República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020014929-2 A2

(22) Data do Depósito: 23/01/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 08/12/2020

(54) Título: COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MÉTODOS PARA AUMENTAR, PARA REDUZIR, PARA INTENSIFICAR OU INDUZIR UMA RESPOSTA IMUNE EM UM INDIVÍDUO, MOLÉCULA, ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ÁCIDO NUCLEICO, ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ANTICORPO ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO ANTI-B7H4, E, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO

(51) Int. Cl.: C07K 16/28; C07K 16/30; A61K 39/395.

(30) Prioridade Unionista: 23/01/2018 US 62/620,545.

(71) Depositante(es): NEXTCURE, INC..

(72) Inventor(es): SOLOMON LANGERMANN; DALLAS BENJAMIN FLIES; LINDA LIU.

(86) Pedido PCT: PCT US2019014748 de 23/01/2019

(87) Publicação PCT: WO 2019/147670 de 01/08/2019

(85) Data da Fase Nacional: 22/07/2020

(57) Resumo: São providas composições e métodos de uso das mesmas para modular B7-H4. Por exemplo, são providos agentes imunomoduladores que reduzem a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Tais agentes podem ser usados para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso. Também são providos agentes imunomoduladores que aumentam a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Tais agentes podem ser usados para reduzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso.

SUBSTABELECIMENTO

KASZNAR LEONARDOS DALE BARBOSA COLONNA ROSMAN VIANNA – AGENTES DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL, Sociedade Simples Pura, também operando sob a denominação KASZNAR LEONARDOS PROPRIEDADE INTELECTUAL, com sede nesta Cidade, na Rua Teófilo Otoni, nº 63, 6º andar, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 15.305.456/0001-37, matriculada como Agente da Propriedade Industrial (API) sob o nº 2297/12 ("Substabelecedora"), neste ato representada por seu sócio-administrador, **GUSTAVO JOSÉ FERREIRA BARBOSA**, brasileiro, casado, portador da C.I. RG nº 3.414.686, expedida pelo IFP/RJ, inscrito como API sob o nº 253/98 e no CPF/MF sob o nº 628.331.207-10, residente e domiciliado nesta cidade, na Rua Eurico Melo, 35, Barra da Tijuca, e por seu sócio, **FILIPE DA CUNHA LEONARDOS**, brasileiro, Agente da Propriedade Industrial (API), casado, portador da carteira de identidade nº 4396782, expedida pelo IFP/RJ, inscrito no CPF/MF sob o nº 887.191.117-20, inscrito como API sob o nº 441/1998, residente e domiciliado na Cidade e Estado do Rio de Janeiro, à Rua Timóteo da Costa nº 1.033, bloco 2, apto. 1.004, Leblon, por este instrumento substabelece os poderes recebidos mediante procuração constante nos autos, ou que se encontra aqui anexa, em favor dos seguintes Substabelecidos:

Nome	Carteira de Identidade	Expedida por	CPF	API
ADRIANA LOUREIRO JOSÉ	07288465-3	IFP/RJ	008.357.417-45	444/98
ALICE RAYOL RAMOS SANDES	10.094.561-7	IFP/RJ	081.000.137-30	2113/11
ANA LUCIA PEREIRA ROQUE	10.463.786-3	IFP/RJ	020.658.337-00	2119/11
ANDRÉ BASTOS VENTURINI	011.871.386-6	DIC/RJ	055.639.127-60	2120/11
ANDRÉ LUIS DE FARIA	09323362-5	IFP/RJ	011.733.987-32	436/98
ANTONIO CARLOS RAMOS	708255	SSP/MG	204.110.907-63	438/98
CLAUDIO ROBERTO BARBOSA	19219485	SSP/SP	138.453.388-57	1594/01
DENISE LEITE DE OLIVEIRA DALE	04.112.597-2	IFP/RJ	606.592.117-34	440/98
EDSON PAULA DE SOUZA	09.861.055-3	IFP/RJ	018.466.457-86	2148/11
EDUARDO COLONNA ROSMAN	02.762.505-2	IFP/RJ	494.507.437-20	252/98
ELISABETH KASZNAR FEKETE	3.381.313	IFP/RJ	756.284.147-00	1295/98
FABIO DE ARAUJO OTTONI FERREIRA	11.749.313-0	IFP/RJ	081.759.257-10	1813/05
FILIPE DA CUNHA LEONARDOS	04.396.782	IFP/RJ	887.191.117-20	441/98
FLAVIA BENZATTI TREMURA POLLI RODRIGUES	27.583.583-1	SSP/SP	288.352.138-78	2165/11
GABRIEL FRANCISCO LEONARDOS	04.697.909-2	IFP/RJ	002.515.997-60	251/98
GISELA RIBEIRO GLISSMANN	10530143-6	IFP/RJ	069.629.147-92	1975/07
GUSTAVO JOSÉ FERREIRA BARBOSA	3.414.686	IFP/RJ	628.331.207-10	253/98
JOÃO LUIS D'OREY FACCO VIANNA	05.199.476-2	IFP/RJ	606.741.647-68	256/98
LIZ CARNEIRO LEÃO STARLING	04.785.262-9	IFP/RJ	721.634.537-15	254/98
MARCELO CANELLAS LEITE	06.387.929-0	IFP/RJ	776.435.427-91	1369/99
MARIA CLAUDIA SABATINI	10.313.943-2	IFP/RJ	068.489.467-02	2212/11
MAURICIO LEONARDOS	1.233.204	IFP/RJ	008.357.907-97	250/98
MONICA DE CASSIA PEREIRA DA MOTTA	07.039.382-2	IFP/RJ	899.192.897-87	439/98
PATRICIA SCHNEIDER JORGE	10.626.017-7	IFP/RJ	073.938.137-77	1844/05
PRISCILA MAYUMI KASHIWABARA	28.997.419-7	SSP/RJ	284.025.168-07	2237/11
RICARDO CARDOSO COSTA BOCLIN	08050715-5	IFP/RJ	976.131.857-53	1857/05
ROBERTA DE OLIVEIRA MENDES	94014013175	IICE/CE	618.885.833-04	2246/11
RONALDO MAGALHÃES VARELLA GOMES	4.496.124	IFP/RJ	777.613.677-87	1394/99
SONIS DE MORAES SOUZA	1.590.576	IFP/RJ	097.703.997-87	1374/99
TATIANA ALMEIDA SILVEIRA	09444762-0	IFP/RJ	032.276.897-74	1677/03
THEREZA GONÇALVES CURI ABRANCHES	08808913-1	IFP/RJ	035.340.537-02	446/98
TOMAZ FRANCISCO LEONARDOS	1.029.718	IFP/RJ	008.359.007-20	249/98
WALTER LUIS	04.870.305-2	IFP/RJ	690.807.807-82	435/98

todos brasileiros, com escritório nesta Cidade do Rio de Janeiro, na Rua Teófilo Otoni nº 63, 6º andar, a quem substabelece poderes para serem exercidos **ISOLADAMENTE**, independente da ordem de nomeação, podendo os Substabelecidos representar clientes da Substabelecedora na assinatura de quaisquer documentos, requerimentos, petições, bem como

substabelecer, e, em especial, (i) requerer e obter registros propriedade industrial, tais como os de marcas de indústria, de comércio e de serviços, títulos de estabelecimento, expressões ou sinais de propaganda, indicações geográficas, patentes de privilégio de invenção, modelos de utilidade, certificados de adição e registros de desenhos industriais; (ii) requerer e obter registros de programas de computador e de contratos relativos a programas de computador; (iii) promover perante a autoridade competente a apresentação de provas de uso e o pagamento das anuidades, quinquênios ou quaisquer outras taxas de manutenção, bem como as prorrogações ou renovações cabíveis; (iv) apresentar protestos, oposições, impugnações, pedidos de reconsideração e de nulidade administrativa, recursos, replicas e defesas escritas ou orais para defesa ativa e passiva dos interesses da mandante; (v) requerer e obter buscas e certidões, a anotação de mudanças de nome ou sede, de transferências, de cessões de domínio e de gravame ou penhor, bem com a averbação e o registro de contratos de licença para fabricação ou cessão de uso de quaisquer dos direitos acima mencionados e de contratos de transferência de tecnologia, prestação de serviços de assistência técnica, franquias e assemelhados; (vi) requerer devoluções de taxas ou retribuições, receber e dar quitação relativamente a tais taxas ou retribuições; (vii) desistir e transigir; e (viii) praticar tudo o mais que for necessário ao bom e fiel cumprimento deste mandato. São aqui ratificados os atos eventualmente já praticados pelos Substabelecidos, ficando certo, ainda, que os poderes ora enunciados poderão ser exercidos perante qualquer Repartição Pública ou Autárquica, Federal, Estadual ou Municipal do Brasil, inclusive o Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, o Conselho Nacional de Combate à Pirataria e Delitos Contra a Propriedade Intelectual – CNCP, e ainda perante o Banco Central do Brasil – BACEN. **Para os devidos fins, este substabelecimento é aplicável a todas as procurações já outorgadas no passado, ou que venham a ser futuramente outorgadas à Substabelecedora, cessando automaticamente seus efeitos em relação ao Substabelecido que não mais prestar serviços à Substabelecedora.**

Rio de Janeiro, 04 de fevereiro de 2013.

KASZNAR LEONARDOS PROPRIEDADE INTELECTUAL

Gustavo José Ferreira Barbosa

Filipe da Cunha Leonardos

18º Ofício de Notas - Tabeliao Luis Vitoriano Vieira Teixeira
Av. Presidente Vargas, 435 12. andar - RJ - Tel. 2507-6151 - Nº 966159
Reconheco por semelhança a(s) firma(s): GUSTAVO JOSE FERREIRA BARBOS#
A-98/19-SLT28556, FILIPE DA CUNHA LEONARDOS-91/6-SLT28557, #=========
#==========
Rio de Janeiro, 4 de Fevereiro de 2013 as 15:09:42
2- Em Testemunho da verdade.
FERNANDO RENAN DE QUEIROS - Autorizado - FRQ - 1487
Firma 0,98 + Dados 3.60 + FETJ 0,91 + Fundos 0.62 = R$12,22

18º OFÍCIO DE NOTAS - RJ

SELO DE FISCALIZAÇÃO
CORREGEDORIA GERAL DA JUSTIÇA - RJ
RECONHECIMENTO DE FIRMA POR SEMELHANÇA
EBM 1 ATO
SLT28557
1 ATO
SLT28556

DECLARAÇÃO
REFERENTE AO DOCUMENTO DE PRIORIDADE

A Requerente declara, para os fins do artigo 16, § 2º da Lei 9.279 de 14/05/96 e, de acordo com o item 3.1 da Instrução Normativa 17/2013 ou, se aplicável, de acordo com o artigo 25 da Resolução 77/2013, ou, ainda, com o artigo 8 da Instrução Normativa 13/2013, que os dados identificadores do documento prioritário são os seguintes:

Requerente
NEXTCURE, INC.
9000 VIRGINIA MANOR ROAD, SUITE 200, BELTSVILLE, MD 20705
ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA

Data do Depósito
23 de janeiro de 2018

País do Depósito
Estados Unidos da América

Número do Pedido
62/620545

Título
ANTICORPOS B7-H4 OU MÉTODOS DE USO DO MESMO.

Inventor(es):
SOLOMON LANGERMANN,
6606 Cross Country Blvd., Baltimore, Maryland 21215, Estados Unidos da América
DALLAS BENJAMIN FLIES,
1114 Highwood Road, Rockville, Maryland 20851, Estados Unidos da América

Outrossim, a Requerente declara que as informações acima são verdadeiras.

Rio de Janeiro, 22 de julho de 2020.

p/p Kasznar Leonardos
Propriedade Intelectual

P141763
ACMFNSilva

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de um agente imunomodulador que reduz a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos selecionada a partir do grupo que consiste em:

(i) um polipeptídeo ou proteína de fusão B7-H4 solúvel,

(ii) uma função que bloqueia o anticorpo anti-B7-H4,

(iii) um anticorpo que esgota as células positivas para B7-H4, e

(iv) combinações dos mesmos;

para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso.

2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente imunomodulador é uma proteína de fusão B7-H4.

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende um domínio extracelular de B7-H4 para sua variante funcional ligada a um domínio de imunoglobulina.

4. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 ou um fragmento da mesma.

5. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente imunomodulador é uma proteína de fusão B7-H4.

6. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende um domínio extracelular de B7-H4 ou sua variante funcional ligada a um domínio de imunoglobulina.

7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 ou um fragmento da mesma.

8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente imunomodulador é uma proteína B7-H4 solúvel ou um fragmento ou variante funcional da mesma.

9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a proteína B7-H4 consiste em um domínio extracelular de B7-H4 ou um fragmento ou variante funcional do mesmo.

10. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizada pelo fato de que a resposta imune é uma resposta imune primária a um antígeno ou a um aumento da função das células efetoras, como aumento da proliferação específica de antígeno das células T, intensificação da produção de citocinas pelas células T, estímulo da diferenciação, ou uma combinação dos mesmos.

11. Método para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso, caracterizado pelo fato de que compreende

administrar ao indivíduo a composição farmacêutica como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

12. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem câncer.

13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o câncer é distinguido pela expressão aumentada de B7-H4.

14. Método de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que o câncer é um câncer de ovário, pulmão ou gastrointestinal.

15. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem uma doença infecciosa.

16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 15, caracterizado pelo fato de que se administra ao indivíduo a composição farmacêutica simultaneamente com uma vacina ou um componente da mesma.

17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 16, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente administrar ao indivíduo um segundo agente terapêutico.

18. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de um agente imunomodulador que aumenta a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos selecionada a partir do grupo que consiste em: uma função que ativa o anticorpo anti-B7-H4, para diminuir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso.

19. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que a resposta imune é uma resposta imune primária a um antígeno ou a um aumento da função das células efetoras, como aumento da proliferação específica de antígeno das células T, intensificação da produção de citocinas pelas células T, estímulo da diferenciação, ou uma combinação dos mesmos.

20. Método para reduzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo a composição farmacêutica como definida na reivindicação 18.

21. Método de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem inflamação.

22. Método de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem um distúrbio autoimune.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o distúrbio autoimune é artrite reumatoide.

24. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 23, caracterizado pelo fato de que o indivíduo ou uma doença ou condição caracterizou expressão reduzida de B7-H4.

25. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 23, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente administrar ao indivíduo um segundo agente terapêutico.

26. Composição ou método de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que a B7-H4 é expressa em uma célula tumoral.

27. Molécula, caracterizada pelo fato de que compreende um fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo anti-B7-H4 humana, em que a molécula se liga imunoespecificamente à B7-H4 humana.

28. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula se liga imunoespecificamente à B7-H4 humana: (I) arranjada na superfície de uma célula; (II) arranjada na superfície de uma célula viva a uma concentração endógena; (III) arranjada na superfície de uma célula viva, e modula a ligação entre B7-H4 e seu receptor celular; (IV) arranjada na superfície de uma célula viva, e inibe a supressão imunológica por macrófagos associados a um tumor; (V) arranjada na superfície de uma célula viva, e modula uma atividade de um macrófago associado a um tumor; (VI) arranjada na superfície de uma célula tumoral viva e inibe a supressão mediada por tumor; ou (VII) arranjada na superfície de uma célula tumoral viva e causa lise celular específica do tumor.

29. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é capaz de ser internalizada na dita célula e de mediar a morte da dita célula.

30. Molécula de acordo com a reivindicação 28, caracterizada pelo fato de que a dita célula viva é uma célula tumoral, uma célula infectada por patógeno ou um macrófago.

31. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é marcada de forma detectável ou compreende uma toxina conjugada, fármaco, receptor, enzima, ligante do receptor.

32. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é um anticorpo anti-B7H4 e em que o anticorpo é: (I) um anticorpo monoclonal, um anticorpo quimérico ou um anticorpo humanizado; ou (II) um anticorpo biespecífico, triespecífico ou multiespecífico.

33. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a dita molécula é um anticorpo IgG1 ou IgG4.

34. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula tem atividade ADCC e é capaz de atividade direta de morte de tumores ou TAM e/ou inibição da supressão mediada por TAM ou tumor.

35. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é um anticorpo biespecífico, triespecífico ou multiespecífico que é capaz de se ligar a B7-H4 e uma molécula diferente na mesma célula.

36. Composição farmacêutica para o tratamento de câncer ou doença infecciosa, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz ou profilaticamente eficaz da molécula como definida na reivindicação 27, e um carreador ou excipiente fisiologicamente aceitável, em que a dita molécula antagoniza uma supressão mediada por B7-H4 para modular uma resposta imune.

37. Método para intensificar ou induzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso, caracterizado pelo fato de que compreende: administrar uma quantidade eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindicação 36.

38. Anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:3.

39. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que codifica uma cadeia leve de acordo com a SEQ ID NO:3.

40. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:7.

41. Anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:8.

42. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que codifica uma cadeia pesada de acordo com a SEQ ID NO:8.

43. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 12.

44. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5 e 6.

45. Anticorpo anti-B7H4 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11.

46. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5, e 6 e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11.

47. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:3 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:8.

48. Anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13.

49. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15 e 16.

50. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:29.

51. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 30.

52. Anticorpo monoclonal anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 30.

53. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:29.

54. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:46.

55. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 16 e 47.

56. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:49.

57. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 50.

58. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 47, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 50.

59. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:46 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:49.

60. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:52.

61. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54 e 55.

62. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:65.

63. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 e 68.

64. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54, e 55, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 e 68.

65. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:52 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 65.

66. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:85.

67. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86 e 87.

68. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:89.

69. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

70. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86, e 87 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

71. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:85 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:89.

72. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 93.

73. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 94, 95 e 96.

74. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 98.

75. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

76. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 94, 95, e 96, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

77. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de

identidade de sequência com a SEQ ID NO:93 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 98.

78. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 102.

79. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104 e 105.

80. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 107.

81. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

82. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104, e 105, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

83. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 102 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 107.

84. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 111.

85. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 95, 112 e 113.

86. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 115.

87. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 116, 117 e 118.

88. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 95, 112, e 113, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 116, 117 e 118.

89. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 111 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 115.

90. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 120.

91. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 54, 55 e 121.

92. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:123.

93. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

94. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 54, 55, e 121, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

95. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 120 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 123.

96. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 128.

97. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que contém CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129 e 130.

98. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129 e 130.

99. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 128.

100. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NO:3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, ou 120.

101. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NO:8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, ou 128.

102. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, ou 120, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID Nos: 8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, ou 128.

103. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende três CDRs de cadeia leve com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID Nos: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, ou 121.

104. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende três CDRs de cadeia pesada com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID Nos: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, ou 130.

105. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende três CDRs de cadeia leve com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, e 121, e três CDRs de cadeia pesada com

sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, e 130.

106. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende seis regiões determinantes de complementaridade (CDRs), em que as CDRs compreendem as três CDRs de cadeia leve de um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 107, 114, 115, ou 123, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106, 107, 114, 115, ou 123, e as três CDRs de cadeia pesada de um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, ou 132, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, ou 132, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

107. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs: 19, 20, 21, 22, ou 23, e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:34, 35, 36, ou 37.

108. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia

leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 38, 39, 40, ou 41.

109. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 42, 43, 44, ou 45.

110. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:58, 59, 60, ou 61 e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs: 70, 71, 72, 73, ou 74.

111. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 75, 76, 77, 78, ou 79.

112. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de

aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 83, ou 84.

113. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

114. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 42, 43, 44, ou 45, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 42,

43, 44, ou 45, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

115. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63 ou 64,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

116. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63 ou 64,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%,

85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

117. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

118. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

119. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

120. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

121. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

122. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

123. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

124. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

125. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

126. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

127. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a

SEQ ID NO:40.

128. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

129. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

130. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

131. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

132. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

133. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26

e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

134. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

135. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

136. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

137. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

138. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

139. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia

leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

140. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

141. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

142. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

143. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

144. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

145. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao

antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

146. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

147. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

148. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

149. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

150. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

151. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

152. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

153. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

154. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

155. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

156. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a

SEQ ID NO:45.

157. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 75.

158. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:76.

159. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:77.

160. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:78.

161. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:79.

162. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e

uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 80.

163. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:81.

164. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 82.

165. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 83.

166. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 84.

167. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 75.

168. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia

leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:76.

169. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:77.

170. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:78.

171. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:79.

172. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 80.

173. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:81.

174. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao

antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 82.

175. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 83.

176. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 84.

177. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 75.

178. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:76.

179. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:77.

180. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:78.

181. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:79.

182. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 80.

183. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:81.

184. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 82.

185. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ

ID NO: 83.

186. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 84.

RESUMO

COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MÉTODOS PARA AUMENTAR, PARA REDUZIR, PARA INTENSIFICAR OU INDUZIR UMA RESPOSTA IMUNE EM UM INDIVÍDUO, MOLÉCULA, ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ÁCIDO NUCLEICO, ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ANTICORPO ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO ANTI-B7H4, E, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO

São providas composições e métodos de uso das mesmas para modular B7-H4. Por exemplo, são providos agentes imunomoduladores que reduzem a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Tais agentes podem ser usados para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso. Também são providos agentes imunomoduladores que aumentam a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Tais agentes podem ser usados para reduzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
01 August 2019 (01.08.2019)

WIPO | PCT

(10) International Publication Number
WO 2019/147670 A1

(51) International Patent Classification:
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US20 19/0 14748

(22) International Filing Date:
23 January 2019 (23.01.2019)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
62/620,545 23 January 2018 (23.01.2018) US

(71) Applicant: **NEXTCURE, INC.** [US/US]; 9000 Virginia Manor Road, Suite 200, Beltsville, MD 20705 (US).

(72) Inventors: **LANGERMANN, Solomon;** 6606 Cross Country Blvd., Baltimore, MD 21215 (US). **FLIES, Dallas, Benjamin;** 1114 Highwood Road, Rockville, MD 20851 (US). **LIU, Linda;** 6512 Tipperary Court, Clarksville, MD 21029 (US).

(74) Agent: **VORNDRAN, Charles** et al.; Smith Gambrell & Russell, LLP, 1230 Peachtree Street, N.E, Suite 3100, Promenade, Atlanta, GA 30309 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)* : **AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,** BB, **BG,** BH, **BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,** EE, **EG,** ES, **FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,** SE, **SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.**

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, Cl, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *with international search report (Art. 21(3))*
— *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*
— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

(54) Title: B7-H4 ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

(57) Abstract: Compositions and methods of use thereof for modulating B7-H4 are provided. For example, immunomodulatory agents are provided that reduce B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof. Such agents can be used to increase an immune response in a subject in need thereof. Immunomodulatory agents are also provided that increase B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof. Such agents can be used to reduce an immune response in a subject in need thereof.

WO 2019/147670 A1

B7-H4 ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

This application claims benefit of and priority to U.S. Provisional Patent Application No. 62/620,545 filed on January 23, 2018, which is incorporated by reference in its entirety.

REFERENCE TO A SEQUENCE LISTING

The Sequence Listing submitted January 23, 2019 as a text file named "064467.005PCT_seqlist_ST25" created on January 23, 2019, and having a size of 357 MB is hereby incorporated by reference pursuant to 37 C.F.R. § 1,52 (e)(5).

FIELD OF THE INVENTION

The invention is generally related to the field of immunomodulation, and more particularly to compositions and methods for modulating B7-H4 signaling to increase or decrease an immune response.

BACKGROUND OF THE INVENTION

The B7 family plays an important role in both positive and negative regulation of immune responses by engaging a variety of receptors on lymphocytes (Rahbar, R. et al., *Cancer Immunol Res*, 3(2):184-195(2015)). B7-H4 (also referred to as VTCN1 or B7x or B7S1) is a member of the B7 family and inhibits T-cell function. It is also upregulated on a variety of tumors and has been proposed to promote tumor growth. High B7-H4 expression is found in numerous tumor tissues providing a correlation of the level of expression on tumor cells with adverse clinical and pathologic features, including tumor aggressiveness

The biological activity of B7-H4 has been associated with decreased inflammatory $CD4^+$ T-cell responses and a correlation between B7-H4-expressing tumor-associated macrophages and FoxP3+ regulatory T cells (Tregs) within the tumor microenvironment. Since B7-H4 is expressed on tumor cells and tumor-associated macrophages in various cancer types, therapeutic blockade of B7-H4 could favorably alter the tumor microenvironment allowing for antigen-specific clearance of tumor cells (Podojil, JR. and Miller, SD, Immunol Rev, 276(l):40-5l (2017)).

cDNA encoding the human B7-H4 protein was identified and cloned from placental cDNA (Sica, G. L. et al. (2003) "B7-H4, A Molecule Of The B7 Family, Negatively Regulates T Cell Immunity," Immunity 18:849-861; Zang, X. et al. (2003) B7x: A Widely Expressed B7

Family Member That Inhibits T Cell Activation," Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 100:10388-10392). B7-H4 is discussed in U.S. Pat. Nos. 7,931,896; 7,875,702; 7,847,081; and 7,622,565.

Anti-B7-H4 antibodies are disclosed in U.S. Pat. Nos. 9,574,000; 7,888,477; 7,737,255; 7,619,068; and 6,962,980.

Human B7-H4 protein possesses 282 amino acid residues, which have been categorized as including an amino terminal extracellular domain, a large hydrophobic transmembrane domain and a very short intracellular domain (consisting of only 2 amino acid residues). Like other B7 family members, B7-H4 possesses a pair of Ig-like regions in its extracellular domain. The B7-H4 protein has an overall structure of a type I transmembrane protein. The protein has minimal (about 25%) homology with other B7 family members (Zang, X. et al. (2003) "B7x: A Widely Expressed B7 Family Member That Inhibits T Cell Activation," Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 100:10388-10392).

B7-H4 is also expressed on tumor-associated macrophages (TAMs). TAMs inhibit anti-tumor immune responses through the release of humoral mediators and also protect tumors from immune recognition by hampering cell-mediated immune responses through the cell-surface expression of inhibitory molecules such as B7-H4. TAMs derive from resident macrophages or from monocytes recruited by the tumor microenvironment and polarized at the tumor site. Tumor infiltration with TAMs has been associated with poor patient survival and targeting TAMs represents a promising strategy against cancer. Several approaches have already been developed, including depletion with clodronate liposomes; tumor recruitment inhibition by CFSR-l and CCL2 targeting; and "re-education" through activation via anti-CD40 mAbs, or HRG plasma protein, or mannose receptor (Dangai, D. et al., Cancer Res, 73(15): 4820-4829 (2013)).

Since B7-H4 is expressed on tumor cells and TAMs in various cancer types, directing therapeutics against B7-H4 could have tremendous synergistic outcomes in favorably altering the tumor micro-environment and eliminating cancer cells. Thus, there is a need for new immunomodulators of B7-H4.

Therefore, it is an object of the invention to provide compositions that inhibit B7-H4 mediated inhibitory signal transduction to thereby enhance or promote an immunological response by inhibiting B7-H4 suppressive signal transduction. Such compositions are useful for the treatment of cancer and infectious diseases.

It is another object of the invention to provide compositions that increase B7-H4 mediated inhibitory signal transduction thereby promoting a suppressive immunological response.

SUMMARY OF THE INVENTION

Compositions and methods of their use for modulating B7-H4 signal transduction are provided. Such compositions are useful for the treatment of inflammatory diseases and disorders and autoimmune diseases. In one embodiment immunomodulatory agents are provided that reduce B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, signal transduction, or a combination thereof. In one embodiment, the immunomodulatory agents specifically bind to B7-H4. The immunomodulatory agents can be antibodies or antigen binding fragments thereof, fusion proteins, aptamers, or agents that specifically bind B7-H4 and modulate signal transduction through B7-H4 signal transduction pathway. Modulation includes increasing signal transduction through the B7-H4 signal transduction pathway or inhibing signal transduction through the B7-H4 signal transduction pathway.

One embodiment provides a method for treating infection in a subject in need thereof by administering an effective amount of an agent that inhibits or blocks B7-H4 suppressive immune response in an amount effective to expand neutrophils and/or increase innate immunity.
The disclosed agents can be used to increase an immune response in a subject in need thereof by inhibiting the B7-H4 suppressive immune response. An immune response can be, for example, a primary immune response to an antigen or an increase in effector cell function such as increasing antigen-specific proliferation of T cells, enhancing cytokine production by T cells, stimulating differentiation, neutrophil expansion, or a combination thereof. Exemplary agents include (i) a soluble B7-H4 polypeptide or fusion protein, (ii) a function blocking anti-B7-H4 antibody, (iii) an antibody that can be used to deplete B7-H4 positive cells, and (iv) combinations thereof. In some embodiments, the immunomodulatory agent is an antagonist of B7-H4.

In particular embodiments the agent is a B7-H4 fusion protein, for example a fusion protein that includes an extracellular domain of B7-H4 or functional variant thereof linked to an immunoglobulin domain. An exemplary fusion protein includes the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1 or a fragment thereof.

In other embodiments the agent is a B7-H4 protein or a functional fragment or variant thereof. For example, the B7-H4 protein or functional fragment or variant thereof can have at

least 80%, 90%, 95%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:l. In one embodiment, the B7-H4 proteins or polypeptides modulate signal transduction through the B7-H4 signal transduction pathway by specifically binding to a ligand of B7-H4.

In other embodiments the agent is a soluble B7-H4 protein or a functional fragment or variant thereof. For example, the soluble B7-H4 protein can consist of an extracellular domain of B7-H4 or a functional fragment or variant thereof.

Methods of increasing an immune response in a subject typically include administering to a subject in need thereof an effective amount of an immunomodulatory agent that reduces B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, signal transduction, or a combination thereof. The subject can have, for example, cancer or an infectious disease.

In some embodiments, the subject, the cancer, or the disease is characterized by increased expression of B7-H4, increased expression of a B7-H4 ligand, or a combination thereof. In particular embodiments, the cancer is an ovarian, breast, lung, thyroid, gastrointestinal cancer, acute myeloid leukemia (AML), acute lymphoid leukemia (ALL), endometrial cancer, brain cancer, head and neck cancer, pancreatic cancer, and bladder cancer. The agent can be administered contemporaneously or in combination with a vaccine or a component thereof.

Immunomodulatory agents are also provided that increase B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, immune suppressive signaling, or a combination thereof. Such agents can be used to reduce an immune response in a subject in need thereof inducing or enhancing the suppressive immune B7-H4 response. Exemplary agents include a function activating anti-B7-H4 antibody or a soluble B7-H4 polypeptide.

