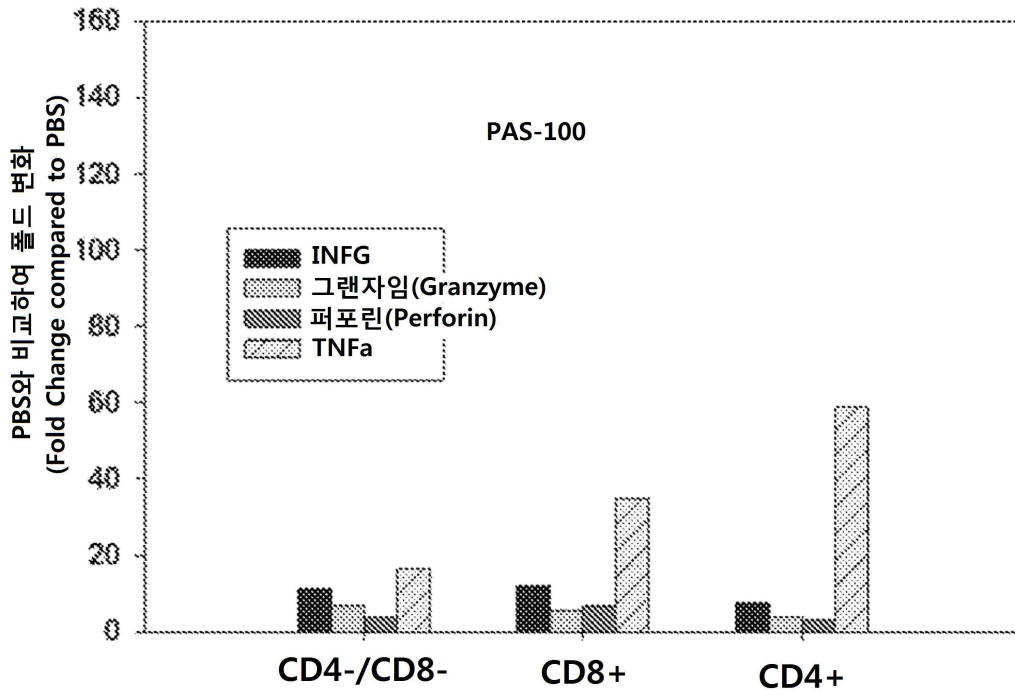
도면4a



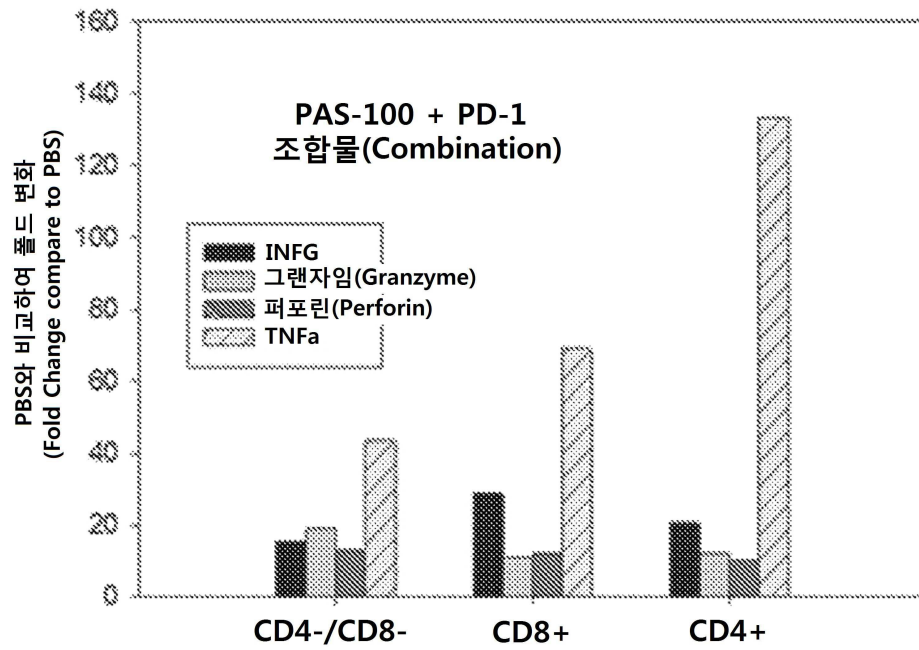
도면4b



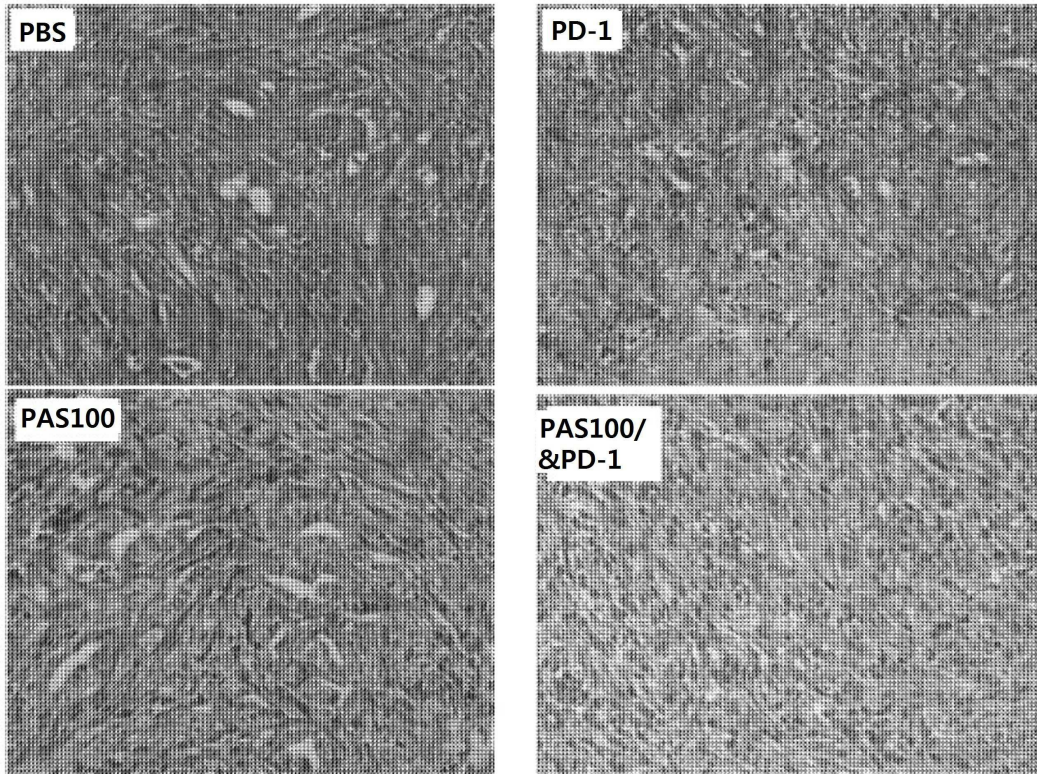
도면5a



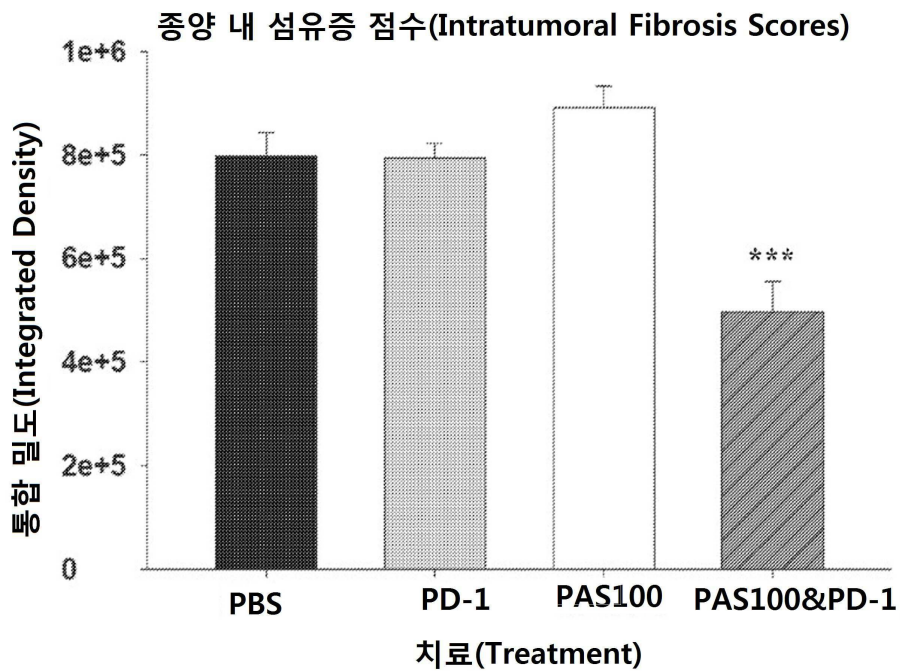
도면5b



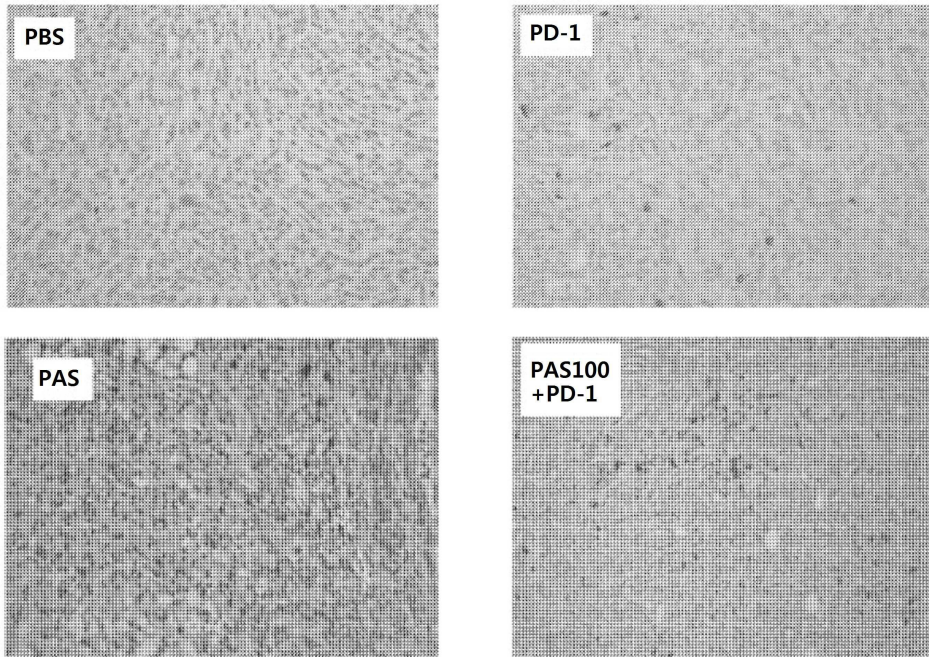
도면6a



도면6b

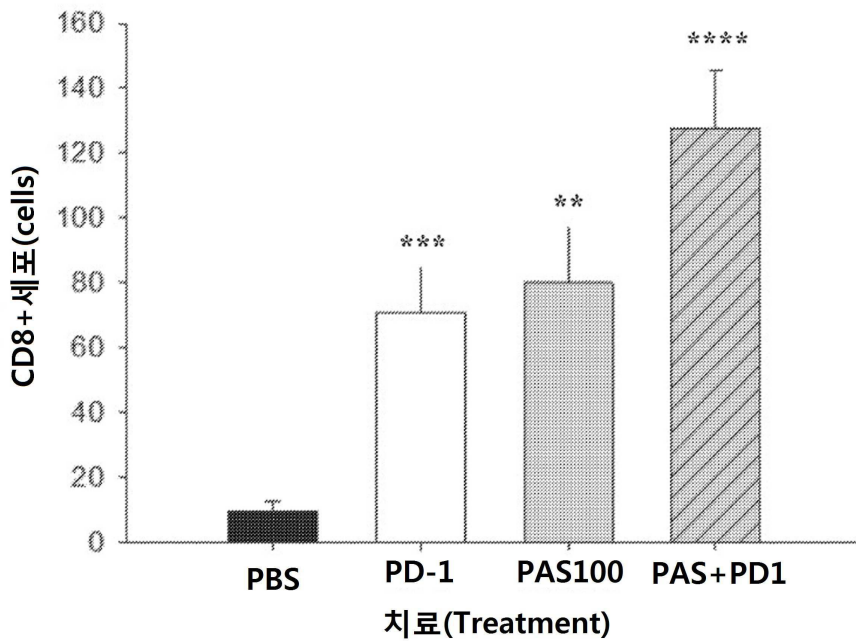


도면7a

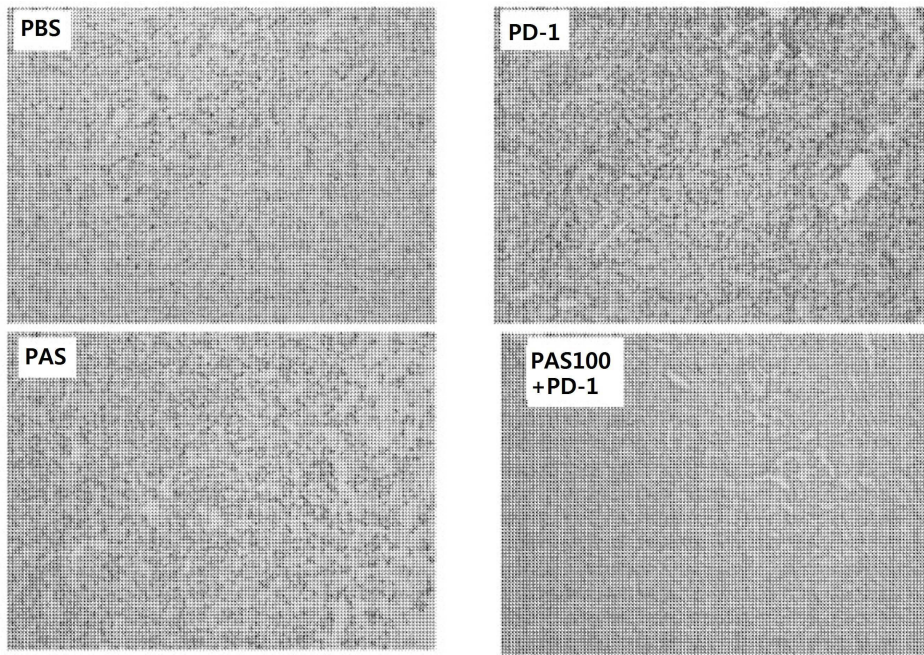


도면7b

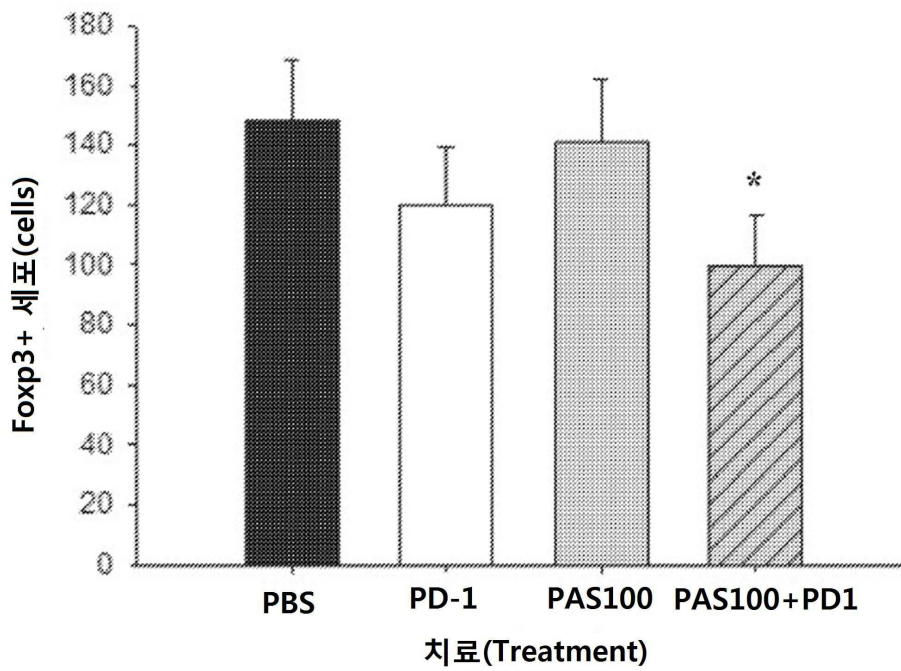
CD8+ 종양 침윤 림프구(CD8+ Tumor Infiltrating Lymphocytes)



도면8a



도면8b



서열목록

- <110> Cancer Advances Inc.
- <120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR INDUCING HUMORAL AND CELLULAR IMMUNITIES AGAINST TUMORS AND CANCER
- <130> IP19-0043
- <150> US 62/520,267

<151> 2017-06-15  
 <150> PCT/US 2018/037737  
 <151> 2018-06-15  
 <160> 5  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 1

Glu Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu  
 1                      5                      10

<210> 2  
 <211> 9  
 <212> PRT

<213> Homo sapiens  
 <400> 2

Glu Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu  
 1                      5

<210> 3  
 <211> 12  
 <212> PRT

<213> Homo sapiens  
 <400> 3

Glu Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr  
 1                      5                      10

<210> 4  
 <211> 17  
 <212> PRT

<213> Homo sapiens  
 <400> 4

Glu Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp Met Asp  
 1                      5                      10                      15

Phe

<210

> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Pro Glu Gly Pro Trp Leu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Tyr Gly Trp

1

5

10

15