Methods of reducing an immune response in a subject typically include administering a subject in need thereof an effective amount of an immunomodulatory agent that increases B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof. In some embodiments, the subject has inflammation or an autoimmune disorder. In a particular embodiment, the subject has rheumatoid arthritis.

In some embodiments, the subject or the disease or condition is characterized by reduced expression of B7-H4.

Any of the disclosed methods can include administering to the subject an immunomodulatory agent alone or in combination with one or more additional therapeutic agents.

One embodiment provides a method for treating leukemia in a subject in need thereof by administering to the subject an effective amount of a pharmaceutical composition comprising a B7-H4 monoclonal antibody, soluble B7-H4 polypeptide, B7-H4 fusion protein, or combinations thereof to inhibit or reduce B7-H4 signal transduction in leukemia cells and thereby inhibit leukemia cell survival or promote an anti-tumor immune response to the leukemia cells. The leukemia can be acute myeloid leukemia.

One embodiment provides a method for assessing or predicting the efficacy of a treatment using an anti-B7-H4 binding moiety by assaying the cells of a subject in need of treatment to determine whether the cells express B7-H4, binding partners of B7-H4, or both. Exemplary cells to be assayed include, but are not limited to cancer cells obtained from the subjected. Exemplar cancer cells, include but are not limited to acute myeloid leukemia (AML) cells, endometrial cancer, brain cancer, head and neck cancer, and pancreatic cancer.

One embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:3.

One embodiment provides a nucleic acid that encodes a light chain according to SEQ ID NO:3. Another embodiment provides a nucleic acid having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:7.

One embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:8.

One embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain SEQ ID NO: 8. Another embodiment provides a nucleic acid having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 12.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 5, and 6.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 10, and 11.

In one embodiment, an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 5, and 6 and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 10, and 11.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain with at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:3 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:8.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13.

In one embodiment, the antibody light chain contains CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:29.

Another embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID NOs: 9, 11, and 30.

One embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof containing light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 30.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:29.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:46.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody light chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 14, 16, and 47.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:49.

Another embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 47.

One embodiment provides an antibody, or antigen binding fragment thereof containing light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 16, and 47, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 50.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:46 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:49.

One embodiment provides an antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:52.

In another embodiment, an antibody light chain contains CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 53, 54, and 55.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:65.

Another embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 66, 67, and 68.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof containing light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 53, 54, and 55, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 67, and 68.

One embodiment provides an antibody, or antigen binding fragment thereof, containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:52 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:65.

One embodiment provides an antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:85.

Another embodiment provides an antibody light chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 4, 86, and 87.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:89.

One embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 90, and 91.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, containing light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 86, and 87 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 90, and 91.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:85 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:89.

One embodiment provides an antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:93.

Another embodiment provides an antibody light chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 94, 95, and 96.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:98.

Another embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 99, and 100.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, having light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 94, 95, and 96, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 99, and 100.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, having a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:93 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:98.

One embodiment provides an antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 102.

Another embodiment provides an antibody light chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 103, 104, and 105.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 107.

Another embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 108, and 109.

In one embodiment an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof, contains light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 103, 104, and 105 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 108, and 109.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 102 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 107.

One embodiment provides an antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 111.

Another embodiment provides an antibody light chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 95, 112, and 113.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 115.

One embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 116, 117, and 118.

In one embodiment, the anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, contains light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 95, 112, and 113, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 116, 117, and 118.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 111 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 115.

One embodiment provides an antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 120.

Another embodiment provides an antibody light chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 54, 55, and 121.

One embodiment provides an antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 123.

Another embodiment provides an antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 66, 124, and 125.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, containing light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 54, 55, and 121 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 124, and 125.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof, containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 120 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 123.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 128

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 129, and 130.

In one embodiment, an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, contains light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 129, 130.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, containing a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 128.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NO:3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, or 120.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NO:8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, or 128.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, or 120, and a heavy chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID Nos: 8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, or 128..

Also provided is an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof having three light chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group consisting of SEQ ID Nos: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, or 121.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof having three heavy chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group

consisting of SEQ ID Nos: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, or 130.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody, or antigen binding fragment thereof having three light chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, and 121, and three heavy chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, and 130.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs: 19, 20, 21, 22, or 23, and a heavy chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:34, 35, 36, or 37.

One embodiment provides an an anti-B7-H4 ntibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, or 28, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 38, 39, 40, or 41.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, or 28, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 42, 43, 44, or 45.

Also provided is an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:58, 59, 60, or 61, and a heavy chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs: 70, 71, 72, 73, or 74.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 62, 63, or 64, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 75, 76, 77, 78, or 79.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 62, 63, or 64, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 83, or 84.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having six complementarity determining regions (CDRs), wherein the CDRs include the three light chain CDRs of a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106, 107, 114, 115, or 123, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID N04, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106, 107, 114, 115, or 123, and the three heavy chain CDRs of a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO:9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, or 132, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, or 132, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, or 64, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, or 64, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 38, 39, 40, 41, 75, 76, 77, 78, or 79, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 38, 39, 40, 41, 75, 76, 77, 78, or 79, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, or 64, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, or 64, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 42, 43, 44, 45, 80, 81, 82, 83, or 84, or a

variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 42, 43, 44, 45, 80, 81, 82, 83, or 84, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 38, 39, 40, or 41, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 38, 39, 40, or 41, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 42, 43, 44, or 45, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 42, 43, 44, or 45, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

One embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 62, 63, or 64, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 62, 63, or 64, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, or 79, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, or 79, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

Another embodiment provides an anti-B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 62, 63, or 64, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ

ID NO: 62, 63, or 64, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, or 84, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, or 84, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

I. Definitions

As used herein, a molecule is said to be able to "immunospecifically bind" a second molecule if such binding exhibits the specificity and affinity of an antibody to its cognate antigen. Antibodies are said to be capable of immunospecifically binding to a target region or conformation ("epitope") of an antigen if such binding involves the antigen recognition site of the immunoglobulin molecule. An antibody that immunospecifically binds to a particular antigen may bind to other antigens with lower affinity if the other antigen has some sequence or conformational similarity that is recognized by the antigen recognition site as determined by, *e.g.*, immunoassays, BIACORE® assays, or other assays known in the art, but would not bind to a totally unrelated antigen. In some embodiments, however, antibodies (and their antigen binding fragments) will not cross-react with other antigens. Antibodies may also bind to other molecules in a way that is not immunospecific, such as to FcR receptors, by virtue of binding domains in other regions/domains of the molecule that do not involve the antigen recognition site, such as the Fc region.

As used herein, a molecule is said to "physiospecifically bind" a second molecule if such binding exhibits the specificity and affinity of a receptor to its cognate binding ligand. A molecule can be capable of physiospecifically binding to more than one other molecule.

As used herein, the term "antibody" is intended to denote an immunoglobulin molecule that possesses a "variable region" antigen recognition site and include antigen-binding fragments of antibodies. The term "variable region" is intended to distinguish such domain of the immunoglobulin from domains that are broadly shared by antibodies (such as an antibody Fc domain). The variable region includes a "hypervariable region" whose residues are responsible for antigen binding. The hypervariable region includes amino acid residues from a "Complementarity Determining Region" or "CDR" (*i.e.*, typically at approximately residues 24-34 (Ll), 50-56 (L2) and 89-97 (L3) in the light chain variable domain and at approximately residues 27-35 (Hl), 50-65 (H2) and 95-102 (H3) in the heavy chain variable domain; Rabat *et*

al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) and/or those residues from a "hypervariable loop" *(i.e.,* residues 26-32 (Ll), 50-52 (L2) and 91-96 (L3) in the light chain variable domain and 26-32 (Hl), 53-55 (H2) and 96-101 (H3) in the heavy chain variable domain; Chothia and Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.* 196:901-917). "Framework Region" or "FR" residues are those variable domain residues other than the hypervariable region residues as herein defined. The term antibody includes monoclonal antibodies, multi-specific antibodies, human antibodies, humanized antibodies, synthetic antibodies, chimeric antibodies, camelized antibodies (*See e.g.*, Muyldermans *et al.,* 2001, *Trends Biochem. Sci.* 26:230; Nuttall *et al.*, 2000, *Cur. Pharm. Biotech.* 1:253; Reichmann and Muyldermans, 1999, *J. Immunol. Meth.* 231:25; International Publication Nos. WO 94/04678 and WO 94/25591; U.S. Patent No. 6,005,079), single-chain Fvs (scFv) (see, *e.g., see* Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies,* vol. 113, Rosenburg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)), single chain antibodies, disulfide-linked Fvs (sdFv), intrabodies, diabodies, triabodies, tetrabodies, Bis-scFv, minibodies, Fab2, Fab3and anti-idiotypic (anti-id) antibodies (including, *e.g,* anti-id and anti-anti-Id antibodies to antibodies). In particular, such antibodies include immunoglobulin molecules of any type *(e.g,* IgG, IgE, IgM, IgD, IgA and IgY), class *(e.g,* IgGi, IgG2, IgG3, IgG_4, IgAi and IgA_2) or subclass.

As used herein, the term "antigen binding fragment" of an antibody refers to one or more portions of an antibody that contain the antibody's Complementarity Determining Regions ("CDRs") and optionally the framework residues that include the antibody's "variable region" antigen recognition site, and exhibit an ability to immunospecifically bind antigen. Such fragments include Fab', $F(ab')_2$, Fv, single chain (ScFv), and mutants thereof, naturally occurring variants, and fusion proteins including the antibody's "variable region" antigen recognition site and a heterologous protein *(e.g,* a toxin, an antigen recognition site for a different antigen, an enzyme, a receptor or receptor ligand, *etc.).*

As used herein, the term "fragment" refers to a peptide or polypeptide including an amino acid sequence of at least 5 contiguous amino acid residues, at least 10 contiguous amino acid residues, at least 15 contiguous amino acid residues, at least 20 contiguous amino acid residues, at least 25 contiguous amino acid residues, at least 40 contiguous amino acid residues, at least 50 contiguous amino acid residues, at least 60 contiguous amino residues, at least 70 contiguous

amino acid residues, at least 80 contiguous amino acid residues, at least 90 contiguous amino acid residues, at least 100 contiguous amino acid residues, at least 125 contiguous amino acid residues, at least 150 contiguous amino acid residues, at least 175 contiguous amino acid residues, at least 200 contiguous amino acid residues, or at least 250 contiguous amino acid residues.

As used herein the term "modulate" relates to a capacity to alter an effect, result, or activity (e.g., signal transduction). Such modulation can be agonistic or antagonistic. Antagonistic modulation can be partial *(i.e.,* attenuating, but not abolishing) or it can completely abolish such activity *(e.g.,* neutralizing). Modulation can include internalization of a receptor following binding of an antibody or a reduction in expression of a receptor on the target cell. Agonistic modulation can enhance or otherwise increase or enhance an activity (e.g., signal transduction). In a still further embodiment, such modulation can alter the nature of the interaction between a ligand and its cognate receptor so as to alter the nature of the elicited signal transduction. For example, the molecules can, by binding to the ligand or receptor, alter the ability of such molecules to bind to other ligands or receptors and thereby alter their overall activity. In some embodiments, such modulation will provide at least a 10% change in a measurable immune system activity, at least a 50% change in such activity, or at least a 2-fold, 5-fold, lO-fold, or at least a lOO-fold change in such activity.

The term "substantially," as used in the context of binding or exhibited effect, is intended to denote that the observed effect is physiologically or therapeutically relevant. Thus, for example, a molecule is able to substantially block an activity of a ligand or receptor if the extent of blockage is physiologically or therapeutically relevant (for example if such extent is greater than 60% complete, greater than *70%* complete, greater than 75% complete, greater than 80% complete, greater than 85% complete, greater than 90% complete, greater than 95% complete, or greater than 97% complete). Similarly, a molecule is said to have substantially the same immunospecificity and/or characteristic as another molecule, if such immunospecificities and characteristics are greater than 60% identical, greater than 70% identical, greater than 75% identical, greater than 80% identical, greater than 85% identical, greater than 90% identical, greater than 95% identical, or greater than 97% identical).

As used herein, the "co-stimulatory" signals encompass positive co-stimulatory signals (*e.g.,* signals that result in enhancing an activity) and negative co-stimulatory signals *(e.g,* signals that result in inhibiting an activity).

The term "derivative" refers to an antibody or antigen-binding fragment thereof that immunospecifically binds to the same target of a parent or reference antibody but which differs in amino acid sequence from the parent or reference antibody or antigen binding fragment thereof by including one, two, three, four, five or more amino acid substitutions, additions, deletions or modifications relative to the parent or reference antibody or antigen binding fragment thereof. In some embodiments such derivatives will have substantially the same immunospecificity and/or characteristics, or the same immunospecificity and characteristics as the parent or reference antibody or antigen binding fragment thereof. The amino acid substitutions or additions of such derivatives can include naturally occurring *(i.e.,* DNA-encoded) or non-naturally occurring amino acid residues. The term "derivative" encompasses, for example, chimeric or humanized variants, as well as variants having altered CH1, hinge, CH2, CH3 or CH4 regions, so as to form, for example antibodies, *etc.,* having variant Fc regions that exhibit enhanced or impaired effector or binding characteristics.

As used herein, a "chimeric antibody" is a molecule in which different portions of the antibody are derived from different immunoglobulin molecules such as antibodies having a variable region derived from a non-human antibody and a human immunoglobulin constant region.

As used herein, the term "humanized antibody" refers to an immunoglobulin including a human framework region and one or more CDR's from a non-human (usually a mouse or rat) immunoglobulin. The non-human immunoglobulin providing the CDR's is called the "donor" and the human immunoglobulin providing the framework is called the "acceptor." Constant regions need not be present, but if they are, they should be substantially identical to human immunoglobulin constant regions, *i.e.,* at least about 85-99%, or about 95% or more identical. Hence, all parts of a humanized immunoglobulin, except possibly the CDR's, are substantially identical to corresponding parts of natural human immunoglobulin sequences. A humanized antibody is an antibody including a humanized light chain and a humanized heavy chain immunoglobulin. For example, a humanized antibody would not encompass a typical chimeric antibody, because, *e.g.,* the entire variable region of a chimeric antibody is non-human.

The term "endogenous concentration" refers to the level at which a molecule is natively expressed (i.e., in the absence of expression vectors or recombinant promoters) by a cell (which cell can be a normal cell, a cancer cell or an infected cell).

As used herein, the terms "treat," "treating," "treatment" and "therapeutic use" refer to the elimination, reduction or amelioration of one or more symptoms of a disease or disorder. As used herein, a "therapeutically effective amount" refers to that amount of a therapeutic agent sufficient to mediate a clinically relevant elimination, reduction or amelioration of such symptoms. An effect is clinically relevant if its magnitude is sufficient to impact the health or prognosis of a recipient subject. A therapeutically effective amount may refer to the amount of therapeutic agent sufficient to delay or minimize the onset of disease, e.g., delay or minimize the spread of cancer. A therapeutically effective amount may also refer to the amount of the therapeutic agent that provides a therapeutic benefit in the treatment or management of a disease.

As used herein, the term "prophylactic agent" refers to an agent that can be used in the prevention of a disorder or disease prior to the detection of any symptoms of such disorder or disease. A "prophylactically effective" amount is the amount of prophylactic agent sufficient to mediate such protection. A prophylactically effective amount may also refer to the amount of the prophylactic agent that provides a prophylactic benefit in the prevention of disease.

As used herein, the term "cancer" refers to a neoplasm or tumor resulting from abnormal uncontrolled growth of cells. As used herein, cancer explicitly includes leukemias and lymphomas. The term "cancer" refers to a disease involving cells that have the potential to metastasize to distal sites and exhibit phenotypic traits that differ from those of non-cancer cells, for example, formation of colonies in a three-dimensional substrate such as soft agar or the formation of tubular networks or web-like matrices in a three-dimensional basement membrane or extracellular matrix preparation. Non-cancer cells do not form colonies in soft agar and form distinct sphere-like structures in three-dimensional basement membrane or extracellular matrix preparations.

As used herein, an "immune cell" refers to any cell from the hemopoietic origin including, but not limited to, T cells, B cells, monocytes, dendritic cells, and macrophages.

As used herein, "inflammatory molecules" refer to molecules that result in inflammatory responses including, but not limited to, cytokines and metalloproteases such as including, but not limited to, IL-lp, TNF-α, TGF-beta, IFN-γ, IL-18, IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21, and MMPs.

As used herein, "valency" refers to the number of binding sites available per molecule.

As used herein, the terms "immunologic," "immunological" or "immune" response is the development of a beneficial humoral (antibody mediated) and/or a cellular (mediated by antigen-specific T cells or their secretion products) response directed against a peptide in a recipient patient. Such a response can be an active response induced by administration of immunogen or a passive response induced by administration of antibody or primed T-cells. A cellular immune response is elicited by the presentation of polypeptide epitopes in association with Class I or Class II MHC molecules to activate antigen-specific $CD4^+$ T helper cells and/or $CD8^+$ cytotoxic T cells. The response may also involve activation of monocytes, macrophages, NK cells, basophils, dendritic cells, astrocytes, microglia cells, eosinophils, activation or recruitment of neutrophils or other components of innate immunity. The presence of a cell-mediated immunological response can be determined by proliferation assays ($CD4^+$ T cells) or CTL (cytotoxic T lymphocyte) assays. The relative contributions of humoral and cellular responses to the protective or therapeutic effect of an immunogen can be distinguished by separately isolating antibodies and T-cells from an immunized syngeneic animal and measuring protective or therapeutic effect in a second subject.

An "immunogenic agent" or "immunogen" is capable of inducing an immunological response against itself on administration to a mammal, optionally in conjunction with an adjuvant.

As used herein, the terms "individual," "host," "subject," and "patient" are used interchangeably herein, and refer to a mammal, including, but not limited to, humans, rodents, such as mice and rats, and other laboratory animals.

As used herein, the term "polypeptide" refers to a chain of amino acids of any length, regardless of modification (*e.g.*, phosphorylation or glycosylation). The term polypeptide includes proteins and fragments thereof. The polypeptides can be "exogenous," meaning that they are "heterologous," *i.e.,* foreign to the host cell being utilized, such as human polypeptide produced by a bacterial cell. Polypeptides are disclosed herein as amino acid residue sequences. Those sequences are written left to right in the direction from the amino to the carboxy terminus. In accordance with standard nomenclature, amino acid residue sequences are denominated by either a three letter or a single letter code as indicated as follows: Alanine (Ala, A), Arginine (Arg, R), Asparagine (Asn, N), Aspartic Acid (Asp, D), Cysteine (Cys, C), Glutamine (Gln, Q),

Glutamic Acid (Glu, E), Glycine (Gly, G), Histidine (His, H), Isoleucine (Ile, I), Leucine (Leu, L), Lysine (Lys, K), Methionine (Met, M), Phenylalanine (Phe, F), Proline (Pro, P), Serine (Ser, S), Threonine (Thr, T), Tryptophan (Trp, W), Tyrosine (Tyr, Y), and Valine (Val, V).

As used herein, the term "variant" refers to a polypeptide or polynucleotide that differs from a reference polypeptide or polynucleotide, but retains essential properties. A typical variant of a polypeptide differs in amino acid sequence from another, reference polypeptide. Generally, differences are limited so that the sequences of the reference polypeptide and the variant are closely similar overall and, in many regions, identical. A variant and reference polypeptide may differ in amino acid sequence by one or more modifications (*e.g.*, substitutions, additions, and/or deletions). A substituted or inserted amino acid residue may or may not be one encoded by the genetic code. A variant of a polypeptide may be naturally occurring such as an allelic variant, or it may be a variant that is not known to occur naturally.

Modifications and changes can be made in the structure of the polypeptides of the disclosure and still obtain a molecule having similar characteristics as the polypeptide *(e.g.,* a conservative amino acid substitution). For example, certain amino acids can be substituted for other amino acids in a sequence without appreciable loss of activity. Because it is the interactive capacity and nature of a polypeptide that defines that polypeptide's biological functional activity, certain amino acid sequence substitutions can be made in a polypeptide sequence and nevertheless obtain a polypeptide with like properties.

In making such changes, the hydropathic index of amino acids can be considered. The importance of the hydropathic amino acid index in conferring interactive biologic function on a polypeptide is generally understood in the art. It is known that certain amino acids can be substituted for other amino acids having a similar hydropathic index or score and still result in a polypeptide with similar biological activity. Each amino acid has been assigned a hydropathic index on the basis of its hydrophobicity and charge characteristics. Those indices are: isoleucine (+4.5); valine (+4.2); leucine (+3.8); phenylalanine (+2.8); cysteine/cystine (+2.5); methionine (+1.9); alanine (+1.8); glycine (-0.4); threonine (-0.7); serine (-0.8); tryptophan (-0.9); tyrosine (-1.3); proline (-1.6); histidine (-3.2); glutamate (-3.5); glutamine (-3.5); aspartate (-3.5); asparagine (-3.5); lysine (-3.9); and arginine (-4.5).

It is believed that the relative hydropathic character of the amino acid determines the secondary structure of the resultant polypeptide, which in turn defines the interaction of the

polypeptide with other molecules, such as enzymes, substrates, receptors, antibodies, antigens, and cofactors. It is known in the art that an amino acid can be substituted by another amino acid having a similar hydropathic index and still obtain a functionally equivalent polypeptide. In such changes, the substitution of amino acids whose hydropathic indices are within ± 2 is preferred, those within ± 1 are particularly preferred, and those within ± 0.5 are even more particularly preferred.

Substitution of like amino acids can also be made on the basis of hydrophilicity, particularly where the biological functional equivalent polypeptide or peptide thereby created is intended for use in immunological embodiments. The following hydrophilicity values have been assigned to amino acid residues: arginine (+3.0); lysine (+3.0); aspartate (+3.0 ± 1); glutamate (+3.0 ± 1); serine (+0.3); asparagine (+0.2); glutamine (+0.2); glycine (0); proline (-0.5 ± 1); threonine (-0.4); alanine (-0.5); histidine (-0.5); cysteine (-1.0); methionine (-1.3); valine (-1.5); leucine (-1.8); isoleucine (-1.8); tyrosine (-2.3); phenylalanine (-2.5); tryptophan (-3.4). It is understood that an amino acid can be substituted for another having a similar hydrophilicity value and still obtain a biologically equivalent, and in particular, an immunologically equivalent polypeptide. In such changes, the substitution of amino acids whose hydrophilicity values are within ± 2 is preferred, those within ± 1 are particularly preferred, and those within ± 0.5 are even more particularly preferred.

As outlined above, amino acid substitutions are generally based on the relative similarity of the amino acid side-chain substituents, for example, their hydrophobicity, hydrophilicity, charge, size, and the like. Exemplary substitutions that take various foregoing characteristics into consideration are well known to those of skill in the art and include (original residue: exemplary substitution): (Ala: Gly, Ser), (Arg: Lys), (Asn: Gln, His), (Asp: Glu, Cys, Ser), (Gln: Asn), (Glu: Asp), (Gly: Ala), (His: Asn, Gln), (He: Leu, Val), (Leu: Ile, Val), (Lys: Arg), (Met: Leu, Tyr), (Ser: Thr), (Thr: Ser), (Trp: Tyr), (Tyr: Trp, Phe), and (Val: Ile, Leu). Embodiments of this disclosure thus contemplate functional or biological equivalents of a polypeptide as set forth above. In particular, embodiments of the polypeptides can include variants having about 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, or more sequence identity to the polypeptide of interest.

The term “percent (%) sequence identity” is defined as the percentage of nucleotides or amino acids in a candidate sequence that are identical with the nucleotides or amino acids in a

reference nucleic acid sequence, after aligning the sequences and introducing gaps, if necessary, to achieve the maximum percent sequence identity. Alignment for purposes of determining percent sequence identity can be achieved in various ways that are within the skill in the art, for instance, using publicly available computer software such as BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 or Megalign (DNASTAR) software. Appropriate parameters for measuring alignment, including any algorithms needed to achieve maximal alignment over the full-length of the sequences being compared can be determined by known methods.

For purposes herein, the % sequence identity of a given nucleotides or amino acids sequence C to, with, or against a given nucleic acid sequence D (which can alternatively be phrased as a given sequence C that has or comprises a certain % sequence identity to, with, or against a given sequence D) is calculated as follows:

100 times the fraction W/Z,

where W is the number of nucleotides or amino acids scored as identical matches by the sequence alignment program in that program's alignment of C and D, and where Z is the total number of nucleotides or amino acids in D. It will be appreciated that where the length of sequence C is not equal to the length of sequence D, the % sequence identity of C to D will not equal the % sequence identity of D to C.

As used herein, the term "pharmaceutically acceptable carrier" encompasses any of the standard pharmaceutical carriers, such as a phosphate buffered saline solution, water and emulsions such as an oil/water or water/oil emulsion, and various types of wetting agents.

II. Compositions

The high levels of B7-H4 expression found in numerous tumor tissues, for example, human ovarian cancers, points to a key role for B7-H4 in mediating immune suppression. Also, Tumor-Associated Macrophages (TAMs) expressing B7-H4 have been found to suppress tumor-associated antigen-specific T cell immunity (Kryczek, I. et al. (2006) "B7-H4 Expression Identifies A Novel Suppressive Macrophage Population In Human Ovarian Carcinoma," J. Exp. Med. 203(4):871-881). The intensity of B7-H4 expression in TAMs correlates significantly with Treg cell numbers in the tumor. Furthermore, B7-H4 expressed on TAMs, is associated with poor patient outcome (Kryczek, I. et al. (2006) "B7-H4 Expression Identifies A Novel Suppressive Macrophage Population In Human Ovarian Carcinoma," J. Exp. Med. 203(4):871-881). Additionally, B7-H4 can be expressed on myeloid derived suppressor cells (MDSCs)

where it may exert an immune suppressive effect in viral infection (Garg, A et al. (2017) "Human Immunodeficiency Virus Type-l Myeloid Derived Suppressor Cells Inhibit Cytomegalovirus Inflammation through Interleukin-27 and B7-H4" Sci. Rep. Mar 24;7:44485). While in a study of uterine cancer, B7-H4 expression in the tumor microenvironment was associated with increased infiltration of MDSCs (Vanderstraeten, A. et al. (2014) "Mapping the immunosuppressive environment in uterine tumors: implications for immunotherapy," Cancer Immunol. Immunother. Jun;63(6):545-57). Therefore, B7-H4 may be expressed on tumor cells, TAM and/or MDSCs where it may exert immune suppressive signaling in cancer.

Neutrophils are a major component of the host innate defense against infection and also contribute to autoimmune pathogenesis and chronic inflammation. During infection, neutrophils rapidly migrate to sites of inflammation, become activated, and initiate a cascade of defense mechanisms including phagocytosis, killing, and degradation of microorganisms by antimicrobial and proteolytic proteins, along with the generation of reactive oxygen species. Neutrophils also participate in tissue breakdown, remodeling, wound healing, and modulation of other inflammatory and adaptive immune components. Due to their short life span, neutrophils have to be resupplied continuously during infection and inflammation by expansion from myeloid progenitor cells in the bone marrow. In vitro B7-H4 inhibits the growth of bone marrow-derived neutrophil progenitors, suggesting an inhibitory function of B7-H4 in neutrophil expansion (Zhu, G. et al., Blood, 113:1759-1767 (2009)). Thus, compositions that modulate B7-H4 signal transduction are provided.

A. B7-H4 Sequences

One embodiment provides B7-H4 polypeptides. The polypeptides can include an amino acid sequence of full-length B7-H4, or a fragment or variant thereof, or a fusion protein thereof.

One embodiment provides human B7-H4 proteins or polypeptides thereof Sequences for human B7-H4 are known in the art. For example, a consensus sequence for B7-H4 is

```
  1 MASLGQILFW SIISIIIILA GAIALIIGFG ISGRHSITVT TVASAGNIGE DGILSCTFEP
 61 DIKLSDIVIQ WLKEGVLGLV HEFKEGKDEL SEQDEMFRGR TAVFADQVIV GNASLRLKNV
121 QLTDAGTYKC YIITSKGKGN ANLEYKTGAF SMPEWVDYN  ASSETLRCEA PRWFPQPTW
181 WASQVDQGAN FSEVSNTSFE LNSENVTMKV VSVLYNVTIN NTYSCMIEND IAKATGDIKV
241 TESEIKRRSH LQLLNSKASL CVSSFFAISW ALLPLSPYLM LK
```

(SEQ ID NO:l, Q7Z7D3 (VTCNl_HUMAN)), where amino acids 1-27 are a signal sequence (underlined according to U S Patent Publication No. 2016/0039905 which is incorporated by referenced in its entirety). Sica et al. indicated that amino acids 1-20 comprise the signal

sequence. UniProtKB accession #Q7Z7D3 indicates that the extracellular domain includes amino acids 25-259.

Another embodiment provides mouse B7-H4 proteins and polypeptides. Sequences for mouse B7-H4 are known in the art. For example, a consensus sequence for mouse B7-H4 is

MASLGQIIFWSIINIIIILAGAIALIIGFGISGKHFITVTTFTSAGNIGEDGTLSCTFEP
DIKLNGIVIQWLKEGIKGLVHEFKEGKDDLSQQHEMFRGRTAVFADQVWGNASLRLKNV
QLTDAGTYTCYIRTSKGKGNANLEYKTGAFSMPEINVDYNASSESLRCEAPRWFPQPTVA
WASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKWSVLYNVTINNTYSCMIENDIAKATGDIKV
TDSEVKRRSQLQLLNSGPSPCVFSSAFVAGWALLSLSCCLMLR

(SEQ ID NO:2, Q7TSP5 (VTCN1_MOUSE) which is incorporated by reference in its entirety.)

1. Anti-B7-H4 Antibody Sequences

a. B1A1 Sequences

One embodiment provides a murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B1A1 contains two light chains and two heavy chains and specifically binds to B7-H4.

i. Light Chain

One embodiment provides a murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITC KASQDVRTAVAW YQQKPGQSPKLLIY STSYRYT GV PDRFTGSGSGTEFTFTISSVQAEDLAVYYCQQYYVTPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:3) that specifically binds to B7-H4.

The CDRs are of SEQ ID NO:3 are bolded and underlined and are:

CDR1 **KASQDVRTAVA** (SEQ ID NO:4);

CDR2 **STSYRYT** (SEQ ID NO: 5); and

CDR3 **QQYYVTPLT** (SEQ ID NO: 6).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO:3).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO:3) is

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTC
AGTATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGAACTGCTGTAGCCTGGTATCAACA
GAAACCAGGACAATCTCCTAAACTACTGATTTACTCGACATCCTACCGGTACACTGG
AGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGAATTCACTTTCACCATCAG
CAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATTATGTTACTCC
GCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO:7).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides a murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:

EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFT SYWMH WIKQRPGQGLEWI GAIYPGNSD **TKYNQKFKDKAKLT**AVT SAST AYMEL SSLTNED SAVYY CT ST **VRNVMD** YW GQGTS V TVSS (SEQ ID NO:8) and specifically binds to B7-H4.

The CDRs of SEQ ID NO:8 are bolded and underlined and are:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGNSDTKYNQKFKDK** (SEQ ID NO: 10); and

CDR3 **TVRNVMDY** (SEQ ID NO: 11).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO:8). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 8) is

GAGGTTC AGCTCC AGC AGTCTGGGACTGT GCTGGC AAGGCCTGGGGCTTC AGT GAA GATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGATAAA ACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAATAGTG ATACTAAATACAACCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCAAACTGACTGCAGTCACATCT GCCAGCACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAAATGAGGACTCTGCGGTCTA TTACTGTACATCTACGGTACGGAATGTTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGT CACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 12).

One embodiment provides an antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain having CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 5, and 6 and specifically binds to B7-H4.

One embodiment provides an antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain having CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 10, and 11 and specifically binds to B7-H4.

One embodiment provides an antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain having CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 5, and 6 and a heavy chain having CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 10, and 11 and specifically binds to B7-H4.

One embodiment provides an antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain with at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:3 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:8 and specifically binds to B7-H4.

b. B1H1 Sequences

In one embodiment a murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B1H1 and contains two light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides a murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:

EIQMTQSPSSMSASLGDRITITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPSFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGSDYSLTISNLESEDFADYY**CLQFYEFPPTF**GGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13).

The CDRs are of SEQ ID NO: 13 are bolded and underlined and are:

CDR1 **QATQDIVKSLN** (SEQ ID NO: 14);

CDR2 **YTAQLAE** (SEQ ID NO: 15); and

CDR3 **LQFYEFPPT** (SEQ ID NO: 16).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO:l3).

An exemplary nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO: 13) is

GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTATGTCTGCATCTCTGGGAGACAGAATA
ACCATCACTTGCCAGGCAACTCAAGACATTGTTAAGAGTTTAAACTGGTATCAACAA
AAACCAGGGAAACCCCCTTCATTCCTGATCTATTATACAGCTCAACTGGCAGAAGGG
GTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGTCAGACTATTCTCTGACAATCAGC
AACCTGGAGTCTGAAGATTTTGCAGACTATTACTGTCTACAGTTTTATGAGTTTCCTC
CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 17).

One embodiment provides a monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain constant domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 18)
and specifically binds to B7-H4.

ii. Humanized Light Chain

One embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a humanized light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Humanized B1H1 VL1:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQSEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 19)

Humanized B1H1 VL2:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:20)

Humanized B1H1 VL3:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKAPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:2l)

Humanized B1H1 VL4:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:22)

Humanized B1H1 VL5:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFAIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:23)

One embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a humanized light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Full Length B1H1 Light chain Variant 1:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQSEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:24)

Full Length B1H1 Light chain Variant 2:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:25)

Full Length B1H1 Light chain Variant 3:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKAPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:26)

Full Length B1H1 Light chain Variant 4:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:27)

Full Length B1H1 Light chain Variant 5:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:28)

iii. Heavy Chain

One embodiment provides a murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKVSGYPFT SYWMHW VKQRPGQGLEWI GAIYPGKS DTEYNPNFKGK AKLTAVTSATTAYMELSSLTNEDSAVYYCTS TWTHYFDY WGQGTTL TVSS (SEQ ID NO:29) and specifically binds to B7-H4.

The CDRs are of SEQ ID NO:29 are bolded and underlined and are:

CDR1 SYWMH (SEQ ID NO: 9);

CDR2 AIYPGKSDTEYNPNFKG (SEQ ID NO: 30); and

CDR3 TVRNVMDY (SEQ ID NO: 11).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO:29). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO:29) is GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTTCTGGCAAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAG ATGTCCTGCAAGGTTTCTGGCTACCCCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAAA CAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAAAAGTGA CACTGAATACAACCCGAACTTCAAGGGCAAGGCCAAACTGACTGCAGTCACATCTG CCACCACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAAATGAGGACTCTGCGGTCTATT ACTGTACAAGTACCTGGACCCACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:3l).

One embodiment provides a murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain constant domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:32) and specifically binds to B7-H4.

The underlined and bolded amino acids represent amino acids that differ from the mutant sequence.

Another embodiment provides a mutant heavy chain constant domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:33)

The underlined and bolded amino acids represent amino acids that differ from the wild-type sequence.

iv. Humanized Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a humanized heavy chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Humanized B1H1 VH1:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGKSD TEYAPKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTV SS (SEQ ID NO:34)

Humanized B1H1 VH2:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 35)

Humanized B1H1 VH3:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 36)

Humanized B1H1 VH4:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 37)

One embodiment provides an anti-B7-H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a humanized heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Heavy chain B1H1 Variant 1:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGKSD TEYAPKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWE SN GQPENNYKTTPP VLD SDGSFFLY SKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:38)

Heavy chain B1H1 Variant 2:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS
DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSL SSWT VP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLP
P SRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTTPP VLD SDGSFFLY SKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:39)

Heavy Chain B1H1 Variant 3:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS
DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSL SSWT VP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLP
P SRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTTPP VLD SDGSFFLY SKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:40)

Heavy chain B1H1 Variant 4:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS
DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSL SSWT VP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLP
P SRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTTPP VLD SDGSFFLY SKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:4l)

In another embodiment, the monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof has a humanized heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Heavy chain B1H1 mutant variant 1:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGKSD
TEYAPKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:42);

Heavy chain B1H1 mutant variant 2:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMFIWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS
DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTSTWmYFDYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:43);

Heavy chain B1H1 mutant variant 3:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMFIWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS
DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTYT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:44); and

Heavy chain B1H1 mutant variant 4:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGVPFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGAIYPGKS
DTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQ VYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:45).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain having CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 30.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16 and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 30.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:29.

Another embodiment provides an anti-B7H4 antibody preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:l9, 20, 21, 22, or 23, and a heavy chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:34, 35, 36, or 37. .

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, or 28, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 38, 39, 40, or 41.

Another embodiment provides an anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, or 28, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 42, 43, 44, or 45.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 38, 39, 40, or 41, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 38, 39, 40, or 41, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

Another embodiment provides an antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 42, 43, 44, or 45, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 42, 43, 44, or 45, and wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

c. B1H3 Sequences

In one embodiment a murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B1H3 and contains two light chains and two heavy chains and specifically binds B7-H4.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7-H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
EIQMTQSPSSMSASLGDTITITC QATQDIVKSLN WYQQKPGKPPSFLI YYTTQLAE GVPS
RFSGSGSGSDYSLTISNLDSEDFADYY**CLQFYEFPPTF**GGGTKLEIK (SEQ ID NO:46)
The CDRs are of SEQ ID NO:46 are bolded and underlined and are:

CDR1 **QATQDIVKSLN** (SEQ **ID NO: 14);**

CDR2 YYTTQLAE (SEQ ID NO:47); and

CDR3 LQFYEFPPT (SEQ ID NO: 16).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO:46).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO:46) is GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTATGTCTGCATCTCTGGGAGACACAATA ACCATCACTTGCCAGGCAACTCAAGACATTGTTAAGAGTTTAAACTGGTATCAACAA AAACCAGGGAAACCCCCTTCATTCCTGATCTATTATACAACTCAACTGGCAGAAGGG GTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGTCAGACTATTCTCTGACAATCAGC AACCTGGACTCTGAAGATTTTGCAGACTATTACTGTCTACAGTTTTATGAGTTTCCTC CGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:48).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7-H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFS SYWMH WVKQRPGQGLEWI GAIYPGKS DTSYNQKFQG KAKLTAVTSASTAEMELTSLTNEDSAVYYCTS TWTHYFDY WGQGTTL TVSS (SEQ ID NO:49).

The CDRs are of SEQ ID NO:49 are bolded and underlined and are:

CDR1 SYWMH (SEQ ID NO: 9);

CDR2 AIYPGKSDTEYNPNFKG (SEQ ID NO:50); and

CDR3 TVRNVMDY (SEQ ID NO: 11).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO:49).

An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO:49) is GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTTCTGGCAAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAG ATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTTCCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAAA CAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAAAAGTGA TACTAGCTACAACCAGAAGTTCCAGGGCAAGGCCAAACTGACTGCAGTCACATCTG CCAGCACTGCCTTCATGGAGCTCACCAGCCTGACAAATGAGGACTCTGCGGTCTATT ACTGTACAAGTACCTGGACCCACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCA CAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:51).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 16, and 47.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 50.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 16, and 47, and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 50.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:46 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:49.

d. B1H10 Sequences

In one embodiment an anti-B7H4 murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B1H10 and contains two light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: DIQMTQTT SSL SASLGDRVTISCRASQDISNYLNW YQQKPDGTIKLLIY YTSRLHS GVPS RFSGSGSGSDYSLTISNLEQEDIATYEC QQGNTLPWT FGGGTKLEFK (SEQ ID NO:52). The CDRs are of SEQ ID NO:52 are bolded and underlined and are:

CDR1 RASQDISNYLN (SEQ ID NO:53);

CDR2 YTSRLHS (SEQ ID NO: 54); and

CDR3 QQGNTLPWT (SEQ ID N0 :55).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO:52).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO:52) is

GATATCCAGATGACACAAACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAG
AAACCAGATGGAACTATTAAACTCCTGATCTATTACACATCAAGATTACATTCAGGA
GTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGATCAGATTATTCTCTCACCATTAGC
AACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCG
TGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATTCAAA (SEQ ID NO:56).

One embodiment provides an anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain constant domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKTIKLLIYYTSRLHSGVPSR
FSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:57)

ii. Humanized B1H10 Light Chain

In another embodiment, the anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof has a humanized light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Humanized B1H10 VL1:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKTIKLLIYYTSRLHSGVPSR
FSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 58)

Humanized B1H10 VL2:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:59)

Humanized B1H10 VL3:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGQTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:60)

Humanized B1H10 VL4:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGSTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:6l)

One embodiment provides an anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a humanized light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Humanized B1H10 Light Chain Variant 1:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGNTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:62)

Humanized B1H10 Light Chain Variant 2:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGQTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:63)

Humanized B1H10 Light Chain Variant 3:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGSTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:64)

iii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFT DYYMN WVRQSHGKSLEWI GRVNPSNGG TNYNQKFKG KATLTVDKSLSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCA RRHNYADF WGQGTTLTV SS (SEQ ID NO:65).

The CDRs of SEQ ID NO:65 are bolded and underlined and are:

CDR1 DYYMN (SEQ ID NO: 66);

CDR2 RVNPSN GGTNYN QKFKG (SEQ ID NO: 67); and

CDR3 RHNYADF (SEQ ID NO: 68).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO:65).

An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 65) is GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAA GATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATTCACTGACTACTACATGAACTGGGTGAG GCAGAGTCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATT GGACGTGTTAATCCTAGCAATGGTG GTACTAACTACAACCAGAAATTCAAGGGCAAGGCCACATTGACAGTAGACAAATCC CTCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTAT TACTGTGCAAGACGACATAACTACGCAGACTTCTGGGGCCAAGGCACCACTCTCAC AGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 69).

iv. Humanized B1H10 Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen-binding fragment thereof that has a humanized heavy chain variable domain variant having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Humanized B1H10 VH1:
EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWIGRVNPSNGG TNYAQKFQGRVTLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTV SS (SEQ ID NO: 70)

Humanized B1H10 VH2:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPAN GGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTV TVSS (SEQ ID NO:7l)

Humanized B1H10 VH3:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSSG GTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 72)

Humanized B1H10 VH4:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSNG GTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:73)

Humanized B1H10 VH5:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSSG GTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 74)

One embodiment provides an anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a humanized heavy chain variant having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the one of the following amino acid sequences:

Humanized B1H10 Heavy Chain Variant 1:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWIGRVNPSNGG TNYAQKFQGRVTLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:75)

Humanized B1H10 Heavy Chain Variant 2:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPAN GGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:76)

Humanized B1H10 Heavy Chain Variant 3:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSSG GTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE

EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:77)

Humanized B1H10 Heavy Chain Variant 4:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSNG
GTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:78)

Humanized B1H10 Heavy Chain Variant 5:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSSG
GTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:79)

One embodiment provides an anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a humanized mutant heavy chain variant having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with one of the following amino acid sequences:

Humanized Mutant B1H10 Heavy Chain Variant 1:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWIGRVNPSNGG
TNYAQKFQGRVTLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE

EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQ VYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:80)

Humanized Mutant B1H10 Heavy Chain Variant 2:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPAN
GGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSWT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQ VY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:8l)

Humanized Mutant B1H10 Heavy Chain Variant 3:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSSG
GTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQ VYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:82)

Humanized Mutant B1H10 Heavy Chain Variant 4:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSNG
GTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQ VYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:83)

Humanized Mutant B1H10 Heavy Chain Variant 5:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGRVNPSSG
GTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSWT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQ VYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:84)

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 53, 54, or 55.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 67, or 68.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 53, 54, or 55, and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 67, or 68.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 52 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:65.

Another embodiment provides an anti-B7H4 antibody preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:58, 59, 60, or 61, and a heavy chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:70, 71, 72, 73, or 74. .

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 62, 63, or 64, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 75, 76, 77, 78, or 79.

Another embodiment provides an anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 62, 63, or 64, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 83, or 84.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 62, 63, or 64, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 62, 63, or 64, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, or 79, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, or 79.

Another embodiment provides an anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having two light chains and two heavy chains, wherein the two light chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 62, 63, or 64, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 62, 63, or 64, and the two heavy chains include a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, or 84, or a variant thereof having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, or 84.

e. B2E6 Sequences

In one embodiment an anti-B7H4 murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B2E6 and contains two light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
ETYMTQSHKIMSTSVGDRYTIT**CKASODVRTAVAW**YQQKPGQSPKLLIS**SASY**QYTGV PDRFTGSGSGTDFTFTIS SLQAEDLAVYY CHQYYNTPLTF GAGTKLELR (SEQ ID NO:85).

The CDRs are of SEQ ID NO:85 are bolded and underlined and are:

CDR1 **KASQDVRTAVA** (SEQ **ID** NO:4);

CDR2 SASYQYT (SEQ ID NO: 86); and

CDR3 HQYYNTPLT (SEQ ID NO: 87).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO:85).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO:85) is GAAACTGTGATGACCCAGTCTCACAAAATCATGTCCACTTCAGTAGGAGACAGGGT CACCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGAACTGCTGTGGCCTGGTATCAAC AGAAACCAGGACAATCTCCTAAATTACTAATTTCCTCGGCATCCTACCAATACACTG GAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTCACCATCA GCAGTTTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCATCAGTATTATAATACTC CGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAGA (SEQ ID NO:88).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFT SYWMH WVKQRPGQGLEWI GAIYPGKS DTTYNQKFEG KAKLTAVTSDSTAYMDLSSLTNEDSAVYYCTS SVRNAMDY WGQGTS VTVSS (SEQ ID NO:89).

The CDRs are of SEQ ID NO:89 are bolded and underlined and are:

CDR1 SYWMH (SEQ ID NO: 9);

CDR2 AIYPGKSDTT YNQKFE G (SEQ ID NO: 90); and

CDR3 SVRNAMDY (SEQ ID NO:9l).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO:89). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 89) is GAGGTTC AGCTCC AGC AGTCTGGGACTGT GCTGGC AAGGCCTGGGGCTTC AGT GAA GATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAA ACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAAAAGTG ATACTACCTACAACCAGAAGTTCGAGGGCAAGGCCAAACTGACTGCAGTCACATCT GACAGCACAGCCTACATGGATCTCAGTAGCCTGACAAATGAGGACTCTGCGGTCTAT TACTGTACATCTTCGGTTCGGAATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTC ACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:92).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain having CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 86, and 87

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain having CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 90, and 91.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 86, and 87, and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 90, and 91.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:85 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:89.

f. B4B3 Sequences

In one embodiment an anti-B7H4 murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B4B3 and contains two light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
DVLMTQTPLSLPVSLGGQASISC RSSQIIVHSNGNTYLEW YLQKPGQSPKLLI YKVSNR FSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC FQGSHVPWT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:93)
The CDRs of SEQ ID NO:93 are bolded and underlined and are:

CDR1 **RSSQIIVHSNGNTYLE** (SEQ ID NO: 94);

CDR2 **KVSNRFS** (SEQ ID NO: 95); and

CDR3 **FQGSHVPWT** (SEQ ID NO: 96).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO:93).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO:93) is

GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGGTCAAGCCT
CCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGATCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAG
AATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCA
ACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCA
CACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAG
GTTCACATGTTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:97).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFI SYWMHW VKQRPGQGLEWI GEIDPSDSY **TYYNQKFKGK**ATLTVDK SSSTAYMQL SSLTSEP SAVYYC ARRKT WDW **YFDV** WGAG TTVTVSS (SEQ ID NO: 98).

The CDRs are of SEQ ID NO:98 are bolded and underlined and are:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **EIDPSDSYTYYNQKFKG** (SEQ ID NO: 99); and

CDR3 **RKTWDWYFDV** (SEQ ID NO: 100).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO:98). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 98) is
CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAA
GCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCATTAGCTACTGGATGCACTGGGTGAA
GCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGGAGAGATTGATCCTTCTGATAGTT
ATACTTACTACAATCAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAATCCT
CCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATT
ACTGTGCAAGAAGGAAAACCTGGGACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACC
ACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 101).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 94, 95, and 96.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 99, and 100.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 94, 95, and 96, and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 99, and 100.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 93 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:98.

g. **B4E11 Sequences**

In one embodiment an anti-B7H4 murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B4E1 1 and containstwo light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
DIVMT QSHKFMSTS VGDRYTIT CKASOD VSTA VAWY QQKPGQ SPKLLIS SAS**YRYT**GV PDRFTGSGSGTDFTFTISSVOAEDLAVYYC OOHYSTPT FGGGTKLEIR (SEQ ID NO: 102). The CDRs of SEQ ID NO: 102 are bolded and underlined and are:

CDR1 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO: 103);

CDR2 SASYRYT (SEQ ID NO: 104); and

CDR3 **QQHYSTPT** (SEQ ID NO: 105).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO: 102).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO: 102) is
GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTC ACTATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAG AAACCAGGACAGTCTCCTAAACTACTGATTTCCTCGGCATCCTACCGGTACACTGGA GTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGC

AGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAACATTATAGTACTCCG ACGTTCGGT GGAGGC ACC AAGCTGGAAAT CAGA (SEQ ID NO: 106).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFT SYWMH WVKERPGQGLEWI GAIYPGDSD TRYNQKFKG RAKLTAVTSANTAYMELSSLTNDDSAVFYCTC TTAGVLDY WGQGTSV TVSS (SEQ ID NO: 107).

The CDRs are of SEQ ID NO: 107 are bolded and underlined and are:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGDSDTRYNQKFKG** (SEQ ID NO: 108); and

CDR3 **TTAGVLDY** (SEQ ID NO: 109).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO: 107). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 107) is GAGGTTC AGCTCC AGC AGTCTGGGACTGT GCTGGC AAGGCCTGGGGCTTC AGT GAA GATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAA AGAGAGGCCTGGAC AGGGTCTGGAAT GGATT GGCGCT ATTT ATCCTGGAGAT AGTG ATACT AGGT ATAAT CAGAAGTT CAAGGGC AGGGCC AAACTGACTGC AGTC ACATCT GCCAACACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAAATGATGACTCTGCGGTCTTC TACTGTACATGTACTACGGCTGGTGTTTTGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTC ACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 110).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 103, 104, and 105.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 108, and 109.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID

Nos: 103, 104, and 105, and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 108, and 109.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 102 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 107.

h. B6C8 Sequences

In one embodiment an anti-B7H4 murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B6C8 and contains two light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISC TSSQSIVHGNGNTYLEW YLQKPGQSPKLLI YKVSNR FSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYY**CFQGSHVP**YTFGGGTKLEIK
(SEQ ID NO: 111).
The CDRs of SEQ ID NO: 111 are bolded and underlined and are:

CDR1 TSSQSIVHGNGNTYLE (SEQ ID NO: 112);

CDR2 KVSNRFS (SEQ ID NO: 95); and

CDR3 **FQGSHVPYT** (SEQ ID NO: 113).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO: 111).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO: 111) is
GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAGGCC
TCCATCTCTTGCACATCTAGTCAGAGCATTGTACATGGTAATGGAAACACCTATTTA
GAATGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCC
AACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTC
ACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAA
GGTTCACATGTTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA
(SEQ ID NO: 114).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:

QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYSFTSYWMNWVKQRPGRGLEWIGRIHPSDSE THYNQKFKSKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEPSAVYFCARY**GLFYGNDGYAMDH**WG QGTSVTVSS (SEQ ID NO: 115).

The CDRs of SEQ ID NO: 115 are bolded and underlined and are:

CDR1 **SYWMN** (SEQ **ID NO: 116);**

CDR2 RIHPSDSETHYNQKFKS (SEQ **ID NO:** 117); and

CDR3 YGLFYGNDGYAMDH (SEQ ID NO: 118).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO: 115). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 115) is

CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAA GCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACTCTTTCACCAGCTACTGGATGAACTGGGTGAA GCAGAGGCCTGGACGAGGCCTCGAGTGGATTGGAAGGATTCATCCTTCTGATAGTG AAACTCACTACAATCAAAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCC TCCAGCACAGCCTACATCCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTAT TTTTGTGCAAGATACGGGCTCTTCTATGGTAACGACGGATATGCTATGGACCACTGG GGTCAAGGAACCTCAG (SEQ ID NO: 119).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 97, 116 and 117.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 118, 119, and 120.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos 97, 114, and 115, and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 118, 119, and 120.

One embodiment provides an antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:l 13 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 117.

i. B9H1 Sequences

In one embodiment an anti-B7H4 murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B9H1 and containstwo light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:
DIQMTQTT SSL SASLGDRVTISC RASQDISF YLNW YQQKPDGT VKLLIY YTSRLHS GVP S RF SGSGSGTD Y SLTISNLEQEDIATYE COOGNTLPWTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO: 120).
The CDRs of SEQ ID NO: 120 are bolded and underlined and are:

CDR1 RASQDISFYLN (SEQ ID NO: 121);

CDR2 YTSRLHS (SEQ ID NO: 54); and

CDR3 QQGNTLPWT (SEQ ID N0 :55).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO: 120).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO: 120) is
GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCTTTTATTTAAACTGGTATCAGCAG
AAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGA
GTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGC
AACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACACTTCCG
TGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 122).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence:

EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFT DYYMN WVKQSHGKSLEWI GRVNPSNG GTS YNQKFKGK ATLTVDKSL SAAYMQLN SLTSEP SAVYY CARRHNYPD YW GQGTTL TVSS (SEQ ID NO: 123).

The CDRs of SEQ ID NO: 123 are bolded and underlined and are:

CDR1 DYYMN (SEQ ID NO: 66);

CDR2 RVNPSN GGTS YNQKFKG (SEQ ID NO: 124); and

CDR3 RHNYPDY (SEQ ID NO: 125).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO: 125). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 125) is GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAA GATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATTCACTGACTACTACATGAACTGGGTGAA GCAGAGTC ATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATT GGACGT GTT AATCCT AGC AATGGT G GTACT AGCT ACAACC AGAAGTTC AAGGGC AAGGCC ACATTGAC AGT AGAC AAATCC CTCAGCGCAGCCTATATGCAGCTCAACAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTAT TACTGTGCAAGAAGGCATAACTACCCTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCAC AGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 126).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 54, 55, and 121.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 124, and 125.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 54, 55, and 121, and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 124, and 125..

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 120 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:l23.

j. B10D7 Sequences

In one embodiment an anti-B7H4 murine monoclonal antibody is produced by hybridoma clone B10D7 and contains two light chains and two heavy chains.

i. Light Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: EIQMTQSPSSMSASLGDRITITCQATQDIVKSLNWYQQKPGKPPSFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGSDYSLTISNLESEDFADYYCLQFYEFPPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13). The CDRs of SEQ ID NO: 13 are bolded and underlined and are:

CDR1 QATQDIVKSLN (SEQ ID NO: 14);

CDR2 YTAQLAE (SEQ ID NO: 15); and

CDR3 LQFYEFPPT (SEQ ID NO: 16).

Another embodiment provides a nucleic acid that encodes the light chain (SEQ ID NO:l3).

An exemplary nucleic acid that encodes light chain (SEQ ID NO: 13) is GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTATGTCTGCATCTCTGGGAGACAGAATAACCATCACTTGCCAGGCAACTCAAGACATTGTTAAGAGTTTAAACTGGTATCAACAAAAACCAGGGAAACCCCCTTCATTCCTGATCTATTATACAGCTCAACTGGCAGAAGGGGTCCCGTCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGTCAGACTATTCTCTGACAATCAGCAACCTGGAGTCTGAAGATTTTGCAGACTATTACTGTCTACAGTTTTATGAGTTTCCTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA (SEQ ID NO: 127).

ii. Heavy Chain

One embodiment provides an anti-B7H4 murine monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity with the following amino acid sequence: EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYPFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGAIYPGNSDTRYNPNFKGKANLTAVTSATTAYMELSSLTNEESAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 128).

The CDRs of SEQ ID NO: 128 are bolded and underlined and are:

CDR1 SYWMH (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGNSDTRYNPNFKG** (SEQ ID NO: 129); and

CDR3 **TWTHYFDY** (SEQ ID NO: 130).

Another embodiment provides a nucleic acid encoding heavy chain (SEQ ID NO: 128). An exemplary nucleic acid that encodes heavy chain (SEQ ID NO: 130) is GAGGTTC AGCTCC AGC AGTCTGGGACTGT GCTGGC AAGGCCTGGGGCTTC AGT GAA GATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACCCCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAA GCAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAATAGTG ATACTAGGTACAACCCGAATTTCAAGGGCAAGGCCAACCTGACTGCAGTCACATCT GCCACCACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAAATGAGGAATCTGCGGTCTA TTACTGTACAAGTACCTGGACCCACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCT CACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 13 1).

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 129, and 130.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16 and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 129, and 130.

One embodiment provides an anti-B7H4 antibody, preferably a monoclonal antibody, or an antigen binding fragment thereof having a light chain at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 128.

2. Antibody Compositions

The disclosed B7-H4-binding molecules can be antibodies or antigen binding fragments thereof. The disclosed antibodies and antigen binding fragments thereof include whole immunoglobulin (i.e., an intact antibody) of any class, fragments thereof, and synthetic proteins containing at least the antigen binding variable domain of an antibody. In some embodiments, the disclosed molecule contains both an antibody light chain as well as at least the variable

domain of an antibody heavy chain. In other embodiments, such molecules can further include one or more of the CHi, hinge, CH2, CH3, and CH_4 regions of the heavy chain (especially, the CHi and hinge regions, or the CHi, hinge and CH2 regions, or the CHi, hinge, CH2 and CH3 regions). The antibody can be selected from any class of immunoglobulins, including IgM, IgG, IgD, IgA and IgE, and any isotype, including IgGi, IgG2, IgG_3 and IgG_4. In some embodiments, the constant domain is a complement fixing constant domain where it is desired that the antibody exhibit cytotoxic activity, and the class is typically IgGi. In other embodiments, where such cytotoxic activity is not desirable, the constant domain can be of the IgG2 or IgG_4 class. The antibody can include sequences from more than one class or isotype, and selecting particular constant domains to optimize desired effector functions is within the ordinary skill in the art.

The variable domains differ in sequence among antibodies and are used in the binding and specificity of each particular antibody for its particular antigen. However, the variability is not usually evenly distributed through the variable domains of antibodies. It is typically concentrated in three segments called complementarity determining regions (CDRs) or hypervariable regions both in the light chain and the heavy chain variable domains. The more highly conserved portions of the variable domains are called the framework (FR). The variable domains of native heavy and light chains each comprise four FR regions, largely adopting a beta-sheet configuration, connected by three CDRs, which form loops connecting, and in some cases forming part of, the beta-sheet structure. The CDRs in each chain are held together in close proximity by the FR regions and, with the CDRs from the other chain, contribute to the formation of the antigen binding site of antibodies.

Also disclosed are fragments of antibodies which have bioactivity. The fragments, whether attached to other sequences or not, include insertions, deletions, substitutions, or other selected modifications of particular regions or specific amino acids residues, provided the activity of the fragment is not significantly altered or impaired compared to the non-modified antibody or antibody fragment.

Techniques can also be adapted for the production of single-chain antibodies specific to B7-H4. Methods for the production of single-chain antibodies are well known to those of skill in the art. A single chain antibody can be created by fusing together the variable domains of the heavy and light chains using a short peptide linker, thereby reconstituting an antigen binding site on a single molecule. Single-chain antibody variable fragments (scFvs) in which the C-terminus

of one variable domain is tethered to the N-terminus of the other variable domain via a 15 to 25 amino acid peptide or linker have been developed without significantly disrupting antigen binding or specificity of the binding. The linker is chosen to permit the heavy chain and light chain to bind together in their proper conformational orientation.

Divalent single-chain variable fragments (di-scFvs) can be engineered by linking two scFvs. This can be done by producing a single peptide chain with two VH and two VL regions, yielding tandem scFvs. ScFvs can also be designed with linker peptides that are too short for the two variable regions to fold together (about five amino acids), forcing scFvs to dimerize. This type is known as diabodies. Diabodies have been shown to have dissociation constants up to 40-fold lower than corresponding scFvs, meaning that they have a much higher affinity to their target. Still shorter linkers (one or two amino acids) lead to the formation of trimers (triabodies or tribodies). Tetrabodies have also been produced. They exhibit an even higher affinity to their targets than diabodies.

One embodiment provides a monoclonal antibody obtained from a substantially homogeneous population of antibodies, i.e., the individual antibodies within the population are identical except for possible naturally occurring mutations that may be present in a small subset of the antibody molecules. Monoclonal antibodies include “chimeric” antibodies in which a portion of the heavy and/or light chain is identical with or homologous to corresponding sequences in antibodies derived from a particular species or belonging to a particular antibody class or subclass, while the remainder of the chain(s) is identical with or homologous to corresponding sequences in antibodies derived from another species or belonging to another antibody class or subclass, as well as fragments of such antibodies, as long as they exhibit the desired antagonistic activity.

On embodiment provides antibodies and antigen binding fragments thereof the specifically bind to human B7-H4.

One embodiment provides antibodies produced by a hybridoma from the group consisting of B1A1, B1H1, B1H3, B1H10, B2E6, B4B2, B4E1 1, B6C8, B9H1, and BlOD7.

a. Antibodies

The immunomodulatory agent can be an antibody. Suitable antibodies are known in the art or can be prepared by one of skill in the art. Nucleic acid and polypeptide sequences for B7-H4 are known in the art, and exemplary protein sequences are provided above. The sequences

can be used, as discussed in more detail below, by one of skill in the art to prepare an antibody or antigen binding fragment thereof specific for B7-H4. The antibody, or antigen binding fragment therefore, can be an agonist or antagonist of B7-H4 signaling.

The activity *{i.e.,* agonist or antagonist) of an antibody or antigen binding fragment thereof that is specific for B7-H4, can be determined using functional assays that are known in the art, and include the assays discussed below. Typically the assays include determining if the antibody or antigen binding fragment thereof increases *(i.e.,* agonist) or decreases *(i.e.,* antagonist) signaling through B7-H4. Because B7-H4 signal transduction results in a suppressive immune response, agonizing B7-H4 causes a suppressed or reduced immune response. Antagonizing B7-H4 signaling inhibits the immune suppressive response resulting in an overall increase in an immune response.

In some embodiments, the disclosed antibodies and antigen binding fragments thereof immunospecifically bind to B7-H4. In some embodiments, the antibody binds to an extracellular domain of B7-H4.

For example, molecules are provided that can immunospecifically bind to B7-H4:

(I) arrayed on the surface of a cell (especially a live cell);

(II) arrayed on the surface of a cell (especially a live cell) at an endogenous concentration;

(III) arrayed on the surface of a live cell, and modulates binding between B7-H4 and a ligand thereof;

(IV) arrayed on the surface of a live cell, and reduces or inhibits immune suppression by B7-H4;

(V) arrayed on the surface of a live cell, and induces or enhances immune suppression by B7-H4;

(VI) arrayed on the surface of a live cell, wherein the cell is a tumor cell;

(VII) combinations of I-IV and VI;

(VIII) combinations of I-III and V-IV; and

(IX) arrayed on the surface of a live myeloid or lymphoid derived cancer cells (AML or ALL), and enhances apoptosis and differentiation resulting in reduced self-renewal of cancer stem cells.

In some embodiments, the molecules are capable of inducing antibody dependent cell cytotoxicity (ADCC), complement dependent cytotoxicity (CDC) or cellular apoptosis through other mechanisms, of B7-H4 expressing cell.

To prepare an antibody or antigen binding fragment thereof that specifically binds to B7-H4, purified proteins, polypeptides, fragments, fusions, or epitopes to B7-H4 or polypeptides expressed from nucleic acid sequences thereof, can be used. The antibodies or antigen binding fragments thereof can be prepared using any suitable methods known in the art such as those discussed in more detail below.

i. Human and Humanized Antibodies

Many non-human antibodies (*e.g.*, those derived from mice, rats, or rabbits) are naturally antigenic in humans, and thus can give rise to undesirable immune responses when administered to humans. Therefore, the use of human or humanized antibodies in the methods serves to lessen the chance that an antibody administered to a human will evoke an undesirable immune response.

Transgenic animals *(e.g.,* mice) that are capable, upon immunization, of producing a full repertoire of human antibodies in the absence of endogenous immunoglobulin production can be employed. For example, it has been described that the homozygous deletion of the antibody heavy chain joining region (J(H)) gene in chimeric and germ-line mutant mice results in complete inhibition of endogenous antibody production. Transfer of the human germ-line immunoglobulin gene array in such germ-line mutant mice will result in the production of human antibodies upon antigen challenge.

Optionally, the antibodies are generated in other species and "humanized" for administration in humans. Humanized forms of non-human *(e.g,* murine) antibodies are chimeric immunoglobulins, immunoglobulin chains or fragments thereof (such as Fv, Fab, Fab', F(ab')2, or other antigen-binding subsequences of antibodies) which contain minimal sequence derived from non-human immunoglobulin. Humanized antibodies include human immunoglobulins (recipient antibody) in which residues from a complementarity determining region (CDR) of the recipient antibody are replaced by residues from a CDR of a non-human species (donor antibody) such as mouse, rat or rabbit having the desired specificity, affinity and capacity. In some instances, Fv framework residues of the human immunoglobulin are replaced by corresponding non-human residues. Humanized antibodies may also contain residues that are

found neither in the recipient antibody nor in the imported CDR or framework sequences. In general, the humanized antibody will contain substantially all of at least one, and typically two, variable domains, in which all or substantially all, of the CDR regions correspond to those of a non-human immunoglobulin and all or substantially all of the FR regions are those of a human immunoglobulin consensus sequence. The humanized antibody optimally also will contain at least a portion of an immunoglobulin constant region (Fc), typically that of a human immunoglobulin.

Methods for humanizing non-human antibodies are well known in the art. Generally, a humanized antibody has one or more amino acid residues introduced into it from a source that is non-human. These non-human amino acid residues are often referred to as "import" residues, which are typically taken from an "import" variable domain. Antibody humanization techniques generally involve the use of recombinant DNA technology to manipulate the DNA sequence encoding one or more polypeptide chains of an antibody molecule. Humanization can be essentially performed by substituting rodent CDRs or CDR sequences for the corresponding sequences of a human antibody. Accordingly, a humanized form of a nonhuman antibody (or a fragment thereof) is a chimeric antibody or fragment, wherein substantially less than an intact human variable domain has been substituted by the corresponding sequence from a non-human species. In practice, humanized antibodies are typically human antibodies in which some CDR residues and possibly some FR residues are substituted by residues from analogous sites in rodent antibodies.

The choice of human variable domains, both light and heavy, to be used in making the humanized antibodies is very important in order to reduce antigenicity. According to the "best-fit" method, the sequence of the variable domain of a rodent antibody is screened against the entire library of known human variable domain sequences. The human sequence which is closest to that of the rodent is then accepted as the human framework (FR) for the humanized antibody. Another method uses a particular framework derived from the consensus sequence of all human antibodies of a particular subgroup of light or heavy chains. The same framework may be used for several different humanized antibodies.

It is further important that antibodies be humanized with retention of high affinity for the antigen and other favorable biological properties. To achieve this goal, humanized antibodies can be prepared by a process of analysis of the parental sequences and various conceptual humanized

products using three dimensional models of the parental and humanized sequences. Three dimensional immunoglobulin models are commonly available and are familiar to those skilled in the art. Computer programs are available which illustrate and display probable three-dimensional conformational structures of selected candidate immunoglobulin sequences. Inspection of these displays permits analysis of the likely role of the residues in the functioning of the candidate immunoglobulin sequence, *i.e.,* the analysis of residues that influence the ability of the candidate immunoglobulin to bind its antigen. In this way, FR residues can be selected and combined from the consensus and import sequence so that the desired antibody characteristic, such as increased affinity for the target antigen(s), is achieved. In general, the CDR residues are directly and most substantially involved in influencing antigen binding.

The antibody can be bound to a substrate or labeled with a detectable moiety or both bound and labeled. The detectable moieties contemplated with the present compositions include fluorescent, enzymatic and radioactive markers.

ii. Single-Chain Antibodies

Methods for the production of single-chain antibodies are well known to those of skill in the art. A single chain antibody is created by fusing together the variable domains of the heavy and light chains using a short peptide linker, thereby reconstituting an antigen binding site on a single molecule. Single-chain antibody variable fragments (scFvs) in which the C-terminus of one variable domain is tethered to the N-terminus of the other variable domain via a 15 to 25 amino acid peptide or linker have been developed without significantly disrupting antigen binding or specificity of the binding. The linker is chosen to permit the heavy chain and light chain to bind together in their proper conformational orientation. These Fvs lack the constant regions (Fc) present in the heavy and light chains of the native antibody.

iii. Monovalent Antibodies

In vitro methods are also suitable for preparing monovalent antibodies. Digestion of antibodies to produce fragments thereof, particularly, Fab fragments, can be accomplished using routine techniques known in the art. For instance, digestion can be performed using papain. Papain digestion of antibodies typically produces two identical antigen binding fragments, called Fab fragments, each with a single antigen binding site, and a residual Fc fragment. Pepsin treatment yields a fragment, called the F(ab')2 fragment, that has two antigen combining sites and is still capable of cross-linking antigen.

The Fab fragments produced in the antibody digestion also contain the constant domains of the light chain and the first constant domain of the heavy chain. Fab' fragments differ from Fab fragments by the addition of a few residues at the carboxy terminus of the heavy chain domain including one or more cysteines from the antibody hinge region. The F(ab')2 fragment is a bivalent fragment comprising two Fab' fragments linked by a disulfide bridge at the hinge region. Fab'-SH is the designation herein for Fab' in which the cysteine residue(s) of the constant domains bear a free thiol group. Antibody fragments originally were produced as pairs of Fab' fragments which have hinge cysteines between them. Other chemical couplings of antibody fragments are also known.

iv. Hybrid Antibodies

The antibody can be a hybrid antibody. In hybrid antibodies, one heavy and light chain pair is homologous to that found in an antibody raised against one epitope, while the other heavy and light chain pair is homologous to a pair found in an antibody raised against another epitope. This results in the property of multi-functional valency, *i.e.,* ability to bind at least two different epitopes simultaneously. Such hybrids can be formed by fusion of hybridomas producing the respective component antibodies, or by recombinant techniques. Such hybrids may, of course, also be formed using chimeric chains.

v. Conjugates or Fusions of Antibody Fragments

The targeting function of the antibody can be used therapeutically by coupling the antibody or a fragment thereof with a therapeutic agent. Such coupling of the antibody or fragment (*e.g.*, at least a portion of an immunoglobulin constant region (Fc)) with the therapeutic agent can be achieved by making an immunoconjugate or by making a fusion protein, comprising the antibody or antibody fragment and the therapeutic agent.

Such coupling of the antibody or fragment with the therapeutic agent can be achieved by making an immunoconjugate or by making a fusion protein, or by linking the antibody or fragment to a nucleic acid such as an siRNA, comprising the antibody or antibody fragment and the therapeutic agent.

In some embodiments, the antibody is modified to alter its half-life. In some embodiments, it is desirable to increase the half-life of the antibody so that it is present in the circulation or at the site of treatment for longer periods of time. For example, it may be desirable to maintain titers of the antibody in the circulation or in the location to be treated for extended

periods of time. Antibodies can be engineered with Fc variants that extend half-life, *e.g,* using Xtend™ antibody half-life prolongation technology (Xencor, Monrovia, CA). In other embodiments, the half-life of the anti-DNA antibody is decreased to reduce potential side effects. The conjugates disclosed can be used for modifying a given biological response. The drug moiety is not to be construed as limited to classical chemical therapeutic agents. For example, the drug moiety may be a protein or polypeptide possessing a desired biological activity. Such proteins may include, for example, a toxin such as abrin, ricin A, pseudomonas exotoxin, or diphtheria toxin.

vi. Exemplary B7H4 Antibodies

Exemplary B7H4 antibodies or antigen binding fragments are disclosed herein. The antibodies can include one or more heavy chain and one or more light chain of mouse anti-human B7H4 antibody B1H1 or B1H10. In some embodiments, the B7H45 antibody includes some or all of the light chain CDRs, the entire light chain variable region, some or all of the heavy chain CDRs, the entire heavy chain variable region, or a combination thereof of any of mouse anti-human B7H4 antibody B1H1 or B1H10. Exemplary combinations are disclosed below.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain with an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:38.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain with an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:39.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain with an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:40.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain with an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:4l.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain with an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:42.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:43.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:44.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:24 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:45.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:38.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:39.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:40.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:4l.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:42.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:43.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:44.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:25 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:45.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:38.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:39.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:40.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:4l.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:42.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:43.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:44.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:26 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:45.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:38.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:39.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:40.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:4l.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:42.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:43.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:44.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:27 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:45.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:38.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:39.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:40.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:4l.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:42.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:43.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:44.

An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof with a light chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:28 and a heavy chain having an amino acid sequence according to SEQ ID NO:45.

2. Proteins and Polypeptides

a. Protein and Polypeptide Compositions

The immunomodulatory agent can be a protein, polypeptide, or fusion protein. For example, the immunomodulatory agent can be an isolated or recombinant protein or polypeptide, or functional fragment, variant, or fusion protein thereof of B7-H4.

The protein or polypeptide, or functional fragment, variant, or fusion protein thereof can be an agonist or an antagonist. For example, in some embodiments an antagonist of B7-H4 is a B7-H4 polypeptide or a fragment or fusion protein thereof that binds to a ligand of B7-H4. The polypeptide can be a soluble fragment, for example the extracellular domain of B7-H4, or a functional fragment thereof, or a fusion protein thereof. In some embodiments, a soluble ligand of B7-H4 may serve as an agonist, increasing signal transduction through B7-H4.

The activity *(i.e.,* agonist or antagonist) of a protein or polypeptide of B7-H4, or any fragment, variant or fusion protein thereof can be determined using functional assays that are

known in the art, and include the assays discussed below. Typically the assays include determining if the protein, polypeptide or fragment, variant or fusion protein thereof increases ***(i.e.,*** agonist) or decreases ***(i.e.,*** antagonist) signaling through the B7-H4 receptor. In some embodiments the assay includes determining if the protein, polypeptide or fragment, variant, or fusion protein thereof increases ***(i.e.,*** agonist) or decreases ***(i.e.,*** antagonist) the immune response associated with B7-H4. Typically the assays include determining if the protein, polypeptide or fragment, variant, or fusion protein thereof increases ***(i.e.,*** agonist) or decreases ***(i.e.,*** antagonist) signaling through B7-H4. In some embodiments the assay includes determining if the protein, polypeptide or fragment, variant, or fusion protein thereof decreases ***(i.e.,*** agonist) or increases ***(i.e.,*** antagonist) an immune response negatively regulated by B7-H4. In some embodiments the assay includes determining if the protein, polypeptide or fragment, variant, or fusion protein thereof increases ***(i.e.,*** antagonist) the apoptosis and differentiation of acute myeloid leukemia cells and acute lymphoblastic leukemia cells resulting in reduced self-renewal capacity of AML and ALL stem cells.

Nucleic acid and polypeptide sequences for B7-H4 are known in the art and exemplary protein and peptide sequences are provided above. The sequences can be used, as discussed in more detail below, by one of skill in the art to prepare any protein or polypeptide of B7-H4, or any fragment, variant, or fusion protein thereof. Generally, the proteins, polypeptides, fragments, variants, and fusions thereof of B7-H4 are expressed from nucleic acids that include sequences that encode a signal sequence. The signal sequence is generally cleaved from the immature polypeptide to produce the mature polypeptide lacking the signal sequence. The signal sequence can be replaced by the signal sequence of another polypeptide using standard molecule biology techniques to affect the expression levels, secretion, solubility, or other property of the polypeptide B7-H4 proteins with and without a signal sequence are disclosed. It is understood that in some cases, the mature protein as it is known or described in the art, ***i.e.,*** the protein sequence without the signal sequence, is a putative mature protein. During normal cell expression, a signal sequence can be removed by a cellular peptidase to yield a mature protein. The sequence of the mature protein can be determined or confirmed using methods that are known in the art.

i. **Fragments**

As used herein, a fragment of B7-H4 refers to any subset of the polypeptide that is at least one amino acid shorter than full length protein. Useful fragments include those that retain the ability to bind to their natural ligand or ligands. A polypeptide that is a fragment of any full-length B7-H4 typically has at least 20 percent, 30 percent, 40 percent, 50 percent, 60 percent, 70 percent, 80 percent, 90 percent, 95 percent, 98 percent, 99 percent, 100 percent, or even more than 100 percent of the ability to bind its natural ligand respectively as compared to the full-length protein.

Fragments of B7-H4 include cell free fragments. Cell free polypeptides can be fragments of full-length, transmembrane, polypeptides that may be shed, secreted or otherwise extracted from the producing cells. Cell free fragments of polypeptides can include some or all of the extracellular domain of the polypeptide, and lack some or all of the intracellular and/or transmembrane domains of the full-length protein. In one embodiment, polypeptide fragments include the entire extracellular domain of the full-length protein. In other embodiments, the cell free fragments of the polypeptides include fragments of the extracellular domain that retain biological activity of full-length protein. The extracellular domain can include 1, 2, 3, 4, or 5 contiguous amino acids from the transmembrane domain, and/or 1, 2, 3, 4, or 5 contiguous amino acids from the signal sequence. Alternatively, the extracellular domain can have 1, 2, 3, 4, 5 or more amino acids removed from the C-terminus, N-terminus, or both. In some embodiments the extracellular domain is the only functional domain of the fragment (e.g., the ligand binding domain).

ii. Variants

Variants of B7-H4, and fragments thereof are also provided. In some embodiments, the variant is at least 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, or 99 percent identical to any one of SEQ ID NO: 1. Useful variants include those that increase biological activity, as indicated by any of the assays described herein, or that increase half-life or stability of the protein. The protein and polypeptides of B7-H4, and fragments, variants, and fusion proteins thereof can be engineered to increase biological activity. For example, in some embodiments, a B7-H4 polypeptide, protein, or fragment, variant or fusion thereof has been modified with at least one amino acid substitution, deletion, or insertion that increases a function thereof.

Finally, variant polypeptides can be engineered to have an increased half-life relative to wild type. These variants typically are modified to resist enzymatic degradation. Exemplary

modifications include modified amino acid residues and modified peptide bonds that resist enzymatic degradation. Various modifications to achieve this are known in the art. The variants can be modified to adjust for effects of affinity for the receptor on the half-life of proteins, polypeptides, fragments, or fusions thereof at serum and endosomal pH.

iii. Fusion Proteins

Fusion polypeptides have a first fusion partner including all or a part of a polypeptide B7-H4 fused to a second polypeptide directly or via a linker peptide sequence that is fused to the second polypeptide. The fusion proteins optionally contain a domain that functions to dimerize or multimerize two or more fusion proteins. The peptide/polypeptide linker domain can either be a separate domain, or alternatively can be contained within one of the other domains (first polypeptide or second polypeptide) of the fusion protein. Similarly, the domain that functions to dimerize or multimerize the fusion proteins can either be a separate domain, or alternatively can be contained within one of the other domains (first polypeptide, second polypeptide or peptide/polypeptide linker domain) of the fusion protein. In one embodiment, the dimerization/multimerization domain and the peptide/polypeptide linker domain are the same.

Fusion proteins disclosed herein are of formula I:

N-R1-R2-R3-C

wherein "N" represents the N-terminus of the fusion protein, "C" represents the C-terminus of the fusion protein. In some embodiments, "Ri" is a polypeptide or protein of B7-H4 or fragment or variant thereof, "R2" is an optional peptide/polypeptide linker domain, and "R3" is a second polypeptide. Alternatively, R_3 may be a polypeptide or protein of B7-H4, or fragment or variant thereof and Ri may be a second polypeptide. In some embodiments, the B7-H4 polypeptide is the extracellular domain or a fragment thereof such as the Ig-like C2-domain, or the region framed by the cysteines that form a disulfide bond as discussed above.

Dimerization or multimerization can occur between or among two or more fusion proteins through dimerization or multimerization domains. Alternatively, dimerization or multimerization of fusion proteins can occur by chemical crosslinking. The dimers or multimers that are formed can be homodimeric/homomultimeric or heterodimeric/heteromultimeric.

In some embodiments, the fusion protein includes the extracellular domain of B7-H4, or a fragment or variant thereof, fused to an Ig Fc region. Recombinant Ig fusion proteins can be prepared by fusing the coding region of the extracellular domain of an extracellular domain or a

fragment or variant thereof to the Fc region of human IgGl, IgG2, IgG3 or IgG4 or mouse IgG2a, or other suitable Ig domain, as described previously (Chapoval, et al., *Methods Mol. Med.,* 45:247-255 (2000)).

iv. **Polypeptide Modifications**

The polypeptides and fusion proteins may be modified by chemical moieties that may be present in polypeptides in a normal cellular environment, for example, phosphorylation, methylation, amidation, sulfation, acylation, glycosylation, sumoylation and ubiquitylation. Fusion proteins may also be modified with a label capable of providing a detectable signal, either directly or indirectly, including, but not limited to, radioisotopes and fluorescent compounds.

The polypeptides and fusion proteins may also be modified by chemical moieties that are not normally added to polypeptides in a cellular environment. For example, the disclosed fusion proteins may also be modified by covalent attachment of polymer chains, including, but not limited to, polyethylene glycol polymer (PEG) chains *(i.e.,* pegylation). Conjugation of macromolecules to PEG has emerged recently as an effective strategy to alter the pharmacokinetic (PK) profiles of a variety of drugs, and thereby to improve their therapeutic potential. PEG conjugation increases retention of drugs in the circulation by protecting against enzymatic digestion, slowing filtration by the kidneys and reducing the generation of neutralizing antibodies. In addition, PEG conjugates can be used to allow multimerization of the fusion proteins.

Modifications may be introduced into the molecule by reacting targeted amino acid residues of the polypeptide with an organic derivatizing agent that is capable of reacting with selected side chains or terminal residues. Another modification is cyclization of the protein.

Examples of chemical derivatives of the polypeptides include lysinyl and amino terminal residues derivatized with succinic or other carboxylic acid anhydrides. Derivatization with a cyclic carboxylic anhydride has the effect of reversing the charge of the lysinyl residues. Other suitable reagents for derivatizing amino-containing residues include imidoesters such as methyl picolinimidate; pyridoxal phosphate; pyridoxal; chloroborohydride; trinitrobenzenesulfonic acid; O-methyl isourea; 2,4 pentanedione; and transaminase-catalyzed reaction with glyoxylate. Carboxyl side groups, aspartyl or glutamyl, may be selectively modified by reaction with carbodiimides (R—N=C=N—R') such as 1-cyclohexyl-3 -(2-morpholinyl-(4-ethyl)carbodiimide or 1-ethyl-3 -(4-azonia-4,4-dimethylpentyl) carbodiimide. Furthermore, aspartyl and glutamyl

residues can be converted to asparaginyl and glutaminyl residues by reaction with ammonia. Fusion proteins may also include one or more D-amino acids that are substituted for one or more L-amino acids.

v. **Modified Binding Properties**

Binding properties of the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof are relevant to the dose and dose regimen to be administered. In one embodiment the disclosed the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof have binding properties to a B7-H4 ligand that demonstrate a higher term, or higher percentage, of occupancy of a binding site (e.g., on the ligand) relative to other receptor molecules that bind thereto. In other embodiments, the disclosed proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof have reduced binding affinity to a B7-H4 ligand relative to wild type protein.

In some embodiments the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof have a relatively high affinity for B7-H4 ligand, and may therefore have a relatively slow off rate. In other embodiments, the proteins polypeptides, fragments, variants and fusions thereof are administered intermittently over a period of days, weeks or months to dampen immune responses which are allowed to recover prior to the next administration, which may serve to alter the immune response without completely turning the immune response on or off and may avoid long term side effects.

3. Isolated Nucleic Acid Molecules

Isolated nucleic acid sequences encoding the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof are disclosed herein. As used herein, “isolated nucleic acid” refers to a nucleic acid that is separated from other nucleic acid molecules that are present in a mammalian genome, including nucleic acids that normally flank one or both sides of the nucleic acid in a mammalian genome. The term “isolated” as used herein with respect to nucleic acids also includes the combination with any non-naturally-occurring nucleic acid sequence, since such non-naturally-occurring sequences are not found in nature and do not have immediately contiguous sequences in a naturally-occurring genome.

An isolated nucleic acid can be, for example, a DNA molecule, provided one of the nucleic acid sequences normally found immediately flanking that DNA molecule in a naturally-occurring genome is removed or absent. Thus, an isolated nucleic acid includes, without limitation, a DNA molecule that exists as a separate molecule independent of other sequences

(e.g., a chemically synthesized nucleic acid, or a cDNA or genomic DNA fragment produced by PCR or restriction endonuclease treatment), as well as recombinant DNA that is incorporated into a vector, an autonomously replicating plasmid, a virus *(e.g,* a retrovirus, lentivirus, adenovirus, or herpes virus), or into the genomic DNA of a prokaryote or eukaryote. In addition, an isolated nucleic acid can include an engineered nucleic acid such as a recombinant DNA molecule that is part of a hybrid or fusion nucleic acid. A nucleic acid existing among hundreds to millions of other nucleic acids within, for example, a cDNA library or a genomic library, or a gel slice containing a genomic DNA restriction digest, is not to be considered an isolated nucleic acid.

Nucleic acids encoding the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof may be optimized for expression in the expression host of choice. Codons may be substituted with alternative codons encoding the same amino acid to account for differences in codon usage between the mammal from which the nucleic acid sequence is derived and the expression host. In this manner, the nucleic acids may be synthesized using expression host-preferred codons.

Nucleic acids can be in sense or antisense orientation, or can be complementary to a reference sequence encoding a polypeptide or protein of B7-H4. Nucleic acids can be DNA, RNA, or nucleic acid analogs. Nucleic acid analogs can be modified at the base moiety, sugar moiety, or phosphate backbone. Such modification can improve, for example, stability, hybridization, or solubility of the nucleic acid. Modifications at the base moiety can include deoxyuridine for deoxythymidine, and 5-methyl-2'-deoxycytidine or 5-bromo-2'-deoxycytidine for deoxycytidine. Modifications of the sugar moiety can include modification of the 2' hydroxyl of the ribose sugar to form 2'-0-methyl or 2'-0-allyl sugars. The deoxyribose phosphate backbone can be modified to produce morpholino nucleic acids, in which each base moiety is linked to a six membered, morpholino ring, or peptide nucleic acids, in which the deoxyphosphate backbone is replaced by a pseudopeptide backbone and the four bases are retained. *See,* for example, Summerton and Weller (1997) *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 7:187-195; and Hyrup *etal.* (1996) *Bioorgan. Med. Chem.* 4:5-23. In addition, the deoxyphosphate backbone can be replaced with, for example, a phosphorothioate or phosphorodithioate backbone, a phosphoroamidite, or an alkyl phosphotriester backbone.

Nucleic acids encoding polypeptides can be administered to subjects in need thereof. Nucleic delivery involves introduction of "foreign" nucleic acids into a cell and ultimately, into a

live animal. Compositions and methods for delivering nucleic acids to a subject are known in the art *(see* Understanding Gene Therapy, Lemoine, N.R., ed., BIOS Scientific Publishers, Oxford, 2008).

4. **Vectors and Host** Cells

Vectors encoding the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof are also provided. Nucleic acids, such as those described above, can be inserted into vectors for expression in cells. As used herein, a "vector" is a replicon, such as a plasmid, phage, virus or cosmid, into which another DNA segment may be inserted so as to bring about the replication of the inserted segment. Vectors can be expression vectors. An "expression vector" is a vector that includes one or more expression control sequences, and an "expression control sequence" is a DNA sequence that controls and regulates the transcription and/or translation of another DNA sequence.

Nucleic acids in vectors can be operably linked to one or more expression control sequences. As used herein, "operably linked" means incorporated into a genetic construct so that expression control sequences effectively control expression of a coding sequence of interest. Examples of expression control sequences include promoters, enhancers, and transcription terminating regions. A promoter is an expression control sequence composed of a region of a DNA molecule, typically within 100 nucleotides upstream of the point at which transcription starts (generally near the initiation site for RNA polymerase II). To bring a coding sequence under the control of a promoter, it is necessary to position the translation initiation site of the translational reading frame of the polypeptide between one and about fifty nucleotides downstream of the promoter. Enhancers provide expression specificity in terms of time, location, and level. Unlike promoters, enhancers can function when located at various distances from the transcription site. An enhancer also can be located downstream from the transcription initiation site. A coding sequence is "operably linked" and "under the control" of expression control sequences in a cell when RNA polymerase is able to transcribe the coding sequence into mRNA, which then can be translated into the protein encoded by the coding sequence.

Suitable expression vectors include, without limitation, plasmids and viral vectors derived from, for example, bacteriophage, baculoviruses, tobacco mosaic virus, herpes viruses, cytomegalo virus, retroviruses, vaccinia viruses, adenoviruses, and adeno-associated viruses. Numerous vectors and expression systems are commercially available from such corporations as

Novagen (Madison, WI), Clontech (Palo Alto, CA), Stratagene (La Jolla, CA), and Invitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA).

An expression vector can include a tag sequence. Tag sequences, are typically expressed as a fusion with the encoded polypeptide. Such tags can be inserted anywhere within the polypeptide including at either the carboxyl or amino terminus. Examples of useful tags include, but are not limited to, green fluorescent protein (GFP), glutathione S-transferase (GST), polyhistidine, c-myc, hemagglutinin, Flag™ tag (Kodak, New Haven, CT), maltose E binding protein and protein A. In one embodiment, a nucleic acid molecule encoding one of the disclosed polypeptides is present in a vector containing nucleic acids that encode one or more domains of an Ig heavy chain constant region, for example, having an amino acid sequence corresponding to the hinge, CH2 and CH3 regions of a human immunoglobulin Cγ1 chain.

Vectors containing nucleic acids to be expressed can be transferred into host cells. The term "host cell" is intended to include prokaryotic and eukaryotic cells into which a recombinant expression vector can be introduced. As used herein, "transformed" and "transfected" encompass the introduction of a nucleic acid molecule (*e.g.*, a vector) into a cell by one of a number of techniques. Although not limited to a particular technique, a number of these techniques are well established within the art. Prokaryotic cells can be transformed with nucleic acids by, for example, electroporation or calcium chloride mediated transformation. Nucleic acids can be transfected into mammalian cells by techniques including, for example, calcium phosphate co-precipitation, DEAE-dextran-mediated transfection, lipofection, electroporation, or microinjection. Host cells *(e.g.,* a prokaryotic cell or a eukaryotic cell such as a CHO cell) can be used to, for example, produce the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof described herein.

The vectors described can be used to express the proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof in cells. An exemplary vector includes, but is not limited to, an adenoviral vector. One approach includes nucleic acid transfer into primary cells in culture followed by autologous transplantation of the *ex vivo* transformed cells into the host, either systemically or into a particular organ or tissue. *Ex vivo* methods can include, for example, the steps of harvesting cells from a subject, culturing the cells, transducing them with an expression vector, and maintaining the cells under conditions suitable for expression of the encoded polypeptides. These methods are known in the art of molecular biology. The transduction step

can be accomplished by any standard means used for *ex vivo* gene therapy, including, for example, calcium phosphate, lipofection, electroporation, viral infection, and biolistic gene transfer. Alternatively, liposomes or polymeric microparticles can be used. Cells that have been successfully transduced then can be selected, for example, for expression of the coding sequence or of a drug resistance gene. The cells then can be lethally irradiated (if desired) and injected or implanted into the subject. In one embodiment, expression vectors containing nucleic acids encoding fusion proteins are transfected into cells that are administered to a subject in need thereof.

In vivo nucleic acid therapy can be accomplished by direct transfer of a functionally active DNA into mammalian somatic tissue or organ *in vivo*. For example, nucleic acids encoding polypeptides disclosed herein can be administered directly to lymphoid tissues. Alternatively, lymphoid tissue specific targeting can be achieved using lymphoid tissue-specific transcriptional regulatory elements (TREs) such as a B lymphocyte-, T lymphocyte-, or dendritic cell-specific TRE. Lymphoid tissue specific TREs are known in the art.

Nucleic acids may also be administered *in vivo* by viral means. Nucleic acid molecules encoding fusion proteins may be packaged into retrovirus vectors using packaging cell lines that produce replication-defective retroviruses, as is well-known in the art. Other virus vectors may also be used, including recombinant adenoviruses and vaccinia virus, which can be rendered non-replicating. In addition to naked DNA or RNA, or viral vectors, engineered bacteria may be used as vectors.

Nucleic acids may also be delivered by other carriers, including liposomes, polymeric micro- and nanoparticles and polycations such as asialoglycoprotein/polylysine.

In addition to virus- and carrier-mediated gene transfer *in vivo*, physical means well-known in the art can be used for direct transfer of DNA, including administration of plasmid DNA and particle-bombardment mediated gene transfer.

5. Small Molecules

The immunomodulatory agent can be a small molecule. Small molecules agonists and antagonists B7-H4 are known in the art or can be identified using routine screening methods.

In some embodiments, screening assays can include random screening of large libraries of test compounds. Alternatively, the assays may be used to focus on particular classes of compounds suspected of modulating the level of B7-H4. Assays can include determinations of

B7-H4 signaling activity, or inhibitory response mediated by B7-H4. Other assays can include determinations of nucleic acid transcription or translation, mRNA levels, mRNA stability, mRNA degradation, transcription rates, and translation rates.

C. Pharmaceutical Compositions

Pharmaceutical compositions including the disclosed immunomodulatory agents are provided. Pharmaceutical compositions containing the immunomodulatory agent can be for administration by parenteral (intramuscular, intraperitoneal, intravenous (IV) or subcutaneous injection), transdermal (either passively or using iontophoresis or electroporation), or transmucosal (nasal, vaginal, rectal, or sublingual) routes of administration or using bioerodible inserts and can be formulated in dosage forms appropriate for each route of administration.

In some *in vivo* approaches, the compositions disclosed herein are administered to a subject in a therapeutically effective amount. As used herein the term "effective amount" or "therapeutically effective amount" means a dosage sufficient to treat, inhibit, or alleviate one or more symptoms of the disorder being treated or to otherwise provide a desired pharmacologic and/or physiologic effect. The precise dosage will vary according to a variety of factors such as subject-dependent variables (*e.g.*, age, immune system health, etc.), the disease, and the treatment being effected.

For the disclosed immunomodulatory agents, as further studies are conducted, information will emerge regarding appropriate dosage levels for treatment of various conditions in various patients, and the ordinary skilled worker, considering the therapeutic context, age, and general health of the recipient, will be able to ascertain proper dosing. The selected dosage depends upon the desired therapeutic effect, on the route of administration, and on the duration of the treatment desired. For the disclosed immunomodulatory agents, generally dosage levels of 0.001 to 20 mg/kg of body weight daily are administered to mammals. Generally, for intravenous injection or infusion, dosage may be lower.

In certain embodiments, the immunomodulatory agent is administered locally, for example by injection directly into a site to be treated. Typically, the injection causes an increased localized concentration of the immunomodulatory agent composition which is greater than that which can be achieved by systemic administration. The immunomodulatory agent compositions can be combined with a matrix as described above to assist in creating an increased

localized concentration of the polypeptide compositions by reducing the passive diffusion of the polypeptides out of the site to be treated.

1. Formulations for Parenteral Administration

In some embodiments, compositions disclosed herein, including those containing peptides and polypeptides, are administered in an aqueous solution, by parenteral injection. The formulation may also be in the form of a suspension or emulsion. In general, pharmaceutical compositions are provided including effective amounts of a peptide or polypeptide, and optionally include pharmaceutically acceptable diluents, preservatives, solubilizers, emulsifiers, adjuvants and/or carriers. Such compositions optionally include one or more for the following: diluents, sterile water, buffered saline of various buffer content (*e.g.*, Tris-HCl, acetate, phosphate), pH and ionic strength; and additives such as detergents and solubilizing agents *(e.g.,* TWEEN 20 (polysorbate-20), TWEEN 80 (polysorbate-80)), anti-oxidants *(e.g,* ascorbic acid, sodium metabi sulfite), and preservatives *(e.g,* Thimersol, benzyl alcohol) and bulking substances *(e.g,* lactose, mannitol). Examples of non-aqueous solvents or vehicles are propylene glycol, polyethylene glycol, vegetable oils, such as olive oil and corn oil, gelatin, and injectable organic esters such as ethyl oleate. The formulations may be lyophilized and redissolved/resuspended immediately before use. The formulation may be sterilized by, for example, filtration through a bacteria retaining filter, by incorporating sterilizing agents into the compositions, by irradiating the compositions, or by heating the compositions.

2. Formulations for Oral Administration

In embodiments the compositions are formulated for oral delivery. Oral solid dosage forms are described generally in Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. 1990 (Mack Publishing Co. Easton Pa. 18042) at Chapter 89. Solid dosage forms include tablets, capsules, pills, troches or lozenges, cachets, pellets, powders, or granules or incorporation of the material into particulate preparations of polymeric compounds such as polylactic acid, polyglycolic acid, etc. or into liposomes. Such compositions may influence the physical state, stability, rate of *in vivo* release, and rate of *in vivo* clearance of the disclosed. *See, e.g,* Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042) pages 1435-1712 which are herein incorporated by reference. The compositions may be prepared in liquid form, or may be in dried powder *(e.g,* lyophilized) form. Liposomal or proteinoid encapsulation may be used to formulate the compositions. Liposomal encapsulation may be used and the liposomes may be

derivatized with various polymers (*e.g.*, U.S. Patent No. 5,013,556). See also Marshall, K. In: Modem Pharmaceutics Edited by G. S. Banker and C. T. Rhodes Chapter 10, 1979. In general, the formulation will include the peptide (or chemically modified forms thereof) and inert ingredients which protect peptide in the stomach environment, and release of the biologically active material in the intestine.

The agents can be chemically modified so that oral delivery of the derivative is efficacious. Generally, the chemical modification contemplated is the attachment of at least one moiety to the component molecule itself, where the moiety permits uptake into the blood stream from the stomach or intestine, or uptake directly into the intestinal mucosa. Also desired is the increase in overall stability of the component or components and increase in circulation time in the body. PEGylation is an exemplary chemical modification for pharmaceutical usage. Other moieties that may be used include: propylene glycol, copolymers of ethylene glycol and propylene glycol, carboxymethyl cellulose, dextran, polyvinyl alcohol, polyvinyl pyrrolidone, polyproline, poly-l,3-dioxolane and poly-l,3,6-tioxocane *[see, e.g.,* Abuchowski and Davis (1981) "Soluble Polymer-Enzyme Adducts," in Enzymes as Drugs. Hocenberg and Roberts, eds. (Wiley-Interscience: New York, N.Y.) pp. 367-383; and Newmark, et al. (1982) *J. Appl. Biochem.* 4:185-189].

Another embodiment provides liquid dosage forms for oral administration, including pharmaceutically acceptable emulsions, solutions, suspensions, and syrups, which may contain other components including inert diluents; adjuvants such as wetting agents, emulsifying and suspending agents; and sweetening, flavoring, and perfuming agents.

Controlled release oral formulations may be desirable. The agent can be incorporated into an inert matrix which permits release by either diffusion or leaching mechanisms, *e.g.*, gums. Slowly degenerating matrices may also be incorporated into the formulation. Another form of a controlled release is based on the Oros therapeutic system (Alza Corp.), *i.e.,* the drug is enclosed in a semipermeable membrane which allows water to enter and push drug out through a single small opening due to osmotic effects.

For oral formulations, the location of release may be the stomach, the small intestine (the duodenum, the jejunum, or the ileum), or the large intestine. In some embodiments, the release will avoid the deleterious effects of the stomach environment, either by protection of the agent (or derivative) or by release of the agent (or derivative) beyond the stomach environment, such

as in the intestine. To ensure full gastric resistance a coating impermeable to at least pH 5.0 is essential. Examples of the more common inert ingredients that are used as enteric coatings are cellulose acetate trimellitate (CAT), hydroxypropylmethylcellulose phthalate (HPMCP), HPMCP 50, HPMCP 55, polyvinyl acetate phthalate (PVAP), Eudragit L30D™, Aquateric™, cellulose acetate phthalate (CAP), Eudragit L™, Eudragit S™, and Shellac™. These coatings may be used as mixed films.

3. Formulations for Topical Administration

The disclosed immunomodulatory agents can be applied topically. Topical administration does not work well for most peptide formulations, although it can be effective especially if applied to the lungs, nasal, oral (sublingual, buccal), vaginal, or rectal mucosa.

Compositions can be delivered to the lungs while inhaling and traverse across the lung epithelial lining to the blood stream when delivered either as an aerosol or spray dried particles having an aerodynamic diameter of less than about 5 microns.

A wide range of mechanical devices designed for pulmonary delivery of therapeutic products can be used, including but not limited to nebulizers, metered dose inhalers, and powder inhalers, all of which are familiar to those skilled in the art. Some specific examples of commercially available devices are the ETltravent nebulizer (Mallinckrodt Inc., St. Louis, Mo.); the Acorn II nebulizer (Marquest Medical Products, Englewood, Colo.); the Ventolin metered dose inhaler (Glaxo Inc., Research Triangle Park, N.C.); and the Spinhaler powder inhaler (Fisons Corp., Bedford, Mass.). Nektar, Alkermes and Mannkind all have inhalable insulin powder preparations approved or in clinical trials where the technology could be applied to the formulations described herein.

Formulations for administration to the mucosa will typically be spray dried drug particles, which may be incorporated into a tablet, gel, capsule, suspension or emulsion. Standard pharmaceutical excipients are available from any formulator.

Transdermal formulations may also be prepared. These will typically be ointments, lotions, sprays, or patches, all of which can be prepared using standard technology. Transdermal formulations may require the inclusion of penetration enhancers.

4. Controlled Delivery Polymeric Matrices

The immunomodulatory agents disclosed herein can also be administered in controlled release formulations. Controlled release polymeric devices can be made for long term release

systemically following implantation of a polymeric device (rod, cylinder, film, disk) or injection (microparticles). The matrix can be in the form of microparticles such as microspheres, where the agent is dispersed within a solid polymeric matrix or microcapsules, where the core is of a different material than the polymeric shell, and the peptide is dispersed or suspended in the core, which may be liquid or solid in nature. Unless specifically defined herein, microparticles, microspheres, and microcapsules are used interchangeably. Alternatively, the polymer may be cast as a thin slab or film, ranging from nanometers to four centimeters, a powder produced by grinding or other standard techniques, or even a gel such as a hydrogel.

Either non-biodegradable or biodegradable matrices can be used for delivery of fusion polypeptides or nucleic acids encoding the fusion polypeptides, although in some embodiments biodegradable matrices are preferred. These may be natural or synthetic polymers, although synthetic polymers are preferred in some embodiments due to the better characterization of degradation and release profiles. The polymer is selected based on the period over which release is desired. In some cases linear release may be most useful, although in others a pulse release or "bulk release" may provide more effective results. The polymer may be in the form of a hydrogel (typically in absorbing up to about 90% by weight of water), and can optionally be crosslinked with multivalent ions or polymers.

The matrices can be formed by solvent evaporation, spray drying, solvent extraction and other methods known to those skilled in the art. Bioerodible microspheres can be prepared using any of the methods developed for making microspheres for drug delivery, for example, as described by Mathiowitz and Langer, *J. Controlled Release,* 5:13-22 (1987); Mathiowitz, et al., *Reactive Polymers*, 6:275-283 (1987); and Mathiowitz, et al., *J. Appl. Polymer Sci.*, 35:755-774 (1988).

The devices can be formulated for local release to treat the area of implantation or injection - which will typically deliver a dosage that is much less than the dosage for treatment of an entire body - or systemic delivery. These can be implanted or injected subcutaneously, into the muscle, fat, or swallowed.

III. Methods of Manufacture

A. Methods of Making Antibodies

The antibodies can be generated in cell culture, in phage, or in various animals, including but not limited to cows, rabbits, goats, mice, rats, hamsters, guinea pigs, sheep, dogs, cats,

monkeys, chimpanzees, apes. Therefore, in one embodiment, an antibody is a mammalian antibody. Phage techniques can be used to isolate an initial antibody or to generate variants with altered specificity or avidity characteristics. Such techniques are routine and well known in the art. In one embodiment, the antibody is produced by recombinant means known in the art. For example, a recombinant antibody can be produced by transfecting a host cell with a vector comprising a DNA sequence encoding the antibody. One or more vectors can be used to transfect the DNA sequence expressing at least one VL and one VH region in the host cell. Exemplary descriptions of recombinant means of antibody generation and production include Delves, Antibody Production: Essential Techniques (Wiley, 1997); Shephard, et al., Monoclonal Antibodies (Oxford ETniversity Press, 2000); Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (Academic Press, 1993); Current Protocols in Immunology (John Wiley & Sons, most recent edition).

The disclosed antibodies can be modified by recombinant means to increase greater efficacy of the antibody in mediating the desired function. Thus, it is within the scope of the invention that antibodies can be modified by substitutions using recombinant means. Typically, the substitutions will be conservative substitutions. For example, at least one amino acid in the constant region of the antibody can be replaced with a different residue. *See, e.g.*, ET.S. Pat. No. 5,624,821, U.S. Pat. No. 6,194,551, Application No. WO 9958572; and Angal, et al., *Mol. Immunol.* 30:105-08 (1993). The modification in amino acids includes deletions, additions, and substitutions of amino acids. In some cases, such changes are made to reduce undesired activities, *e.g.*, complement-dependent cytotoxicity. Frequently, the antibodies are labeled by joining, either covalently or non-covalently, a substance which provides for a detectable signal. A wide variety of labels and conjugation techniques are known and are reported extensively in both the scientific and patent literature. These antibodies can be screened for binding to proteins, polypeptides, or fusion proteins of B7-H4. *See, e.g.*, Antibody Engineering: A Practical Approach (Oxford University Press, 1996).

For example, suitable antibodies with the desired biologic activities can be identified using *in vitro* assays including but not limited to: proliferation, migration, adhesion, soft agar growth, angiogenesis, cell-cell communication, apoptosis, transport, signal transduction, and in vivo assays such as the inhibition of tumor growth. The antibodies provided herein can also be useful in diagnostic applications. As capture or non-neutralizing antibodies, they can be screened

for the ability to bind to the specific antigen without inhibiting the receptor-binding or biological activity of the antigen. As neutralizing antibodies, the antibodies can be useful in competitive binding assays.

Antibodies that can be used in the disclosed compositions and methods include whole immunoglobulin (*i.e.*, an intact antibody) of any class, fragments thereof, and synthetic proteins containing at least the antigen binding variable domain of an antibody. The variable domains differ in sequence among antibodies and are used in the binding and specificity of each particular antibody for its particular antigen. However, the variability is not usually evenly distributed through the variable domains of antibodies. It is typically concentrated in three segments called complementarity determining regions (CDRs) or hypervariable regions both in the light chain and the heavy chain variable domains. The more highly conserved portions of the variable domains are called the framework (FR). The variable domains of native heavy and light chains each comprise four FR regions, largely adopting a beta-sheet configuration, connected by three CDRs, which form loops connecting, and in some cases forming part of, the beta-sheet structure. The CDRs in each chain are held together in close proximity by the FR regions and, with the CDRs from the other chain, contribute to the formation of the antigen binding site of antibodies.

Also disclosed are fragments of antibodies which have bioactivity. The fragments, whether attached to other sequences or not, include insertions, deletions, substitutions, or other selected modifications of particular regions or specific amino acids residues, provided the activity of the fragment is not significantly altered or impaired compared to the non-modified antibody or antibody fragment.

Techniques can also be adapted for the production of single-chain antibodies specific to an antigenic peptide. Methods for the production of single-chain antibodies are well known to those of skill in the art. A single chain antibody can be created by fusing together the variable domains of the heavy and light chains using a short peptide linker, thereby reconstituting an antigen binding site on a single molecule. Single-chain antibody variable fragments (scFvs) in which the C-terminus of one variable domain is tethered to the N-terminus of the other variable domain via a 15 to 25 amino acid peptide or linker have been developed without significantly disrupting antigen binding or specificity of the binding. The linker is chosen to permit the heavy chain and light chain to bind together in their proper conformational orientation.

Divalent single-chain variable fragments (di-scFvs) can be engineered by linking two scFvs. This can be done by producing a single peptide chain with two VH and two VL regions, yielding tandem scFvs. ScFvs can also be designed with linker peptides that are too short for the two variable regions to fold together (about five amino acids), forcing scFvs to dimerize. This type is known as diabodies. Diabodies have been shown to have dissociation constants up to 40-fold lower than corresponding scFvs, meaning that they have a much higher affinity to their target. Still shorter linkers (one or two amino acids) lead to the formation of trimers (triabodies or tribodies). Tetrabodies have also been produced. They exhibit an even higher affinity to their targets than diabodies.

A monoclonal antibody is obtained from a substantially homogeneous population of antibodies, *i.e.,* the individual antibodies within the population are identical except for possible naturally occurring mutations that may be present in a small subset of the antibody molecules. Monoclonal antibodies include "chimeric" antibodies in which a portion of the heavy and/or light chain is identical with or homologous to corresponding sequences in antibodies derived from a particular species or belonging to a particular antibody class or subclass, while the remainder of the chain(s) is identical with or homologous to corresponding sequences in antibodies derived from another species or belonging to another antibody class or subclass, as well as fragments of such antibodies, as long as they exhibit the desired antagonistic activity.

Monoclonal antibodies can be made using any procedure which produces monoclonal antibodies. In a hybridoma method, a mouse or other appropriate host animal is typically immunized with an immunizing agent to elicit lymphocytes that produce or are capable of producing antibodies that will specifically bind to the immunizing agent. Alternatively, the lymphocytes may be immunized *in vitro.*

Antibodies may also be made by recombinant DNA methods. DNA encoding the disclosed antibodies can be readily isolated and sequenced using conventional procedures (*e.g.*, by using oligonucleotide probes that are capable of binding specifically to genes encoding the heavy and light chains of murine antibodies). Libraries of antibodies or active antibody fragments can also be generated and screened using phage display techniques.

Methods of making antibodies using protein chemistry are also known in the art. One method of producing proteins comprising the antibodies is to link two or more peptides or polypeptides together by protein chemistry techniques. For example, peptides or polypeptides

can be chemically synthesized using currently available laboratory equipment using either Fmoc (9-fluorenylmethyloxycarbonyl) or Boc (tert -butyloxycarbonoyl) chemistry. (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA). One skilled in the art can readily appreciate that a peptide or polypeptide corresponding to the antibody, for example, can be synthesized by standard chemical reactions. For example, a peptide or polypeptide can be synthesized and not cleaved from its synthesis resin whereas the other fragment of an antibody can be synthesized and subsequently cleaved from the resin, thereby exposing a terminal group which is functionally blocked on the other fragment. By peptide condensation reactions, these two fragments can be covalently joined via a peptide bond at their carboxyl and amino termini, respectively, to form an antibody, or fragment thereof. Alternatively, the peptide or polypeptide is independently synthesized in *vivo* as described above. Once isolated, these independent peptides or polypeptides may be linked to form an antibody or antigen binding fragment thereof via similar peptide condensation reactions.

For example, enzymatic ligation of cloned or synthetic peptide segments allow relatively short peptide fragments to be joined to produce larger peptide fragments, polypeptides or whole protein domains. Alternatively, native chemical ligation of synthetic peptides can be utilized to synthetically construct large peptides or polypeptides from shorter peptide fragments. This method includesa two-step chemical reaction. The first step is the chemoselective reaction of an unprotected synthetic peptide-alpha-thioester with another unprotected peptide segment containing an amino-terminal Cys residue to give a thioester-linked intermediate as the initial covalent product. Without a change in the reaction conditions, this intermediate undergoes spontaneous, rapid intramolecular reaction to form a native peptide bond at the ligation site.

B. Methods for Producing Proteins

The disclosed proteins, polypeptides, fragments, variants and fusions thereof can be manufactured using conventional techniques that are known in the art. Isolated fusion proteins can be obtained by, for example, chemical synthesis or by recombinant production in a host cell. To recombinantly produce a protein, polypeptide, fragment, variant or fusion thereof, a nucleic acid containing a nucleotide sequence encoding the protein, polypeptide, fragment, variant or fusion thereof can be used to transform, transduce, or transfect a bacterial or eukaryotic host cell (*e.g.*, an insect, yeast, or mammalian cell). In general, nucleic acid constructs include a regulatory sequence operably linked to a nucleotide sequence encoding the protein, polypeptide, fragment, variant or fusion thereof. Regulatory sequences (also referred to herein as expression

control sequences) typically do not encode a gene product, but instead affect the expression of the nucleic acid sequences to which they are operably linked.

Useful prokaryotic and eukaryotic systems for expressing and producing polypeptides are well known in the art include, for example, *Escherichia coli* strains such as BL-21, and cultured mammalian cells such as CHO cells.

In eukaryotic host cells, a number of viral-based expression systems can be utilized to express fusion proteins. Viral based expression systems are well known in the art and include, but are not limited to, baculoviral, SV40, retroviral, or vaccinia based viral vectors.

Mammalian cell lines that stably express proteins, polypeptides, fragments, variants or fusions thereof, can be produced using expression vectors with appropriate control elements and a selectable marker. For example, the eukaryotic expression vectors pCR3. 1 (Invitrogen Life Technologies) and ρ91023(B) (see Wong *et al.* (1985) *Science* 228:810-815) are suitable for expression of proteins, polypeptides, fragments, variants or fusions thereof, in, for example, Chinese hamster ovary (CHO) cells, COS-l cells, human embryonic kidney 293 cells, NIH3T3 cells, BHK21 cells, MDCK cells, and human vascular endothelial cells (HUVEC). Additional suitable expression systems include the GS Gene Expression System™ available through Lonza Group Ltd.

Following introduction of an expression vector by electroporation, lipofection, calcium phosphate, or calcium chloride co-precipitation, DEAE dextran, or other suitable transfection method, stable cell lines can be selected (*e.g.*, by metabolic selection, or antibiotic resistance to G418, kanamycin, or hygromycin). The transfected cells can be cultured such that the polypeptide of interest is expressed, and the polypeptide can be recovered from, for example, the cell culture supernatant or from lysed cells. Alternatively, a protein, polypeptide, fragment, variant or fusion thereof, can be produced by (a) ligating amplified sequences into a mammalian expression vector such as pcDNA3 (Invitrogen Life Technologies), and (b) transcribing and translating *in vitro* using wheat germ extract or rabbit reticulocyte lysate.

Proteins, polypeptides, fragments, variants or fusions thereof, can be isolated using, for example, chromatographic methods such as affinity chromatography, ion exchange chromatography, hydrophobic interaction chromatography, DEAE ion exchange, gel filtration, and hydroxylapatite chromatography. In some embodiments, Proteins, polypeptides, fragments, variants or fusions thereof can be engineered to contain an additional domain containing amino

acid sequence that allows the polypeptides to be captured onto an affinity matrix. For example, an Fc-fusion polypeptide in a cell culture supernatant or a cytoplasmic extract can be isolated using a protein A column. In addition, a tag such as c-myc, hemagglutinin, polyhistidine, or Flag™ (Kodak) can be used to aid polypeptide purification. Such tags can be inserted anywhere within the polypeptide, including at either the carboxyl or amino terminus. Other fusions that can be useful include enzymes that aid in the detection of the polypeptide, such as alkaline phosphatase. Immunoaffmity chromatography also can be used to purify polypeptides. Fusion proteins can additionally be engineered to contain a secretory signal (if there is not a secretory signal already present) that causes the Proteins, polypeptides, fragments, variants or fusions thereof to be secreted by the cells in which it is produced. The secreted Proteins, polypeptides, fragments, variants or fusions thereof can then conveniently be isolated from the cell media.

C. Methods for Producing Isolated Nucleic Acid Molecules

Isolated nucleic acid molecules can be produced by standard techniques, including, without limitation, common molecular cloning and chemical nucleic acid synthesis techniques. For example, polymerase chain reaction (PCR) techniques can be used to obtain an isolated nucleic acid encoding a variant polypeptide. PCR is a technique in which target nucleic acids are enzymatically amplified. Typically, sequence information from the ends of the region of interest or beyond can be employed to design oligonucleotide primers that are identical in sequence to opposite strands of the template to be amplified. PCR can be used to amplify specific sequences from DNA as well as RNA, including sequences from total genomic DNA or total cellular RNA. Primers typically are 14 to 40 nucleotides in length, but can range from 10 nucleotides to hundreds of nucleotides in length. General PCR techniques are described, for example in PCR Primer: A Laboratory Manual ed. by Dieffenbach and Dveksler, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995. When using RNA as a source of template, reverse transcriptase can be used to synthesize a complementary DNA (cDNA) strand. Ligase chain reaction, strand displacement amplification, self-sustained sequence replication or nucleic acid sequence-based amplification also can be used to obtain isolated nucleic acids. *See*, for example, Lewis (1992) *Genetic Engineering News* 12:1; Guatelli *etal. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878; and Weiss (1991) *Science* 254:1292-1293.

Isolated nucleic acids can be chemically synthesized, either as a single nucleic acid molecule or as a series of oligonucleotides (*e.g.*, using phosphoramidite technology for

automated DNA synthesis in the 3' to 5' direction). For example, one or more pairs of long oligonucleotides (*e.g.,* >100 nucleotides) can be synthesized that contain the desired sequence, with each pair containing a short segment of complementarity *(e.g.,* about 15 nucleotides) such that a duplex is formed when the oligonucleotide pair is annealed. DNA polymerase can be used to extend the oligonucleotides, resulting in a single, double-stranded nucleic acid molecule per oligonucleotide pair, which then can be ligated into a vector. Isolated nucleic acids can also obtained by mutagenesis. Protein-encoding nucleic acids can be mutated using standard techniques, including oligonucleotide-directed mutagenesis and/or site-directed mutagenesis through PCR. *See,* Short Protocols in Molecular Biology. Chapter 8, Green Publishing Associates and John Wiley & Sons, edited by Ausubel *et al,* 1992.

IV. Assays and Antibody Screening

Assays for antibody screening include:

1. Analysis of binding affinity of B7-H4-Fc to ligands in comparison to B7-H4.

2. Functional assays to confirm B7-H4-Fc prevents signaling by B7-H4 expressing cells. Reporter cells may be utilized for these assays, or primary B7-H4+ cells are another option.

B7-H4 deficient ("knockout) mice or wild type mice can be utilized for the generation of high affinity mAbs against B7-H4 using proprietary immunization techniques. Autoimmune prone mice NZB/WF1 can be used to generate mAbs to overcome "tolerance".

1. **Phase I screening:** mAh binding to cell lines transfected to express cell surface B7-H4. Additionally, mAbs should have the capacity to bind endogenously expressed B7-H4 on the surface of primary human cell subsets. These mAbs should be highly specific for B7-H4. Antibodies can be screened using ELISA with purified B7-H4 protein to detect ant-B7-H4 antibodies.

2. **Phase II screening:** B7-H4 specific mAbs should block the binding of B7-H4 to its ligands and/or target cells.

3. **Phase III screening:** Functional assays to confirm that B7-H4 mAbs or combination of mAbs modulate B7-H4 signaling. These assays will utilize cell lines that express endogenous B7-H4, or primary cells such as human monocytes, macrophages and dendritic cell subsets to assess function in the presence of B7-H4 mAbs.

Additionally, reporter cells lines may be used to determine if signaling pathways such as NFkB (NFkB reporter) or NFAT (NFAT reporter) are altered following culture with B7-H4 mAbs.

4. **Phase IV screening:** Functional assays to determine if B7-H4 mAbs are capable of inducing antibody dependent cell cytotoxicity (ADCC), complement dependent cytotoxicity (CDC) or cellular apoptosis through other mechanisms, of B7-H4 expressing cell lines. In particular, B7-H4 mAbs will be tested for the ability to deplete through one of these methods leukemia cell lines, known to express B7-H4 on the cell surface. B7-H4 mAbs may also be engineered to deplete B7-H4 expressing cells and tested as described later in this document through known methods.

5. **Phase V screening:** Functional assays to determine if B7-H4 mAbs are capable of delivering or inducing a negative signal (agonist) via B7-H4 into B7-H4 expressing cells to inhibit cellular function. Cell lines that endogenously express B7-H4, or transfectants of cell lines will be assessed for changes in phenotype and survival following culture with B7-H4 mAbs. In other assays, reporter cell lines will be used to determine in B7-H4 mAbs modulate positive signaling pathways such as NF-kB (NF-kB reporter) or other known cell signaling reporters. Induction of apoptosis in cell lines will be also be evaluated.

Phase II and III assays can be used to predict the concentrations of B7-H4 mAb(s) required to block physiological levels of ligands in vivo.

V. Method of Use

Antagonists or agonists of B7-H4 can be used to modulate immune responses in subjects in need of such treatment.

Exemplary methods are discussed in more detail below.

A. Immune Response Stimulation

1. Therapeutic Strategies

Methods of inducing or enhancing an immune response in a subject are provided. Typically, the methods include administering a subject an effective amount of immunomodulatory agent, or cells primed *ex vivo* with the immunomodulatory agent. The immune response can be, for example, a primary immune response to an antigen or an increase effector cell function such as increasing antigen-specific proliferation of T cells, enhancing

cytokine production by T cells, stimulating differentiation, or a combination thereof. In some embodiments, the agent can increase the development of naive T cells into Thl, Thl7, Th22, or other cells that secrete, or cause other cells to secrete, inflammatory molecules, including, but not limited to, IL-lp, TNF-α, TGF-beta, IFN-γ, IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21, and MMPs. In some embodiments, the agent can reduce or inhibit the activity of Tregs, reduce the production of cytokines such as IL-10 from Tregs, reduce the differentiation of Tregs, reduce the number of Tregs, reduce the ratio of Tregs within an immune cell population, or reduce the survival of Tregs. The immunomodulatory agent can be administered to a subject in need thereof in an effective amount to overcome T cell exhaustion and/or T cell anergy. Overcoming T cell exhaustion or T cell anergy can be determined by measuring T cell function using known techniques.

The methods can be used *in vivo* or *ex vivo* as immune response-stimulating therapeutic applications. Thus in some embodiments, the agent, or nucleic acid encoding the agent, is administered directly to the subject. In some embodiments, the agent or nucleic acid encoding the agent, is contacted with cells (e.g., immune cells) ex vivo, and the treat cells are administered to the subject (e.g. adoptive transfer). In general, the disclosed immunomodulatory agents can be used for treating a subject having or being predisposed to any disease or disorder to which the subject's immune system mounts an immune response. The agents can enable a more robust immune response to be possible. The disclosed compositions are useful to stimulate or enhance immune responses involving T cells.

The immunomodulatory agents utilized for increasing an immune response are typically those that reduce B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof. For example, the agent can be an antagonist of B7-H4, such as an antagonist (blocking) anti- B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof. The agent can also be a B7-H4 polypeptide, for example, a soluble polypeptide, or fusion protein thereof that can serve as a decoy receptor for one or more B7-H4 ligands or receptors.

B7-H4 blockade, for example using function blocking anti- B7-H4 antibodies, can be an alternative agent or complementary agent to soluble B7-H4 polypeptides and fusion proteins. For example, in some embodiments, B7-H4 blockade is combined with a decoy receptor such as soluble B7-H4 or fusion protein thereof. The combined treatment (e.g., B7-H4-Fc and B7-H4 blockade) may be complementary.

In some embodiments, immune response stimulating therapy (e.g., in the treatment of cancer or infections) includes depletion of B7-H4+ cells.

Development and identification of B7-H4 depleting mAbs can be carried out according to known construction and screening methods including those discussed herein. See, for example, Reff, et al, *Blood.* Vol83, No 2, 1994: pp 435-445, which describes preparation of an anti-CD20 chimeric antibody that binds to human Clq, and mediates complement-dependent cell lysis (CDCC) in the presence of human complement, and anti-body-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) with human effector cells. Rituximab destroys B cells and is therefore used to treat diseases which are characterized by overactive, dysfunctional, or excessive numbers of B cells. Other B cell-depleting antibodies include ocrelizumab and ofatumumab. In another example, CD3 Abs can preferentially target and deplete activated effector T cells while preserving $CD4^{+}Foxp3^{+}$ Tregs. The antibodies transiently deplete T cells although they display no or little complement-dependent and antibody-dependent cellular cytotoxicity. Redirected cell lysis due to the ability to crosslink CD3 molecules expressed by two different cells (cytotoxic CD8+ T cells on one side and other target T cells on the other side) has been shown, however, T cell depletion mostly results from AICD (reviewed in You, *Front Immunol.* 2015; 6: 242).

A subject in need of enhancing their immune response can be administered with an agent that inhibits or blocks B7-H4 suppressive immune response in an amount effective to increase the uptake of antigen by antigen presenting cells (APCs).

2. Subjects to be Treated

a. Treatment of Cancer

The disclosed compositions and methods can be used to treat cancer. Generally, the agents are used to stimulate or enhance an immune response to cancer in the subject by administering to the subject an amount of an immunomodulatory agent that reduces B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof Cancer cells acquire a characteristic set of functional capabilities during their development, albeit through various mechanisms. Such capabilities include evading apoptosis, self-sufficiency in growth signals, insensitivity to anti-growth signals, tissue invasion/metastasis, limitless replicative potential, and sustained angiogenesis. The term “cancer cell” is meant to encompass both pre-malignant and malignant cancer cells. In some embodiments, cancer refers to a benign tumor, which has remained localized. In other embodiments, cancer refers to a malignant tumor,

which has invaded and destroyed neighboring body structures and spread to distant sites. In yet other embodiments, the cancer is associated with a specific cancer antigen (e.g., pan-carcinoma antigen (KS 1/4), ovarian carcinoma antigen (CA125), prostate specific antigen (PSA), carcinoembryonic antigen (CEA), CD 19, CD20, HER2/neu, etc.).

The methods and compositions disclosed herein are useful in the treatment or prevention of a variety of cancers or other abnormal proliferative diseases, including (but not limited to) the following: carcinoma, including that of the bladder, breast, colon, kidney, liver, lung, ovary, pancreas, stomach, cervix, thyroid and skin; including squamous cell carcinoma; hematopoietic tumors of lymphoid lineage, including leukemia, acute lymphocytic leukemia, acute lymphoblastic leukemia, B-cell lymphoma, T-cell lymphoma, Berketts lymphoma; hematopoietic tumors of myeloid lineage, including acute and chronic myelogenous leukemias and promyelocytic leukemia; tumors of mesenchymal origin, including fibrosarcoma and rhabdomyoscarcoma; other tumors, including melanoma, seminoma, tetratocarcinoma, neuroblastoma and glioma; tumors of the central and peripheral nervous system, including astrocytoma, neuroblastoma, glioma, and schwannomas; tumors of mesenchymal origin, including fibrosarcoma, rhabdomyoscarama, and osteosarcoma; and other tumors, including melanoma, xenoderma pegmentosum, keratoactanthoma, seminoma, thyroid follicular cancer and teratocarcinoma.

Cancers caused by aberrations in apoptosis can also be treated by the disclosed methods and compositions. Such cancers may include, but are not be limited to, follicular lymphomas, carcinomas with p53 mutations, hormone dependent tumors of the breast, prostate and ovary, and precancerous lesions such as familial adenomatous polyposis, and myelodysplastic syndromes. In specific embodiments, malignancy or dysproliferative changes (such as metaplasias and dysplasias), or hyperproliferative disorders, are treated or prevented by the methods and compositions in the ovary, bladder, breast, colon, lung, skin, pancreas, or uterus. In other specific embodiments, sarcoma, melanoma, or leukemia is treated or prevented by the methods and compositions.

The disclosed compositions and methods are particularly useful for the treatment of cancers that are associated with cells that express abnormally high levels of B7-H4.

Specific cancers and related disorders that can be treated or prevented by methods and compositions disclosed herein include, but are not limited to, leukemias including, but not

limited to, acute leukemia, acute lymphocytic leukemia, acute myelocytic leukemias such as myeloblastic, promyelocytic, myelomonocytic, monocytic, erythroleukemia leukemias and myelodysplastic syndrome, chronic leukemias such as but not limited to, chronic myelocytic (granulocytic) leukemia, chronic lymphocytic leukemia, hairy cell leukemia; polycythemia vera; lymphomas such as, but not limited to, Hodgkin's disease or non-Hodgkin's disease lymphomas (e.g., diffuse anaplastic lymphoma kinase (ALK) negative, large B-cell lymphoma (DLBCL); diffuse anaplastic lymphoma kinase (ALK) positive, large B-cell lymphoma (DLBCL); anaplastic lymphoma kinase (ALK) positive, ALK+ anaplastic large-cell lymphoma (ALCL), acute myeloid lymphoma (AML)); multiple myelomas such as, but not limited to, smoldering multiple myeloma, nonsecretory myeloma, osteosclerotic myeloma, plasma cell leukemia, solitary plasmacytoma and extramedullary plasmacytoma; Waldenstrom's macroglobulinemia; monoclonal gammopathy of undetermined significance; benign monoclonal gammopathy; heavy chain disease; bone and connective tissue sarcomas such as, but not limited to, bone sarcoma, osteosarcoma, chondrosarcoma, Ewing's sarcoma, malignant giant cell tumor, fibrosarcoma of bone, chordoma, periosteal sarcoma, soft-tissue sarcomas, angiosarcoma (hemangiosarcoma), fibrosarcoma, Kaposi's sarcoma, leiomyosarcoma, liposarcoma, lymphangiosarcoma, neurilemmoma, rhabdomyosarcoma, synovial sarcoma; brain tumors including but not limited to, glioma, astrocytoma, brain stem glioma, ependymoma, oligodendroglioma, nonglial tumor, acoustic neurinoma, craniopharyngioma, medulloblastoma, meningioma, pineocytoma, pineoblastoma, primary brain lymphoma; breast cancer including, but not limited to, adenocarcinoma, lobular (small cell) carcinoma, intraductal carcinoma, medullary breast cancer, mucinous breast cancer, tubular breast cancer, papillary breast cancer, Paget's disease, and inflammatory breast cancer; adrenal cancer, including but not limited to, pheochromocytom and adrenocortical carcinoma; thyroid cancer such as but not limited to papillary or follicular thyroid cancer, medullary thyroid cancer and anaplastic thyroid cancer; pancreatic cancer, including but not limited to, insulinoma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma, somatostatin-secreting tumor, and carcinoid or islet cell tumor; pituitary cancers including but not limited to, Cushing's disease, prolactin-secreting tumor, acromegaly, and diabetes insipius; eye cancers including, but not limited to, ocular melanoma such as iris melanoma, choroidal melanoma, and ciliary body melanoma, and retinoblastoma; vaginal cancers, including, but not limited to, squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and melanoma; vulvar cancer, including but not limited to,

squamous cell carcinoma, melanoma, adenocarcinoma, basal cell carcinoma, sarcoma, and Paget's disease; cervical cancers including, but not limited to, squamous cell carcinoma, and adenocarcinoma; uterine cancers including, but not limited to, endometrial carcinoma and uterine sarcoma; ovarian cancers including, but not limited to, ovarian epithelial carcinoma, borderline tumor, germ cell tumor, and stromal tumor; esophageal cancers including, but not limited to, squamous cancer, adenocarcinoma, adenoid cystic carcinoma, mucoepidermoid carcinoma, adenosquamous carcinoma, sarcoma, melanoma, plasmacytoma, verrucous carcinoma, and oat cell (small cell) carcinoma; stomach cancers including, but not limited to, adenocarcinoma, fungating (polypoid), ulcerating, superficial spreading, diffusely spreading, malignant lymphoma, liposarcoma, fibrosarcoma, and carcinosarcoma; colon cancers; rectal cancers; liver cancers including, but not limited to, hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma, gallbladder cancers including, but not limited to, adenocarcinoma; cholangiocarcinomas including, but not limited to, papillary, nodular, and diffuse; lung cancers including but not limited to, non-small cell lung cancer, squamous cell carcinoma (epidermoid carcinoma), adenocarcinoma, large-cell carcinoma and small-cell lung cancer; testicular cancers including, but not limited to, germinal tumor, seminoma, anaplastic, classic (typical), spermatocytic, nonseminoma, embryonal carcinoma, teratoma carcinoma, choriocarcinoma (yolk-sac tumor), prostate cancers including, but not limited to, adenocarcinoma, leiomyosarcoma, and rhabdomyosarcoma; penal cancers; oral cancers including, but not limited to, squamous cell carcinoma; basal cancers; salivary gland cancers including, but not limited to, adenocarcinoma, mucoepidermoid carcinoma, and adenoidcystic carcinoma; pharynx cancers including, but not limited to, squamous cell cancer, and verrucous; skin cancers including, but not limited to, basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma and melanoma, superficial spreading melanoma, nodular melanoma, lentigo malignant melanoma, acral lentiginous melanoma; kidney cancers including, but not limited to, renal cell cancer, adenocarcinoma, hypernephroma, fibrosarcoma, transitional cell cancer (renal pelvis and/or uterer); Wilms' tumor; bladder cancers including, but not limited to, transitional cell carcinoma, squamous cell cancer, adenocarcinoma, carcinosarcoma. In addition, cancers include myxosarcoma, osteogenic sarcoma, endotheliosarcoma, lymphangioendotheliosarcoma, mesothelioma, synovioma, hemangioblastoma, epithelial carcinoma, cystadenocarcinoma, bronchogenic carcinoma, sweat gland carcinoma, sebaceous gland carcinoma, papillary carcinoma and papillary adenocarcinomas (for a review of such disorders, see Fishman et al.,

1985, Medicine, 2d Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia and Murphy et al., 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., United States of America).

b. Treatment of Infections

The disclosed compositions and methods can be used to treat infections and infectious diseases. Generally, the agents are used to stimulate or enhance an immune response to infection causing agent in the subject by administering to the subject an amount of an immunomodulatory agent that reduces B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof. The method can reduce one or more symptoms of the infection.

Neutrophils are a major component of the host innate defense against infection and also contribute to autoimmune pathogenesis and chronic inflammation. During infection, neutrophils rapidly migrate to sites of inflammation, become activated, and initiate a cascade of defense mechanisms including phagocytosis, killing, and degradation of microorganisms by antimicrobial and proteolytic proteins, along with the generation of reactive oxygen species. Neutrophils also participate in tissue breakdown, remodeling, wound healing, and modulation of other inflammatory and adaptive immune components. Due to their short life span, neutrophils have to be resupplied continuously during infection and inflammation by expansion from myeloid progenitor cells in the bone marrow. In vitro B7-H4 inhibits the growth of bone marrow-derived neutrophil progenitors, suggesting an inhibitory function of B7-H4 in neutrophil expansion (Zhu, G. et al., Blood, 113:1759-1767 (2009)).

One embodiment provides a method for treating infection in a subject in need thereof by administering an effective amount of an agent that inhibits or blocks B7-H4 suppressive immune response in an amount effective to expand neutrophils and/or increase innate immunity.

The infection or disease can be caused by a bacterium, virus, protozoan, helminth, or other microbial pathogen that enters intracellularly and is attacked, *i.e.,* by cytotoxic T lymphocytes.

The infection or disease can be acute or chronic. An acute infection is typically an infection of short duration. During an acute microbial infection, immune cells begin expressing immunomodulatory receptors. Accordingly, in some embodiments, the method includes increasing an immune stimulatory response against an acute infection.

The infection can be caused by, for example, but not limited to *Candida albicans*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* or *Mycobacterium*.

In some embodiments, the disclosed compositions are used to treat chronic infections, for example infections in which T cell exhaustion or T cell anergy has occurred causing the infection to remain with the host over a prolonged period of time.

Exemplary infections to be treated are chronic infections cause by a hepatitis virus, a human immunodeficiency virus (HIV), a human T-lymphotrophic virus (HTLV), a herpes virus, an Epstein-Barr virus, or a human papilloma virus.

Because viral infections are cleared primarily by T cells, an increase in T-cell activity would be therapeutically useful in situations where more rapid or thorough clearance of an infective viral agent would be beneficial to an animal or human subject. Thus, the disclosed compositions can be administered for the treatment of local or systemic viral infections, including, but not limited to, immunodeficiency (*e.g.*, HIV), papilloma *(e.g,* HPV), herpes *(e.g,* HSV), encephalitis, influenza *(e.g,* human influenza virus A), and common cold *(e.g,* human rhinovirus) and other viral infections, caused by, for example, HTLV, hepatitis virus, respiratory syncytial virus, vaccinia virus, and rabies virus. The molecules can be administered topically to treat viral skin diseases such as herpes lesions or shingles, or genital warts. The molecules can also be administered systemically to treat systemic viral diseases, including, but not limited to, AIDS, influenza, the common cold, or encephalitis.

Representative infections that can be treated, include but are not limited to infections cause by microorganisms including, but not limited to, *Actinomyces, Anabaena, Bacillus, Bacteroides, Bdellovibrio, Bordetella, Borrelia, Campylobacter, Caulobacter, Chlamydia, Chlorobium, Chromatium, Clostridium, Corynebacterium, Cytophaga, Deinococcus, Escherichia, Francisella, Halobacterium, Heliobacter, Haemophilus, Hemophilus influenza type B (HIB), Hyphomicrobium, Legionella, Leptspirosis, Listeria, Meningococcus A, B and C, Methanobacterium, Micrococcus, Myobacterium, Mycoplasma, Myxococcus, Neisseria, Nitrobacter, Oscillatoria, Prochloron, Proteus, Pseudomonas, Phodospirillum, Rickettsia, Salmonella, Shigella, Spirillum, Spirochaeta, Staphylococcus, Streptococcus, Streptomyces, Sulfolobus, Thermoplasma, Thiobacillus, and Treponema, Vibrio, Yersinia, Cryptococcus*

neoformans, Histoplasma capsulatum, Candida albicans, Candida tropicalis, Nocardia asteroides, Rickettsia ricketsii, Rickettsia typhi, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydial psittaci, Chlamydial trachomatis, Plasmodium falciparum, Trypanosoma brucei, Entamoeba histolytica, Toxoplasma gondii, Trichomonas vaginalis and *Schistosoma mansoni.*

Other microorganisms that can be treated using the disclosed compositions and methods include, bacteria, such as those of *Klebsiella, Serratia, Pasteurella;* pathogens associated with cholera, tetanus, botulism, anthrax, plague, and Lyme disease; or fungal or parasitic pathogens, such as *Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.), Cryptococcus, Aspergillus (fumigatus, niger, etc.), Genus Mucorales (mucor, absidia, rhizophus), Sporothrix (schenkii), Blastomyces (dermatitidis), Paracoccidioides (brasiliensis), Coccidioides (immitis) and Histoplasma (capsulatuma), Entamoeba, histolytica, Balantidium coli, Naegleria fowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lambia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Toxoplasma gondi, etc.), Sporothrix, Blastomyces, Paracoccidioides, Coccidioides, Histoplasma, Entamoeba, Histolytica, Balantidium, Naegleria, Acanthamoeba, Giardia, Cryptosporidium, Pneumocystis, Plasmodium, Babesia, or Trypanosoma*, etc.

B. Immune Response Inhibition

1. Therapeutic Strategies

Methods of reducing or inhibiting an immune response in a subject are provided. Typically the methods include administering a subject an effective amount of immunomodulatory agent, or cells primed *ex vivo* with the immunomodulatory agent. The immune response can be, for example, a primary immune response to an antigen or an increase effector cell function such as increasing antigen-specific proliferation of T cells, enhancing cytokine production by T cells, stimulating differentiation, or a combination thereof. Thus in some embodiments, the agent reduces T cell proliferation, T cell cytokine production, T cell differentiation, or a combination thereof. In some embodiments, the agent can reduce the development of naive T cells into Thl, Thl7, Th22, or other cells that secrete, or cause other cells to secrete, inflammatory molecules, including, but not limited to, IL-1β, TNF-α, TGF-beta, IFN-γ, IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21, and MMPs. In some embodiments, the agent can increase or promote the activity of Tregs, increase the production of cytokines such as IL-10 from

Tregs, increase the differentiation of Tregs, increase the number of Tregs, increase the ratio of Tregs within an immune cell population, or increase the survival of Tregs.

The methods can be used *in vivo* or *ex vivo* as immune response-inhibiting therapeutic applications. Thus in some embodiments, the agent, or nucleic acid encoding the agent, is administered directly to the subject. In some embodiments, the agent or nucleic acid encoding the agent, is contacted with cells (e.g., immune cells) ex vivo, and the treat cells are administered to the subject (e.g. adoptive transfer). In general, the disclosed immunomodulatory agents can be used for treating a subject having or being predisposed to any disease or disorder to which the subject's immune system mounts an overactive or inappropriate immune response. The agents can enable a less robust immune response to be possible. The disclosed compositions are useful to reduce or inhibit immune responses involving T cells.

The immunomodulatory agents utilized for reducing an immune response are typically those that increase B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof. For example, the agent can be an agonist of B7-H4, such as an agonist (stimulating) anti- B7-H4 antibody or antigen binding fragment thereof.

a. Inflammatory Responses

The disclosed compositions and methods can be used to treat inflammation. Generally, the agents are used to reduce or inhibit an immune response in the subject by administering to the subject an amount of an immunomodulatory agent that increases B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof. The method can reduce or more symptoms of the inflammation. In inflammation can be acute, chronic, or persistent inflammation.

In some embodiments, the immunomodulatory agents slow down the immune system. For example, agent can be used to control hyper-inflammatory response causing damage healthy tissues. Accordingly, in some embodiments, the agents are administered to a subject undergoing a hyper-inflammatory response. In such cases, controlling excessive immune responses can be beneficial to the subject.

b. Inflammatory and Autoimmune Diseases/disorders

Agents that increase B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof can also be used to treat inflammatory or autoimmune diseases and disorders. Representative inflammatory or autoimmune diseases/disorders include, but are not

limited to, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, alopecia areata, ankylosing spondylitis, antiphospholipid syndrome, autoimmune Addison's disease, autoimmune hemolytic anemia, autoimmune hepatitis, autoimmune inner ear disease, autoimmune lymphoproliferative syndrome (alps), autoimmune thrombocytopenic purpura (ATP), Behcet's disease, bullous pemphigoid, cardiomyopathy, celiac sprue-dermatitis, chronic fatigue syndrome immune deficiency, syndrome (CFIDS), chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, cicatricial pemphigoid, cold agglutinin disease, Crest syndrome, Crohn's disease, Dego's disease, dermatomyositis, dermatomyositis -juvenile, discoid lupus, essential mixed cryoglobulinemia, fibromyalgia - fibromyositis, grave's disease, guillain-barre, hashimoto's thyroiditis, idiopathic pulmonary fibrosis, idiopathic thrombocytopenia purpura (ITP), Iga nephropathy, insulin dependent diabetes (Type I), juvenile arthritis, Meniere's disease, mixed connective tissue disease, multiple sclerosis, myasthenia gravis, pemphigus vulgaris, pernicious anemia, polyarteritis nodosa, polychondritis, polyglancular syndromes, polymyalgia rheumatica, polymyositis and dermatomyositis, primary agammaglobulinemia, primary biliary cirrhosis, psoriasis, Raynaud's phenomenon, Reiter's syndrome, rheumatic fever, sarcoidosis, scleroderma, Sjogren's syndrome, stiff-man syndrome, Takayasu arteritis, temporal arteritis/giant cell arteritis, ulcerative colitis, uveitis, vasculitis, vitiligo, and Wegener's granulomatosis.

In some embodiments the inflammation or autoimmune disease is caused by a pathogen, or is the result of an infection.

VI. Combination Therapies

The disclosed immunomodulatory agents can be administered to a subject in need thereof alone or in combination with one or more additional therapeutic agents. In some embodiments, the immunomodulatory agent and the additional therapeutic agent are administered separately, but simultaneously. The immunomodulatory agent and the additional therapeutic agent can also be administered as part of the same composition. In other embodiments, the immunomodulatory agent and the second therapeutic agent are administered separately and at different times, but as part of the same treatment regime.

The subject can be administered a first therapeutic agent 1, 2, 3, 4, 5, 6, or more hours, or 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, or more days before administration of a second therapeutic agent. In some embodiments, the subject can be administered one or more doses of the first agent every 1, 2, 3,

4, 5, 6 7, 14, 21, 28, 35, or 48 days prior to a first administration of second agent. The immunomodulatory agent can be the first or the second therapeutic agent.

The immunomodulatory agent and the additional therapeutic agent can be administered as part of a therapeutic regimen. For example, if a first therapeutic agent can be administered to a subject every fourth day, the second therapeutic agent can be administered on the first, second, third, or fourth day, or combinations thereof. The first therapeutic agent or second therapeutic agent may be repeatedly administered throughout the entire treatment regimen.

Exemplary molecules include, but are not limited to, cytokines, chemotherapeutic agents, radionuclides, other immunotherapeutics, enzymes, antibiotics, antivirals (especially protease inhibitors alone or in combination with nucleosides for treatment of HIV or Hepatitis B or C), anti-parasites (helminths, protozoans), growth factors, growth inhibitors, hormones, hormone antagonists, antibodies and bioactive fragments thereof (including humanized, single chain, and chimeric antibodies), antigen and vaccine formulations (including adjuvants), peptide drugs, anti-inflammatories, ligands that bind to Toll-Like Receptors (including but not limited to CpG oligonucleotides) to activate the innate immune system, molecules that mobilize and optimize the adaptive immune system, other molecules that activate or up-regulate the action of cytotoxic T lymphocytes, natural killer cells and helper T-cells, and other molecules that deactivate or down-regulate suppressor or regulatory T-cells.

The additional therapeutic agents are selected based on the condition, disorder or disease to be treated. For example, the immunomodulatory agent can be co-administered with one or more additional agents that function to enhance or promote an immune response or reduce or inhibit an immune response.

A. Increasing Immune Responses

1. Antimicrobials

For example, a B7-H4 immunomodulatory agent can be used in a preventive or prophylactic role in the treatment and prevention of disease as discussed above, and also in the context of severe trauma injuries like major burn, open bone fracture, accidental amputation or other wounds. Therefore, the B7-H4 immunomodulatory agents can be administered to the subject in combination with an antimicrobial such as an antibiotic, an antifungal, an antiviral, an antiparasitics, or essential oil.

In some embodiments, the subject is administered the B7-H4 immunomodulatory agent and/or the antimicrobial at time of admission to the hospital to prevent further bacterial, fungal or viral complications. The antibiotic can target pathogens and the B7-H4 immunomodulatory agent can stimulate the immune system to provide an enhanced response to treat or prevent further infection or disease.

2. Chemotherapeutic Agents

The B7-H4 immunomodulatory agents can be combined with one or more chemotherapeutic agents and pro-apoptotic agents. Representative chemotherapeutic agents include, but are not limited to amsacrine, bleomycin, busulfan, capecitabine, carboplatin, carmustine, chlorambucil, cisplatin, cladribine, clofarabine, crisantaspase, cyclophosphamide, cytarabine, dacarbazine, dactinomycin, daunorubicin, docetaxel, doxorubicin, epirubicin, etoposide, fludarabine, fluorouracil, gemcitabine, hydroxycarbamide, idarubicin, ifosfamide, irinotecan, leucovorin, liposomal doxorubicin, liposomal daunorubicin, lomustine, melphalan, mercaptopurine, mesna, methotrexate, mitomycin, mitoxantrone, oxaliplatin, paclitaxel, pemetrexed, pentostatin, procarbazine, raltitrexed, satraplatin, streptozocin, tegafur-uracil, temozolomide, teniposide, thiotepa, tioguanine, topotecan, treosulfan, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine, or a combination thereof. Representative pro-apoptotic agents include, but are not limited to fludarabinetaurosporine, cycloheximide, actinomycin D, lactosylceramide, l5d-PGJ(2) and combinations thereof.

3. Other Immunomodulators

a. PD-1 antagonists

In some embodiments, B7-H4 immunomodulatory agents are co-administered with a PD-1 antagonist. Programmed Death-l (PD-l) is a member of the CD28 family of receptors that delivers a negative immune response when induced on T cells. Contact between PD-l and one of its ligands (B7-H1 or B7-DC) induces an inhibitory response that decreases T cell multiplication and/or the strength and/or duration of a T cell response. Suitable PD-l antagonists are described in U.S. Patent Nos. 8,1 14,845, 8,609,089, and 8,709,416, which are specifically incorporated by reference herein in their entities, and include compounds or agents that either bind to and block a ligand of PD-l to interfere with or inhibit the binding of the ligand to the PD-1 receptor, or bind directly to and block the PD-l receptor without inducing inhibitory signal transduction through the PD-l receptor.

In some embodiments, the PD-l receptor antagonist binds directly to the PD-l receptor without triggering inhibitory signal transduction and also binds to a ligand of the PD-l receptor to reduce or inhibit the ligand from triggering signal transduction through the PD-l receptor. By reducing the number and/or amount of ligands that bind to PD-l receptor and trigger the transduction of an inhibitory signal, fewer cells are attenuated by the negative signal delivered by PD-l signal transduction and a more robust immune response can be achieved.

It is believed that PD-l signaling is driven by binding to a PD-l ligand (such as B7-H1 or B7-DC) in close proximity to a peptide antigen presented by major histocompatibility complex (MHC) (see, for example, Freeman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A,* 105:10275-10276 (2008)). Therefore, proteins, antibodies or small molecules that prevent co-ligation of PD-l and TCR on the T cell membrane are also useful PD-l antagonists.

In some embodiments, the PD-l receptor antagonists are small molecule antagonists or antibodies that reduce or interfere with PD-l receptor signal transduction by binding to ligands of PD-l or to PD-l itself, especially where co-ligation of PD-l with TCR does not follow such binding, thereby not triggering inhibitory signal transduction through the PD-l receptor. Other PD-l antagonists contemplated by the methods of this invention include antibodies that bind to PD-l or ligands of PD-l, and other antibodies.

Suitable anti-PD-l antibodies include, but are not limited to, those described in the following publications:

PCT/IL03/00425 (Hardy et al., WO/2003/099196)

PCT/JP2006/3 09606 (Korman et al., WO/2006/121 168)

PCT/US2008/008925 (Li et al., WO/2009/0 14708)

PCT/JP03/08420 (Honjo et al., WO/2004/00477 1)

PCT/JP04/00549 (Honjo et al., WO/2004/072286)

PCT/IB2003/006304 (Collins et al., WO/2004/056875)

PCT/US2007/08885 1 (Ahmed et al., WO/2008/083 174)

PCT/US2006/026046 (Korman et al., WO/2007/005874)

PCT/US2008/084923 (Terrett et al., WO/2009/073533)

Berger et al., *Clin. Cancer Res.,* 14:30443051 (2008).

A specific example of an anti-PD-l antibody is an antibody described in Kosak, US 20070166281 (pub. 19 July 2007) at par. 42), a human anti-PD-l antibody, which in some embodiments is administered at a dose of 3 mg/kg.

Exemplary anti-B7-Hl antibodies include, but are not limited to, those described in the following publications:

PCT/US06/022423 (WO/2006/1 33396, pub. 14 December 2006)

PCT/US07/088851 (WO/2008/083 174, pub. 10 July 2008)

US 2006/01 10383 (pub. 25 May 2006)

A specific example of an anti-B7-Hl antibody is an antibody described (WO/2007/005874, published 11 January 2007)), a human anti-B7-Hl antibody.

Additional anti-PD-l and anti-B7-Hl antibodies are disclosed in 2014/0044738, which is specifically incorporated by reference herein in its entirety.

For anti-B7-DC antibodies see 7,41 1,051, 7,052,694, 7,390,888, and U.S. Published Application No. 2006/0099203.

Other exemplary PD-l receptor antagonists include, but are not limited to B7-DC polypeptides, including homologs and variants of these, as well as active fragments of any of the foregoing, and fusion proteins that incorporate any of these. In some embodiments, the fusion protein includes the soluble portion of B7-DC coupled to the Fc portion of an antibody, such as human IgG, and does not incorporate all or part of the transmembrane portion of human B7-DC.

The PD-l antagonist can also be a fragment of a mammalian B7-H1, for example from mouse or primate, such as a human, wherein the fragment binds to and blocks PD-l but does not result in inhibitory signal transduction through PD-l. The fragments can also be part of a fusion protein, for example an Ig fusion protein.

Other useful polypeptides PD-l antagonists include those that bind to the ligands of the PD-l receptor. These include the PD-l receptor protein, or soluble fragments thereof, which can bind to the PD-l ligands, such as B7-H1 or B7-DC, and prevent binding to the endogenous PD-l receptor, thereby preventing inhibitory signal transduction. B7-H1 has also been shown to bind the protein B7. 1 (Butte et al., *Immunity*, Vol. 27, pp. 111-122, (2007)). Such fragments also include the soluble ECD portion of the PD-l protein that includes mutations, such as the A99L mutation, that increases binding to the natural ligands (Molnar et al., *PNAS*, 105: 10483-10488 (2008)). B7-1 or soluble fragments thereof, which can bind to the B7-H1 ligand and prevent

binding to the endogenous PD-l receptor, thereby preventing inhibitory signal transduction, are also useful.

PD-l and B7-H1 anti-sense nucleic acids, both DNA and RNA, as well as siRNA molecules can also be PD-l antagonists. Such anti-sense molecules prevent expression of PD-l on T cells as well as production of T cell ligands, such as B7-H1, PD-L1 and/or PD-L2. For example, siRNA (for example, of about 21 nucleotides in length, which is specific for the gene encoding PD-l, or encoding a PD-l ligand, and which oligonucleotides can be readily purchased commercially) complexed with carriers, such as polyethyleneimine (see Cubillos-Ruiz et al., J. Clin. Invest. 119(8): 2231-2244 (2009), are readily taken up by cells that express PD-l as well as ligands of PD-l and reduce expression of these receptors and ligands to achieve a decrease in inhibitory signal transduction in T cells, thereby activating T cells.

b. CTLA4 antagonists

Other molecules useful in mediating the effects of T cells in an immune response are also contemplated as additional therapeutic agents. In some embodiments, the molecule is an antagonist of CTLA4, for example an antagonistic anti-CTLA4 antibody. An example of an anti-CTLA4 antibody contemplated for use in the methods of the invention includes an antibody as described in PCT/US2006/043690 (Fischkoff et al., WO/2007/056539).

Dosages for anti-PD-l, anti-B7-Hl, and anti-CTLA4 antibody, are known in the art and can be in the range of, for example, 0.1 to 100 mg/kg, or with shorter ranges of 1 to 50 mg/kg, or 10 to 20 mg/kg. An appropriate dose for a human subject can be between 5 and 15 mg/kg, with 10 mg/kg of antibody (for example, human anti-PD-l antibody) being a specific embodiment.

Specific examples of an anti-CTLA4 antibody useful in the methods of the invention are Ipilimumab, a human anti-CTLA4 antibody, administered at a dose of, for example, about 10 mg/kg, and Tremelimumab a human anti-CTLA4 antibody, administered at a dose of, for example, about 15 mg/kg. See also Sammartino, et al., *Clinical Kidney Journal,* 3(2): 135-137 (2010), published online December 2009.

In other embodiments, the antagonist is a small molecule. A series of small organic compounds have been shown to bind to the B7-1 ligand to prevent binding to CTLA4 (see Erbe et al., *J. Biol. Chem.*, 277:7363-7368 (2002). Such small organics could be administered alone or together with an anti-CTLA4 antibody to reduce inhibitory signal transduction of T cells.

4. Potentiating Agents

In some embodiments, additional therapeutic agents include a potentiating agent. The potentiating agent acts to increase efficacy the immune response up-regulator, possibly by more than one mechanism, although the precise mechanism of action is not essential to the broad practice of the present invention.

In some embodiments, the potentiating agent is cyclophosphamide. Cyclophosphamide (CTX, Cytoxan®, or Neosar®) is an oxazahosphorine drug and analogs include ifosfamide (IFO, Ifex), perfosfamide, trophosphamide (trofosfamide; Ixoten), and pharmaceutically acceptable salts, solvates, prodrugs and metabolites thereof (US patent application 20070202077 which is incorporated in its entirety). Ifosfamide (MITOXANA®) is a structural analog of cyclophosphamide and its mechanism of action is considered to be identical or substantially similar to that of cyclophosphamide. Perfosfamide (4-hydroperoxy cyclophosphamide) and trophosphamide are also alkylating agents, which are structurally related to cyclophosphamide. For example, perfosfamide alkylates DNA, thereby inhibiting DNA replication and RNA and protein synthesis. New oxazaphosphorines derivatives have been designed and evaluated with an attempt to improve the selectivity and response with reduced host toxicity (Liang J, Huang M, Duan W, Yu XQ, Zhou S. Design of new oxazaphosphorine anticancer drugs. Curr Pharm Des. 2007;l3(9):963-78. Review). These include mafosfamide (NSC 345842), glufosfamide (D19575, beta-D-glucosylisophosphoramide mustard), S-(-)-bromofosfamide (CBM-l l), NSC 612567 (aldophosphamide perhydrothiazine) and NSC 613060 (aldophosphamide thiazolidine). Mafosfamide is an oxazaphosphorine analog that is a chemically stable 4-thioethane sulfonic acid salt of 4-hydroxy-CPA. Glufosfamide is IFO derivative in which the isophosphoramide mustard, the alkylating metabolite of IFO, is glycosidically linked to a beta-D-glucose molecule. Additional cyclophosphamide analogs are described in US patent 5,190,929 entitled "Cyclophosphamide analogs useful as anti-tumor agents" which is incorporated herein by reference in its entirety.

While CTX itself is nontoxic, some of its metabolites are cytotoxic alkylating agents that induce DNA crosslinking and, at higher doses, strand breaks. Many cells are resistant to CTX because they express high levels of the detoxifying enzyme aldehyde dehydrogenase (ALDH). CTX targets proliferating lymphocytes, as lymphocytes (but not hematopoietic stem cells) express only low levels of ALDH, and cycling cells are most sensitive to DNA alkylation agents.

Low doses of CTX (< 200 mg/kg) can have immune stimulatory effects, including stimulation of anti-tumor immune responses in humans and mouse models of cancer (Brode & Cooke *Crit Rev. Immunol.* 28:109-126 (2008)). These low doses are sub-therapeutic and do not have a direct anti-tumor activity. In contrast, high doses of CTX inhibit the anti-tumor response. Several mechanisms may explain the role of CTX in potentiation of anti-tumor immune response: (a) depletion of CD4+CD25+FoxP3+ Treg (and specifically proliferating Treg, which may be especially suppressive), (b) depletion of B lymphocytes; (c) induction of nitric oxide (NO), resulting in suppression of tumor cell growth; (d) mobilization and expansion of CD1 lb+Gr-l+ MDSC. These primary effects have numerous secondary effects; for example following Treg depletion macrophages produce more IFN-γ and less IL-10. CTX has also been shown to induce type I IFN expression and promote homeostatic proliferation of lymphocytes.

Treg depletion is most often cited as the mechanism by which CTX potentiates the anti-tumor immune response. This conclusion is based in part by the results of adoptive transfer experiments. In the AB1-HA tumor model, CTX treatment at Day 9 gives a 75% cure rate. Transfer of purified Treg at Day 12 almost completely inhibited the CTX response (van der Most et al. *Cancer Immunol. Immunother.* 58:1219-1228 (2009). A similar result was observed in the HHD2 tumor model: adoptive transfer of CD4+CD25+ Treg after CTX pretreatment eliminated therapeutic response to vaccine (Taieb, J. *J. Immunol.* 176:2722-2729 (2006)).

Numerous human clinical trials have demonstrated that low dose CTX is a safe, well-tolerated, and effective agent for promoting anti-tumor immune responses (Bas, & Mastrangelo *Cancer Immunol. Immunother.* 47:1-12 (1998)).

The optimal dose for CTX to potentiate an anti-tumor immune response, is one that lowers overall T cell counts by lowering Treg levels below the normal range but is subtherapeutic (see Machiels et al. Cancer Res. 61:3689-3697 (2001)).

In human clinical trials where CTX has been used as an immunopotentiating agent, a dose of 300 mg/m^2 has usually been used. For an average male (6 ft, 170 pound (78 kg) with a body surface area of 1.98 m^2), 300 mg/m^2 is 8 mg/kg, or 624 mg of total protein. In mouse models of cancer, efficacy has been seen at doses ranging from 15 - 150 mg/kg, which relates to 0.45 - 4.5 mg of total protein in a 30g mouse (Machiels et al. *Cancer Res.* 61:3689-3697 (2001), Hengst et al *Cancer Res.* 41:2163-2167 (1981), Hengst *Cancer Res.* 40:2135-2141 (1980)).

For larger mammals, such as a primate, such as a human, patient, such mg/m^2 doses may be used but unit doses administered over a finite time interval may also be used. Such unit doses may be administered on a daily basis for a finite time period, such as up to 3 days, or up to 5 days, or up to 7 days, or up to 10 days, or up to 15 days or up to 20 days or up to 25 days, are all specifically contemplated by the invention. The same regimen may be applied for the other potentiating agents recited herein.

In other embodiments, the potentiating agent is an agent that reduces activity and/or number of regulatory T lymphocytes (T-regs), such as Sunitinib (SUTENT ®), anti-TGFp or Imatinib (GLEEVAC ®). The recited treatment regimen may also include administering an adjuvant.

ETseful potentiating agents also include mitosis inhibitors, such as paclitaxol, aromatase inhibitors (e.g. Letrozole) and angiogenesis inhibitors (VEGF inhibitors e.g. Avastin, VEGF-Trap) (see, for example, Li et al., Vascular endothelial growth factor blockade reduces intratumoral regulatory T cells and enhances the efficacy of a GM-CSF-secreting cancer immunotherapy. Clin Cancer Res. 2006 Nov 15; 12(22):6808-16.), anthracyclines, oxaliplatin, doxorubicin, TLR4 antagonists, and IL-18 antagonists.

B. Reducing Immune Responses

1. Immunosuppressive Agents

In some embodiments, the immune response, or inflammatory/autoimmune disease/disorder is treated by administering to the subject a B7-H4 immunomodulatory agent and a second agent that is an immune suppressant. Immunosuppressive agents include, but are not limited to antibodies against other lymphocyte surface markers *(e.g.,* CD40, alpha-4 integrin) or against cytokines), fusion proteins *(e.g,* CTLA-4-Ig (Orencia®), TNFR-Ig (Enbrel®)), TNF-a blockers such as Enbrel, Remicade, Cimzia and Humira, cyclophosphamide (CTX) *(i.e.,* Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune™), methotrexate (MTX) *(i.e.,* Rheumatrex®, Trexall®), belimumab *(i.e.,* Benlysta®), or other immunosuppressive drugs *(e.g,* cyclosporin A, FK506-like compounds, rapamycin compounds, or steroids), anti-proliferatives, cytotoxic agents, or other compounds that may assist in immunosuppression.

The therapeutic agent can be a CTLA-4 fusion protein, such as CTLA-4-Ig (abatacept). CTLA-4-Ig fusion proteins compete with the co-stimulatory receptor, CD28, on T cells for binding to CD80/CD86 (B7-1/B7-2) on antigen presenting cells, and thus function to inhibit T

cell activation. In another embodiment, the therapeutic agent is a CTLA-4-Ig fusion protein known as belatacept. Belatacept contains two amino acid substitutions (L104E and A29Y) that markedly increase its avidity to CD86 *in vivo.* In another embodiment, the therapeutic agent is Maxy-4.

In another embodiment, the therapeutic agent is cyclophosphamide (CTX). Cyclophosphamide (the generic name for Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune™), also known as cytophosphane, is a nitrogen mustard alkylating agent from the oxazophorines group. It is used to treat various types of cancer and some autoimmune disorders. Cyclophosphamide (CTX) is the primary drug used for diffuse proliferative glomerulonephritis in patients with renal lupus.

The therapeutic agent can be administered in an effective amount to reduce the blood or serum levels of anti-double stranded DNA (anti-ds DNA) auto antibodies and/or to reduce proteinuria in a patient in need thereof.

In another embodiment, the therapeutic agent increases the amount of adenosine in the serum, see for example, WO 08/147482. For example, the second therapeutic agent can be CD73-Ig, recombinant CD73, or another agent *(e.g,* a cytokine or monoclonal antibody or small molecule) that increases the expression of CD73, see for example WO 04/084933. In another embodiment the therapeutic agent is Interferon-beta.

The therapeutic agent can be a small molecule that inhibits or reduces differentiation, proliferation, activity, and/or cytokine production and/or secretion by Thl, Thl7, Th22, and/or other cells that secrete, or cause other cells to secrete, inflammatory molecules, including, but not limited to, IL-lp, TNF-α, TGF-beta, IFN-γ, IL-18 IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21, and MMPs. In another embodiment, the therapeutic agent is a small molecule that interacts with Tregs, enhances Treg activity, promotes or enhances IL-10 secretion by Tregs, increases the number of Tregs, increases the suppressive capacity of Tregs, or combinations thereof.

In some embodiments, the composition increases Treg activity or production. Exemplary Treg enhancing agents include but are not limited to glucocorticoid fluticasone, salmeteroal, antibodies to IL-12, IFN-γ, and IL-4; vitamin D3, and dexamethasone, and combinations thereof.

In some embodiments, the therapeutic agent is an antibody, for example, a functions blocking antibody against a proinflammatory molecule such as IL-6, IL-23, IL-22 or IL-21.

As used herein the term "rapamycin compound" includes the neutral tricyclic compound rapamycin, rapamycin derivatives, rapamycin analogs, and other macrolide compounds which are thought to have the same mechanism of action as rapamycin (*e.g.*, inhibition of cytokine function). The language "rapamycin compounds" includes compounds with structural similarity to rapamycin, *e.g.,* compounds with a similar macrocyclic structure, which have been modified to enhance their therapeutic effectiveness. Exemplary Rapamycin compounds are known in the art *(See, e.g.* W095122972, WO 951 16691, WO 95104738, U.S. Patent No. 6,015,809; 5,989,591; U.S. Patent No. 5,567,709; 5,559,1 12; 5,530,006; 5,484,790; 5,385,908; 5,202,332; 5,162,333; 5,780,462; 5,120,727).

The language "FK506-like compounds" includes FK506, and FK506 derivatives and analogs, *e.g,* compounds with structural similarity to FK506, *e.g,* compounds with a similar macrocyclic structure which have been modified to enhance their therapeutic effectiveness. Examples of FK5064ike compounds include, for example, those described in WO 00101385. In some embodiments, the language "rapamycin compound" as used herein does not include FK506-like compounds.

2. Anti-inflammatories

Other suitable therapeutic agents include, but are not limited to, anti-inflammatory agents. The anti-inflammatory agent can be non-steroidal, steroidal, or a combination thereof. One embodiment provides oral compositions containing about 1% (w/w) to about 5% (w/w), typically about 2.5 % (w/w) or an anti-inflammatory agent. Representative examples of non-steroidal anti-inflammatory agents include, without limitation, oxicams, such as piroxicam, isoxicam, tenoxicam, sudoxicam; salicylates, such as aspirin, disalcid, benorylate, trilisate, safapryn, solprin, diflunisal, and fendosal; acetic acid derivatives, such as diclofenac, fenclofenac, indomethacin, sulindac, tolmetin, isoxepac, furofenac, tiopinac, zidometacin, acematacin, fentiazac, zomepirac, clindanac, oxepinac, felbinac, and ketorolac; fenamates, such as mefenamic, meclofenamic, flufenamic, niflumic, and tolfenamic acids; propionic acid derivatives, such as ibuprofen, naproxen, benoxaprofen, flurbiprofen, ketoprofen, fenoprofen, fenbufen, indopropfen, pirprofen, carprofen, oxaprozin, pranoprofen, miroprofen, tioxaprofen, suprofen, alminoprofen, and tiaprofenic; pyrazoles, such as phenylbutazone, oxyphenbutazone, feprazone, azapropazone, and trimethazone. Mixtures of these non-steroidal anti-inflammatory agents may also be employed.

Representative examples of steroidal anti-inflammatory drugs include, without limitation, corticosteroids such as hydrocortisone, hydroxyl-triamcinolone, alpha-methyl dexamethasone, dexamethasone-phosphate, beclomethasone dipropionates, clobetasol valerate, desonide, desoxymethasone, desoxycorticosterone acetate, dexamethasone, dichlorisone, diflorasone diacetate, diflucortolone valerate, fluadrenolone, fluclorolone acetonide, fludrocortisone, flumethasone pivalate, fluosinolone acetonide, fluocinonide, flucortine butylesters, fluocortolone, fluprednidene (fluprednylidene) acetate, flurandrenolone, halcinonide, hydrocortisone acetate, hydrocortisone butyrate, methylprednisolone, triamcinolone acetonide, cortisone, cortodoxone, flucetonide, fludrocortisone, difluorosone diacetate, fluradrenolone, fludrocortisone, diflurosone diacetate, fluradrenolone acetonide, medrysone, amcinafel, amcinafide, betamethasone and the balance of its esters, chloroprednisone, chlorprednisone acetate, clocortelone, clescinolone, dichlorisone, diflurprednate, flucloronide, flunisolide, fluoromethalone, fluperolone, fluprednisolone, hydrocortisone valerate, hydrocortisone cyclopentylpropionate, hydrocortamate, meprednisone, paramethasone, prednisolone, prednisone, beclomethasone dipropionate, triamcinolone, and mixtures thereof.

VII. Kits

The disclosed B7-H4 immunomodulatory agents can be packaged in a hermetically sealed container, such as an ampoule or sachette, indicating the quantity. The agent can be supplied as a dry sterilized lyophilized powder or water free concentrate in a hermetically sealed container and can be reconstituted, e.g., with water or saline to the appropriate concentration for administration to a subject. For example, the agent can be supplied as a dry sterile lyophilized powder in a hermetically sealed container at a unit dosage of at least 5 mg, or at least 10 mg, at least 15 mg, at least 25 mg, at least 35 mg, at least 45 mg, at least 50 mg, or at least 75 mg. The lyophilized agent can be stored at between 2 and 8°C in their original container and are typically administered within 12 hours, or within 6 hours, or within 5 hours, or within 3 hours, or within 1 hour after being reconstituted.

In an alternative embodiment, the agent can be supplied in liquid form in a hermetically sealed container indicating the quantity and concentration. In some embodiments, the liquid form of the agent can be supplied in a hermetically sealed container including at least 1 mg/ml, or at least 2.5 mg/ml, at least 5 mg/ml, at least 8 mg/ml, at least 10 mg/ml, at least 15 mg/ml, at least

25 mg/ml, at least 50 mg/ml, at least 100 mg/ml, at least 150 mg/ml, at least 200 mg/ml of the agent.

Pharmaceutical packs and kits including one or more containers filled with agent are also provided. Additionally, one or more other prophylactic or therapeutic agents useful for the treatment of a disease can also be included in the pharmaceutical pack or kit. The pharmaceutical pack or kit can also include one or more containers filled with one or more of the ingredients of the disclosed pharmaceutical compositions. Optionally associated with such container(s) can be a notice in the form prescribed by a governmental agency regulating the manufacture, use or sale of pharmaceuticals or biological products, which notice reflects approval by the agency of manufacture, use or sale for human administration.

Kits designed for the above-described methods are also provided. Embodiments typically include one or more B7-H4 immunomodulatory agents. In particular embodiments, a kit also includes one or more other prophylactic or therapeutic agents useful for the treatment of cancer, in one or more containers. In other embodiments, a kit also includes one or more anti-inflammatory agents useful for the treatment inflammatory and autoimmune diseases, in one or more containers.

Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the same meanings as commonly understood by one of skill in the art to which the disclosed invention belongs. Publications cited herein and the materials for which they are cited are specifically incorporated by reference.

Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents to the specific embodiments of the invention described herein. Such equivalents are intended to be encompassed by the following claims.

We claim:

1. A pharmaceutical composition comprising an effective amount of an immunomodulatory agent that reduces B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof selected from the group consisting of:

(i) a soluble B7-H4polypeptide or fusion protein,

(ii) a function blocking anti- B7-H4 antibody,

(iii) an antibody that depletes B7-H4 positive cells, and

(iv) combinations thereof;

to increase an immune response in a subject in need thereof.

2. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein the immunomodulatory agent is a B7-H4 fusion protein.

3. The pharmaceutical composition of claim 2, wherein the B7-H4 fusion protein comprises an extracellular domain of B7-H4 for functional variant thereof linked to an immunoglobulin domain.

4. The pharmaceutical composition of claim 3, wherein the B7-H4 fusion protein comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1 or a fragment thereof.

5. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein the immunomodulatory agent is a B7-H4 fusion protein.

6. The pharmaceutical composition of claim 5, wherein the B7-H4 fusion protein comprises an extracellular domain of B7-H4 or functional variant thereof linked to an immunoglobulin domain.

7. The pharmaceutical composition of claim 6, wherein the B7-H4 fusion protein comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO: 1 or a fragment thereof.

8. The pharmaceutical composition of claim 1, wherein the immunomodulatory agent is a soluble B7-H4 protein or a functional fragment or variant thereof.

9. The pharmaceutical composition of claim 8, wherein the B7-H4 protein consists of an extracellular domain of B7-H4 or a functional fragment or variant thereof

10. The pharmaceutical composition of an any one of claims 1-9, wherein the immune response is a primary immune response to an antigen or an increase effector cell function such as increasing antigen-specific proliferation of T cells, enhancing cytokine production by T cells, stimulating differentiation, or a combination thereof.

11. A method of increasing an immune response in a subject in need thereof comprising administering to the subject the pharmaceutical composition of any one of claims 1-10.

12. The method of claim 11, wherein the subject has cancer.

13. The method of claims 12, wherein the cancer is characterized by increased expression of B7-H4.

14. The method of claims 12 or 13, wherein the cancer is an ovarian, lung, or gastrointestinal cancer.

15. The method of claim 11, wherein the subject has an infectious disease.

16. The method of any one of claims 11-15, wherein the subject is administered the pharmaceutical composition contemporaneously with a vaccine or a component thereof.

17. The method of any one of claims 11-16, further comprising administering to the subject a second therapeutic agent.

18. A pharmaceutical composition comprising an effective amount of an immunomodulatory agent that increases B7-H4 expression, ligand binding, crosslinking, negative signaling, or a combination thereof selected from the group consisting of: a function activating anti- B7-H4 antibody, to decrease an immune response in a subject in need thereof.

19. The pharmaceutical composition of claim 18, wherein the immune response is a primary immune response to an antigen or an increase effector cell function such as increasing antigen-specific proliferation of T cells, enhancing cytokine production by T cells, stimulating differentiation, or a combination thereof.

20. A method of reducing an immune response in a subject in need thereof comprising administering to the subject the pharmaceutical composition of claim 18.

21. The method of claim 20, wherein the subject has inflammation.

22. The method of claim 20, wherein the subject has an autoimmune disorder.

23. The method of claim 22, wherein the autoimmune disorder is rheumatoid arthritis.

24. The method of any one of claims 20-23, wherein the subject or a disease or condition characterized reduced expression of B7-H4.

25. The method of any one of claims 20-23, further comprising administering to the subject a second therapeutic agent.

26. The composition or method of any of the foregoing claims wherein the B7-H4 is expressed on a tumor cell.

27. A molecule, comprising an antigen-binding fragment of an anti-human B7-H4 antibody, wherein the molecule immunospecifically binds to human B7-H4.

28. The molecule of claim 27, wherein the molecule immunospecifically binds to human B7-H4: (I) arrayed on the surface of a cell; (II) arrayed on the surface of a live cell at an endogenous concentration; (III) arrayed on the surface of a live cell, and modulates binding between B7-H4 and its cellular receptor; (IV) arrayed on the surface of a live cell, and inhibits immune suppression by tumor-associated macrophages; (V) arrayed on the surface of a live cell, and modulates an activity of a tumor-associated macrophage; (VI) arrayed on the surface of a live tumor cell and inhibits tumor-mediated suppression; or (VII) arrayed on the surface of a live tumor cell and causes tumor-specific cell lysis.

29. The molecule of claim 27, wherein the molecule is capable of being internalized into said cell and of mediating the death of said cell.

30. The molecule of claim 28, wherein said live cell is a tumor cell, a pathogen-infected cell or a macrophage.

31. The molecule of claim 27, wherein the molecule is detectably labeled or comprises a conjugated toxin, drug, receptor, enzyme, receptor ligand.

32. The molecule of claim 27, wherein the molecule is an anti-B7H4 antibody, and wherein the antibody is: (I) a monoclonal antibody, a chimeric antibody or a humanized antibody; or (II) a bispecific, trispecific or multispecific antibody.

33. The molecule of claim 27, wherein said molecule is an IgGl or IgG4 antibody.

34. The molecule of claim 27, wherein the molecule has ADCC activity and is capable of direct tumor or TAM killing activity and/or inhibiting TAM- or tumor mediated-suppression.

35. The molecule of claim 27, wherein the molecule is a bispecific, trispecific or multispecific antibody that is capable of binding B7-H4 and a different molecule on the same cell.

36. A pharmaceutical composition for the treatment of cancer or infectious disease, comprising a therapeutically effective or prophylactically effective amount of the molecule of claim 27, and a physiologically acceptable carrier or excipient, wherein said molecule antagonizes a B7-H4-mediated suppression to up-modulate an immune response.

37. A method for enhancing or inducing an immune response in a subject in need thereof comprising: administering an effective amount of the pharmaceutical composition according to claim 36.

38. A monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:3.

39. A nucleic acid that encodes a light chain according to SEQ ID NO:3.

40. A nucleic acid having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:7.

41. An anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:8.

42. A nucleic acid that encodes a heavy chain according to SEQ ID NO:8.

43. A nucleic acid having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 12.

44. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 5, and 6.

45. An anti-B7H4 antibody or an antigen binding fragment thereof having a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 10, and 11.

46. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 5, and 6 and a heavy chain containing CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 10, and 11.

47. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof having a light chain with at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:3 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:8.

48. An anti-B7H4 monoclonal antibody or antigen binding fragment thereof that has a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13.

49. An anti-B7H4 antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16.

50. An anti-B7H4 antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:29.

51. An anti-B7H4 antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID NOs: 9, 11, and 30.

52. An anti-B7H4 monoclonal antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 30.

53. An anti-B7H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:29.

54. An anti-B7H4 antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:46.

55. An anti-B7H4 antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 14, 16, and 47.

56. An anti-B7H4 antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:49.

57. An anti-B7H4 antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 50.

58. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 47, and 16 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 11, and 50.

59. An anti-B7H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:46 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:49.

60. An anti-B7H4 antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:52.

61. An anti-B7H4 antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 53, 54, and 55.

62. An anti-B7H4 antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:65.

63. An anti-B7H4 antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 66, 67, and 68.

64. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 53, 54, and 55, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 67, and 68.

65. An anti-B7H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:52 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 65.

66. An antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:85.

67. An antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 4, 86, and 87.

68. An antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:89.

69. An antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 90, and 91.

70. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 4, 86, and 87 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 90, and 91.

71. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:85 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:89.

72. An antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 93.

73. An antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 94, 95, and 96.

74. An antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 98.

75. An antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 99, and 100.

76. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 94, 95, and 96, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 99, and 100.

77. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:93 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 98.

78. An antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 102.

79. An antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 103, 104, and 105.

80. An antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 107.

81. An antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 108, and 109.

82. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 103, 104, and 105, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 108, and 109.

83. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 102 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 107.

84. An antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 111.

85. An antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 95, 112, and 113.

86. An antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 115.

87. An antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 116, 117, and 118.

88. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 95, 112, and 113, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 116, 117, and 118.

89. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 111 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 115.

90. An anti-B7H4 antibody light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 120.

91. An anti-B7H4 antibody light chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 54, 55, and 121.

92. An anti-B7H4 antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO:l23.

93. An anti-B7H4 antibody heavy chain comprising CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 66, 124, and 125.

94. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 54, 55, and 121, and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 66, 124, and 125.

95. An anti-B7H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 120 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 123.

96. An anti-B7H4 antibody heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 128.

97. An anti-B7H4 antibody heavy chain containing CDRs with amino acid sequences according to SEQ ID Nos: 9, 129, and 130.

98. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising light chain CDRs according to SEQ ID Nos: 14, 15, and 16 and heavy chain CDRs according to SEQ ID Nos: 9, 129, and 130.

99. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof, comprising a light chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 13 and a heavy chain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to SEQ ID NO: 128.

100. An anti-B7H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof comprising a light chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NO:3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, or 120.

101. An anti-B7H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof comprising a heavy chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NO:8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, or 128.

102. An anti-B7H4 antibody, or an antigen binding fragment thereof comprising a light chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, or 120, and a heavy chain with an amino acid sequence according to any one of SEQ ID Nos: 8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, or 128.

103. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof comprising three light chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group consisting of SEQ ID Nos: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, or 121.

104. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof comprising three heavy chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group consisting of SEQ ID Nos: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, or 130.

105. An anti-B7H4 antibody, or antigen binding fragment thereof comprising three light chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, and 121, and three heavy chain CDRs with amino acid sequences that are selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, and 130.

106. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising six complementarity determining regions (CDRs),

wherein the CDRs comprise the three light chain CDRs of a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106. 107, 114, 115, or 123, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID N04, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106, 107, 114, 115, or 123,

and the three heavy chain CDRs of a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, or 132, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, or 132, and

wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

107. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising a light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs: 19, 20, 21, 22, or 23, and a heavy chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:34, 35, 36, or 37.

108. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, or 28, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 38, 39, 40, or 41.

109. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, or 28, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 42, 43, 44, or 45.

110. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising a light chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs:58, 59, 60, or 61, and a heavy chain variable domain having at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or 100% sequence identity to any one of SEQ ID NOs: 70, 71, 72, 73, or 74.

111. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 62, 63, or 64, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 75, 76, 77, 78, or 79.

112. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising a light chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 62, 63, or 64, and a heavy chain having an amino acid sequence according to any one of SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 83, or 84.

113. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising two light chains and two heavy chains,

wherein the two light chains comprise a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28,

and the two heavy chains comprise a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 38, 39, 40, or 41, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 38, 39, 40, or 41, and

wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

114. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising two light chains and two heavy chains,

wherein the two light chains comprise a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, or 28,

and the two heavy chains comprise a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 42, 43, 44, or 45, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 42, 43, 44, or 45, and

wherein the antibody or antigen binding fragment thereof binds to B7-H4.

115. An anti-B7H4 antibody or antigen binding fragment thereof comprising two light chains and two heavy chains,

wherein the two light chains comprise a polypeptide selected from the group consisting of SEQ ID NO: 62, 63, or 64, or a variant thereof comprising at least 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, or more sequence identity to SEQ ID NO: 62, 63, or 64,

COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MÉTODOS PARA AUMENTAR, PARA REDUZIR, PARA INTENSIFICAR OU INDUZIR UMA RESPOSTA IMUNE EM UM INDIVÍDUO, MOLÉCULA, ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ÁCIDO NUCLEICO, ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ANTICORPO ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO ANTI-B7H4, E, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO

[001] Este pedido reivindica benefício e prioridade do Pedido Provisório U.S. nº de série 62/620.545, depositado em 23 de janeiro de 2018, que é incorporado por referência em sua totalidade.

REFERÊNCIA A UMA LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[002] A Listagem de Sequências enviada em 23 de janeiro de 2019 como um arquivo de texto denominado “064467.005PCT_seqlist_ST25” criado em 23 de janeiro de 2019 e com um tamanho de 357 MB é incorporada aqui por referência, de acordo com 37 C.F.R. § 1,52 (e)(5).

CAMPO DA INVENÇÃO

[003] A invenção está geralmente relacionada ao campo da imunomodulação e, mais particularmente, a composições e métodos para modular a sinalização de B7-H4 para aumentar ou diminuir uma resposta imune.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[004] A família B7 desempenha um papel importante na regulação positiva e negativa das respostas imunes, envolvendo uma variedade de receptores nos linfócitos (Rahbar, R. *et al.*, Cancer Immunol Res, 3(2):184-195(2015)). B7-H4 (também conhecido como VTCN1 ou B7x ou B7S1) é um membro da família B7 e inibe a função das células T. Também é regulada em uma variedade de tumores e foi proposta para promover o crescimento do

tumor. Alta expressão de B7-H4 é encontrada em inúmeros tecidos tumorais, fornecendo uma correlação do nível de expressão em células tumorais com características clínicas e patológicas adversas, incluindo agressividade tumoral.

[005] A atividade biológica de B7-H4 foi associada à diminuição das respostas inflamatórias das células T $CD4^+$ e uma correlação entre macrófagos associados a tumores que expressam B7-H4 e células T reguladoras FoxP3+ (Tregs) dentro do microambiente tumoral. Como a B7-H4 é expressa em células tumorais e macrófagos associados a tumores em vários tipos de câncer, o bloqueio terapêutico de B7-H4 pode alterar favoravelmente o microambiente do tumor, permitindo a liberação específica de antígeno das células tumorais (Podojil, JR. and Miller, SD, Immunol Rev, 276(l):40-5l (2017)).

[006] O cDNA que codifica a proteína B7-H4 humana foi identificado e clonado a partir do cDNA da placenta (Sica, G. L. *et al.* (2003) "B7-H4, A Molecule Of The B7 Family, Negatively Regulates T Cell Immunity," Immunity 18:849-861; Zang, X. *et al.* (2003) B7x: A Widely Expressed B7 Family Member That Inhibits T Cell Activation," Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 100: 10388-10392). A B7-H4 é discutida nas Pat. U.S. nº 7.931.896, 7.875.702; 7.847.081; e 7.622.565.

[007] Anticorpos anti-B7-H4 são descritos nas Pat. U.S. nº 9.574.000; 7.888.477; 7.737.255; 7.619.068; e 6.962.980.

[008] A proteína B7-H4 humana possui 282 resíduos de aminoácidos, que foram classificados como incluindo um domínio extracelular do terminal amino, um domínio transmembranar hidrofóbico grande e um domínio intracelular muito curto (consistindo em apenas 2 resíduos de aminoácidos). Como outros membros da família B7, B7-H4 possui um par de regiões semelhantes a Ig em seu domínio extracelular. A proteína B7-H4 tem uma estrutura geral de uma proteína transmembrana do

tipo I. A proteína tem homologia mínima (cerca de 25%) com outros membros da família B7 (Zang, X. *et al.* (2003) "B7x: A Widely Expressed B7 Family Member That Inhibits T Cell Activation," Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 100: 10388-10392).

[009] B7-H4 também é expressa em macrófagos associados a tumores (TAMs). Os TAMs inibem as respostas imunes antitumorais através da liberação de mediadores humorais e também protegem os tumores do reconhecimento imune, impedindo as respostas imunes mediadas por células através da expressão da superfície celular de moléculas inibidoras, como B7-H4. Os TAMs derivam de macrófagos residentes ou de monócitos recrutados pelo microambiente tumoral e polarizados no local do tumor. A infiltração tumoral com TAMs tem sido associada à baixa sobrevida do paciente e o alvejamento para TAMs representa uma estratégia promissora contra o câncer. Várias abordagens já foram desenvolvidas, incluindo o esgotamento com lipossomas de clodronato; inibição de recrutamento tumoral por CFSR-l e CCL2; e "reeducação" por meio da ativação via mAbs anti-CD40, ou proteína plasmática HRG ou receptor de manose (Dangai, D. *et al.*, Cancer Res, 73(15): 4820-4829 (2013)).

[0010] Uma vez que B7-H4 é expressa em células tumorais e TAMs em vários tipos de câncer, direcionar a terapêutica contra B7-H4 pode ter tremendos resultados sinérgicos ao alterar favoravelmente o microambiente do tumor e eliminar células cancerosas. Assim, há necessidade de novos imunomoduladores de B7-H4.

[0011] Portanto, é um objetivo da invenção prover composições que inibam a transdução de sinal inibitório mediada por B7-H4 para, assim, intensificar ou promover uma resposta imunológica inibindo a transdução de sinal supressora de B7-H4. Tais composições são úteis para o tratamento de câncer e doenças infecciosas.

[0012] É outro objetivo da invenção prover composições que

aumentem a transdução de sinal inibitório mediada por B7-H4, promovendo assim uma resposta imunológica supressora.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0013] São providos composições e métodos de seu uso para modular a transdução de sinal de B7-H4. Tais composições são úteis para o tratamento de doenças inflamatórias e distúrbios e doenças autoimunes. Em uma modalidade são providos agentes imunomoduladores que reduzem a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, transdução de sinais ou uma combinação dos mesmos. Em uma modalidade, os agentes imunomoduladores se ligam especificamente a B7-H4. Os agentes imunomoduladores podem ser anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, proteínas de fusão, aptâmeros ou agentes que se ligam especificamente a B7-H4 e modulam a transdução de sinal através da via de transdução de sinal B7-H4. A modulação inclui o aumento da transdução de sinal através da via de transdução de sinal B7-H4 ou a inibição da transdução de sinal através da via de transdução de sinal B7-H4.

[0014] Uma modalidade provê um método para tratar a infecção em um indivíduo que necessite dele, administrando uma quantidade eficaz de um agente que inibe ou bloqueia a resposta imune supressora de B7-H4 em uma quantidade eficaz para expandir neutrófilos e/ou aumentar a imunidade inata.

[0015] Os agentes descritos podem ser usados para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso por inibição da resposta imune supressora de B7-H4. Uma resposta imune pode ser, por exemplo, uma resposta imune primária a um antígeno ou a um aumento da função das células efetoras, como aumento da proliferação específica de antígeno das células T, intensificação da produção de citocinas pelas células T, estímulo da diferenciação, expansão de neutrófilos, ou uma combinação dos mesmos. Agentes exemplificativos incluem (i) um polipeptídeo ou proteína de fusão B7-H4 solúvel, (ii) uma função que bloqueia o anticorpo anti-B7-H4, (iii) um

anticorpo que pode ser usado para esgotar células positivas para B7-H4, e (iv) combinações dos mesmos. Em algumas modalidades, o agente imunomodulador é um antagonista de B7-H4.

[0016] Em modalidades particulares, o agente é uma proteína de fusão B7-H4, por exemplo, uma proteína de fusão que inclui um domínio extracelular de B7-H4 ou uma variante funcional do mesmo ligada a um domínio de imunoglobulina. Uma proteína de fusão exemplificativa inclui a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 ou um fragmento da mesma.

[0017] Em outras modalidades o agente é uma proteína B7-H4 ou um fragmento ou variante funcional da mesma. Por exemplo, a proteína B7-H4 ou fragmento ou variante funcional da mesma pode ter pelo menos 80%, 90%, 95% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 1. Em uma modalidade, as proteínas B7-H4 ou polipeptídeos modulam a transdução de sinal através da via de transdução de sinal B7-H4 por ligação específica a um ligante de B7-H4.

[0018] Em outras modalidades o agente é uma proteína B7-H4 solúvel ou um fragmento ou variante funcional da mesma. Por exemplo, a proteína B7-H4 solúvel pode consistir em um domínio extracelular de B7-H4 ou um fragmento ou variante funcional do mesmo.

[0019] Os métodos para aumentar uma resposta imune em um indivíduo tipicamente incluem a administração de uma quantidade eficaz de um agente imunomodulador que reduz a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, transdução de sinal ou uma combinação dos mesmos a um indivíduo que necessite disso. O indivíduo pode ter, por exemplo, câncer ou uma doença infecciosa.

[0020] Em algumas modalidades, o indivíduo, o câncer ou a doença é distinguida pelo aumento da expressão de B7-H4, aumento da expressão de um ligante B7-H4 ou uma combinação dos mesmos. Em modalidades particulares, o câncer é um câncer de ovário, mama, pulmão, tireoide,

gastrointestinal, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfoide aguda (LLA), câncer endometrial, câncer no cérebro, câncer de cabeça e pescoço, câncer de pâncreas e câncer de bexiga. O agente pode ser administrado de forma contemporânea ou em combinação com uma vacina ou um componente da mesma.

[0021] Também são providos agentes imunomoduladores que aumentam a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização imunossupressora ou uma combinação dos mesmos. Esses agentes podem ser usados para reduzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso induzindo ou intensificando a resposta imunossupressora de B7-H4. Agentes exemplificativos incluem uma função que ativa o anticorpo anti-B7-H4 ou um polipeptídeo de B7-H4 solúvel.

[0022] Os métodos para reduzir uma resposta imune em um indivíduo tipicamente incluem a administração de uma quantidade eficaz de um agente imunomodulador que aumenta a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa, ou uma combinação dos mesmos a um indivíduo que necessite disso. Em algumas modalidades, o indivíduo tem inflamação ou um distúrbio autoimune. Em uma modalidade particular, o indivíduo tem artrite reumatoide.

[0023] Em algumas modalidades, o indivíduo ou a doença ou condição é distinguida pela expressão reduzida de B7-H4.

[0024] Qualquer um dos métodos descritos pode incluir a administração ao indivíduo de um agente imunomodulador sozinho ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais.

[0025] Uma modalidade provê um método para o tratamento de leucemia em um indivíduo que necessite disso, administrando ao indivíduo uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica compreendendo um anticorpo monoclonal B7-H4, polipeptídeo B7-H4 solúvel, proteína de fusão B7-H4 ou combinações dos mesmos para inibir ou reduzir a transdução de

sinal de B7-H4 nas células de leucemia e assim inibir a sobrevivência das células de leucemia ou promover uma resposta imune antitumoral às células de leucemia. A leucemia pode ser leucemia mieloide aguda.

[0026] Uma modalidade provê um método para avaliar ou prever a eficácia de um tratamento usando uma fração de ligação anti-B7-H4, analisando as células de um indivíduo que precisa de tratamento para determinar se as células expressam B7-H4, parceiros de ligação de B7-H4, ou ambos. Células exemplificativas a serem testadas incluem, mas não estão limitadas a células cancerosas obtidas dos indivíduos. Células cancerosas exemplificativas incluem, entre outras, células de leucemia mieloide aguda (LMA), câncer endometrial, câncer de cérebro, câncer de cabeça e pescoço e câncer pancreático.

[0027] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:3.

[0028] Uma modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia leve de acordo com a SEQ ID NO:3. Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:7.

[0029] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:8.

[0030] Uma modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada da SEQ ID NO: 8. Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 12.

[0031] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou

fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5 e 6.

[0032] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11.

[0033] Em uma modalidade, um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5, e 6 e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11.

[0034] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:3 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:8.

[0035] Uma outra modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13.

[0036] Em uma modalidade, a cadeia leve de anticorpo contém CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15 e 16.

[0037] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:29.

[0038] Uma outra modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID NOs: 9, 11 e 30.

[0039] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo contendo CDRs da cadeia

leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 30.

[0040] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo contendo uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:29.

[0041] Uma modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo anti-B7-H4 que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:46.

[0042] Uma outra modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo anti-B7-H4 contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 16 e 47.

[0043] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:49.

[0044] Uma outra modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 47.

[0045] Uma modalidade provê um anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 16, e 47, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 50.

[0046] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:46 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de

identidade de sequência com a SEQ ID NO:49.

[0047] Uma modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:52.

[0048] Em uma outra modalidade, a cadeia leve de anticorpo contém CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54 e 55.

[0049] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:65.

[0050] Uma outra modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 e 68.

[0051] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo contendo CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54, e 55, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 e 68.

[0052] Uma modalidade provê um anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:52 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:65.

[0053] Uma modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:85.

[0054] Uma outra modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86 e 87.

[0055] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:89.

[0056] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

[0057] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86, e 87 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

[0058] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento ligação ao antígeno do mesmo, contendo uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:85 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:89.

[0059] Uma modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:93.

[0060] Uma outra modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 94, 95 e 96.

[0061] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:98.

[0062] Uma outra modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

[0063] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou

fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 94, 95, e 96, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

[0064] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:93 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:98.

[0065] Uma modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 102.

[0066] Uma outra modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104 e 105.

[0067] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 107.

[0068] Uma outra modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

[0069] Em uma modalidade um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo contém CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104, e 105 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

[0070] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 102 e uma cadeia pesada que tem

pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 107.

[0071] Uma modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 111.

[0072] Uma outra modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 95, 112 e 113.

[0073] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 115.

[0074] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 116, 117 e 118.

[0075] Em uma modalidade, o anticorpo anti-B7-H,4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contém CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 95, 112, e 113, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 116, 117 e 118.

[0076] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 111 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 115.

[0077] Uma modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 120.

[0078] Uma outra modalidade provê uma cadeia leve de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID

Nos: 54, 55 e 121.

[0079] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 123.

[0080] Uma outra modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

[0081] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 54, 55, e 121 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

[0082] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 120 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 123.

[0083] Uma modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo anti-B7-H4 que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 128

[0084] Uma outra modalidade provê uma cadeia pesada de anticorpo anti-B7-H4 contendo CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129 e 130.

[0085] Em uma modalidade, um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contém CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129, 130.

[0086] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, contendo uma cadeia leve que

tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 128.

[0087] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NO:3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, ou 120.

[0088] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NO:8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, ou 128.

[0089] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, ou 120, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID Nos: 8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, ou 128.

[0090] Também é provido um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem três CDRs de cadeia leve com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID Nos: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, ou 121.

[0091] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem três CDRs de cadeia pesada com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo

[0092] que consiste em SEQ ID Nos: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, ou 130.

[0093] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4, ou

fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem três CDRs de cadeia leve com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, e 121, e três CDRs de cadeia pesada com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, e 130.

[0094] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs: 19, 20, 21, 22, ou 23, e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:34, 35, 36, ou 37.

[0095] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 38, 39, 40, ou 41.

[0096] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 42, 43, 44, ou 45.

[0097] Também é provido um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100%

de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:58, 59, 60, ou 61 e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs: 70, 71, 72, 73, ou 74.

[0098] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 75, 76, 77, 78, ou 79.

[0099] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 83, ou 84.

[00100] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, com seis regiões determinantes de complementaridade (CDRs), em que as CDRs incluem as três CDRs da cadeia leve de um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106, 107, 114, 115, ou 123, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106, 107, 114, 115, ou 123, e as três CDRs da cadeia pesada de um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO:9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, ou 132, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, ou 132, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se

liga a B7-H4.

[00101] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, ou 64, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 38, 39, 40, 41, 75, 76, 77, 78, ou 79, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 38, 39, 40, 41, 75, 76, 77, 78, ou 79, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

[00102] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28, 62, 63, ou 64, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 42, 43, 44, 45, 80, 81, 82, 83, ou 84, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 42, 43, 44, 45, 80, 81, 82, 83, ou 84, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

[00103] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou

uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

[00104] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 42, 43, 44, ou 45, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 42, 43, 44, ou 45, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

[00105] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou

mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

[00106] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

I. Definições

[00107] Como aqui usado, diz-se que uma molécula é capaz de “se ligar imunoespecificamente” a uma segunda molécula se essa ligação apresentar a especificidade e afinidade de um anticorpo ao seu antígeno cognato. Diz-se que os anticorpos são capazes de se ligar imunoespecificamente a uma região alvo ou conformação (“epítopo”) de um antígeno se essa ligação envolver o local de reconhecimento de antígeno da molécula de imunoglobulina. Um anticorpo que se liga imunoespecificamente a um antígeno específico pode se ligar a outros antígenos com menor afinidade se o outro antígeno tiver alguma similaridade sequencial ou conformacional que seja reconhecida pelo local de reconhecimento do antígeno conforme determinado, por exemplo, por imunoensaios, ensaios BIACORE® ou outros ensaios conhecidos na técnica, mas não se ligariam a

um antígeno totalmente não relacionado. Em algumas modalidades, no entanto, os anticorpos (e seus fragmentos de ligação ao antígeno) não reagem de maneira cruzada com outros antígenos. Os anticorpos também podem se ligar a outras moléculas de uma maneira que não seja imunoespecífica, como os receptores FcR, em virtude de domínios de ligação em outras regiões/domínios da molécula que não envolvem o local de reconhecimento de antígeno, como a região Fc.

[00108] Como aqui usado, diz-se que uma molécula se "liga fisioespecificamente" a uma segunda molécula se essa ligação apresentar a especificidade e afinidade de um receptor ao seu ligante de ligação cognato. Uma molécula pode ser capaz de se ligar fisioespecificamente a mais de uma outra molécula.

[00109] Como usado aqui, o termo "anticorpo" se destina a denotar uma molécula de imunoglobulina que possui um local de reconhecimento de antígeno de "região variável" e inclui fragmentos de anticorpos de ligação ao antígeno. O termo "região variável" pretende distinguir esse domínio da imunoglobulina dos domínios que são amplamente compartilhados por anticorpos (como um domínio Fc do anticorpo). A região variável inclui uma "região hipervariável" cujos resíduos são responsáveis pela ligação ao antígeno. A região hipervariável inclui resíduos de aminoácidos de uma "Região Determinante da Complementaridade" ou "CDR" (ou seja, tipicamente aproximadamente nos resíduos 24-34 (L1), 50-56 (L2) e 89-97 (L3) no domínio variável da cadeia leve e aproximadamente nos resíduos 27-35 (H1), 50-65 (H2) e 95-102 (H3) no domínio variável da cadeia pesada; Kabat *et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) e/ou os resíduos de uma "alça hipervariável" (ou seja, resíduos 26-32 (L1), 50-52 (L2) e 91-96 (L3) no domínio variável da cadeia leve e 26-32 (H1), 53-55 (H2) e 96-101 (H3) no domínio variável da cadeia pesada; Chothia and Lesk,

1987, J. Mol. Biol. 196:901-917). Os resíduos de "região de molde" ou "FR" são aqueles resíduos de domínio variável diferentes dos resíduos da região hipervariável, conforme aqui definido. O termo anticorpo inclui anticorpos monoclonais, anticorpos multiespecíficos, anticorpos humanos, anticorpos humanizados, anticorpos sintéticos, anticorpos quiméricos, anticorpos camelizados (Ver, por exemplo, Muyldermans *et al.*, 2001, *Trends Biochem. Sci.* 26:230; Nuttall *et al.*, 2000, *Cur. Pharm. Biotech.* 1:253; Reichmann and Muyldermans, 1999, *J. Immunol. Meth.* 231:25; publicações internacionais nº WO 94/04678 e WO 94/25591; Patente U.S. nº 6.005.079), Fvs de cadeia única (scFv) (ver, por exemplo, Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)), anticorpos de cadeia única, Fvs ligados a dissulfeto (sdFv), intracorpos, diacorpos, triacorpos, tetracorpos, Bis-scFv, minicorpos, Fab2, Fab3 e anticorpos anti-idiotípicos (anti-id) (incluindo, por exemplo, anticorpos para anticorpos anti-id e anti-anti-Id). Em particular, esses anticorpos incluem moléculas de imunoglobulina de qualquer tipo (por exemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), classe (por exemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG_4, IgA1 e IgA_2) ou subclasse.

[00110] Como usado aqui, o termo "fragmento de ligação ao antígeno" de um anticorpo refere-se a uma ou mais porções de um anticorpo que contêm as Regiões Determinantes de Complementaridade do anticorpo ("CDRs") e, opcionalmente, os resíduos de molde que incluem o local de reconhecimento de antígeno da "região variável" do anticorpo e apresentam uma capacidade de se ligar ao antígeno imunoespecificamente. Tais fragmentos incluem Fab', $F(ab')_2$, Fv, cadeia única (ScFv) e mutantes dos mesmos, variantes de ocorrência natural e proteínas de fusão, incluindo o local de reconhecimento de antígeno da "região variável" do anticorpo e uma proteína heteróloga (por exemplo, uma toxina, um local de reconhecimento de antígeno para um antígeno diferente, uma enzima, um receptor ou ligante do receptor etc.).

[00111] Como usado aqui, o termo “fragmento” refere-se a um peptídeo ou polipeptídeo incluindo uma sequência de aminoácidos de pelo menos 5 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 10 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 15 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 20 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 25 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 40 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 50 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 60 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 70 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 80 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 90 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 100 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 125 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 150 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 175 resíduos de aminoácidos contíguos, pelo menos 200 resíduos de aminoácidos contíguos, ou pelo menos 250 resíduos de aminoácidos contíguos.

[00112] Como usado aqui, o termo “modular” refere-se a uma capacidade de alterar um efeito, resultado ou atividade (por exemplo, transdução de sinal). Essa modulação pode ser agonística ou antagônica.

[00113] A modulação antagônica pode ser parcial (isto é, atenuar, mas não abolir) ou pode abolir completamente essa atividade (por exemplo, neutralizar). A modulação pode incluir a internalização de um receptor após a ligação de um anticorpo ou uma redução na expressão de um receptor na célula alvo. A modulação agonística pode intensificar ou, de outro modo, aumentar ou intensificar uma atividade (por exemplo, transdução de sinal). Ainda em uma modalidade adicional, essa modulação pode alterar a natureza da interação entre um ligante e seu receptor cognato, de modo a alterar a natureza da transdução de sinal induzida. Por exemplo, as moléculas podem, pela ligação ao ligante ou receptor, alterar a capacidade de tais moléculas se ligarem a outros ligantes ou receptores e, assim, alterar sua atividade geral. Em algumas modalidades, essa modulação proverá pelo menos uma alteração

de 10% em uma atividade mensurável do sistema imunológico, pelo menos uma alteração de 50% nessa atividade ou pelo menos uma alteração de 2 vezes, 5 vezes, 10 vezes ou pelo menos 100 vezes nessa atividade.

[00114] O termo “substancialmente”, conforme usado no contexto de ligação ou efeito apresentado, pretende denotar que o efeito observado é fisiologicamente ou terapeuticamente relevante. Assim, por exemplo, uma molécula é capaz de bloquear substancialmente uma atividade de um ligante ou receptor se a extensão do bloqueio for fisiologicamente ou terapeuticamente relevante (por exemplo, se essa extensão for mais que 60% completa, mais que 70% completa, mais que 75% completa, mais que 80% completa, mais que 85% completa, mais que 90% completa, mais que 95% completa ou mais que 97% completa). De modo similar, diz-se que uma molécula tem substancialmente a mesma imunoespecificidade e/ou característica de outra molécula, se essas características e imunoespecificidades forem mais que 60% idênticas, mais que 70% idênticas, mais que 75% idênticas, mais que 80% idênticas, mais que 85% idênticas, mais que 90% idênticas, mais que 95% idênticas ou mais que 97% idênticas).

[00115] Como usado neste documento, os sinais “coestimuladores” englobam sinais coestimuladores positivos, (por exemplo, sinais que resultam na melhoria de uma atividade) e sinais coestimuladores negativos (por exemplo, sinais que resultam na inibição de uma atividade).

[00116] O termo “derivado” refere-se a um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga imunoespecificamente ao mesmo alvo de um anticorpo parental ou de referência, mas que difere na sequência de aminoácidos do anticorpo parental ou de referência ou fragmento de ligação ao antígeno, incluindo uma, duas, três, quatro, cinco ou mais substituições, adições, deleções ou modificações de aminoácidos em relação ao anticorpo parental ou de referência ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. Em algumas modalidades, tais derivados terão substancialmente a

mesma imunoespecificidade e/ou características, ou a mesma imunoespecificidade e características que o anticorpo parental ou de referência ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. As substituições ou adições de aminoácidos de tais derivados podem incluir resíduos de aminoácidos de ocorrência natural (isto é, codificados por DNA) ou de ocorrência não natural. O termo “derivado” abrange, por exemplo, variantes quiméricas ou humanizadas, bem como variantes com regiões CH1, dobradiça, CH2, CH3 ou CH4 alteradas, de modo a formar, por exemplo, anticorpos, etc., com regiões Fc variantes que apresentam características efetoras ou de ligação aprimoradas ou comprometidas.

[00117] Como usado aqui, um “anticorpo quimérico” é uma molécula na qual diferentes porções do anticorpo são derivadas de diferentes moléculas de imunoglobulina, como anticorpos com uma região variável derivada de um anticorpo não humano e uma região constante de imunoglobulina humana.

[00118] Como usado aqui, o termo “anticorpo humanizado” refere-se a uma imunoglobulina incluindo uma região de molde humana e uma ou mais CDRs de uma imunoglobulina não humana (geralmente de camundongo ou rato). A imunoglobulina não humana que provê as CDRs é chamada de “doadora” e a imunoglobulina humana que provê o molde é chamada de “aceitadora”. As regiões constantes não precisam estar presentes, mas, se estiverem, devem ser substancialmente idênticas às regiões constantes da imunoglobulina humana, isto é, pelo menos cerca de 85 a 99%, ou cerca de 95% ou mais idênticas. Portanto, todas as partes de uma imunoglobulina humanizada, exceto possivelmente as CDRs, são substancialmente idênticas às partes correspondentes das sequências naturais de imunoglobulina humana. Um anticorpo humanizado é um anticorpo que inclui uma imunoglobulina da cadeia leve humanizada e uma imunoglobulina da cadeia pesada humanizada. Por exemplo, um anticorpo humanizado não abrangeria um anticorpo quimérico típico, porque, por exemplo, toda a região variável de um anticorpo

quimérico é não humana.

[00119] O termo “concentração endógena” refere-se ao nível em que uma molécula é nativamente expressa (ou seja, na ausência de vetores de expressão ou promotores recombinantes) por uma célula (cuja célula pode ser uma célula normal, uma célula cancerosa ou uma célula infectada).

[00120] Como aqui usado, os termos “tratar”, “tratando”, “tratamento” e “uso terapêutico” se referem à eliminação, redução ou melhoria de um ou mais sintomas de uma doença ou distúrbio. Como aqui usado, uma “quantidade terapeuticamente eficaz” refere-se à quantidade de um agente terapêutico suficiente para mediar uma eliminação, redução ou melhoria clinicamente relevante de tais sintomas. Um efeito é clinicamente relevante se sua magnitude for suficiente para afetar a saúde ou o prognóstico de um indivíduo receptor. Uma quantidade terapeuticamente eficaz pode se referir à quantidade de agente terapêutico suficiente para atrasar ou minimizar o início da doença, por exemplo, atrasar ou minimizar a propagação do câncer. Uma quantidade terapeuticamente eficaz também pode se referir à quantidade do agente terapêutico que provê um benefício terapêutico no tratamento ou gerenciamento de uma doença.

[00121] Como usado aqui, o termo “agente profilático” refere-se a um agente que pode ser usado na prevenção de um distúrbio ou doença antes da detecção de quaisquer sintomas de tal distúrbio ou doença. Uma quantidade “profilaticamente eficaz” é a quantidade de agente profilático suficiente para mediar essa proteção. Uma quantidade profilaticamente eficaz também pode se referir à quantidade do agente profilático que provê um benefício profilático na prevenção da doença.

[00122] Como usado aqui, o termo “câncer” refere-se a um neoplasma ou tumor resultante de crescimento descontrolado anormal de células. Como usado aqui, o câncer inclui explicitamente leucemias e linfomas. O termo “câncer” refere-se a uma doença que envolve células que têm o potencial de

se metastizar em locais distais e apresentam características fenotípicas que diferem das células não cancerosas, por exemplo, formação de colônias em um substrato tridimensional, como ágar mole ou a formação de redes tubulares ou matrizes do tipo teia em uma preparação de membrana basal tridimensional ou matriz extracelular. As células não cancerosas não formam colônias em ágar mole e formam estruturas distintas tipo esfera em preparações de membrana basal tridimensional ou matriz extracelular.

[00123] Como aqui usado, uma “célula imune” refere-se a qualquer célula de origem hemopoiética, incluindo, mas não limitada a células T, células B, monócitos, células dendríticas e macrófagos.

[00124] Como usado aqui, “moléculas inflamatórias” refere-se a moléculas que resultam em respostas inflamatórias incluindo, mas não se limitando a, citocinas e metaloproteases, como incluindo, sem limitação, IL-1β, TNF-α, TGF-beta, IFN-γ, IL-18, IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21 e MMPs.

[00125] Como usado aqui, “valência” refere-se ao número de locais de ligação disponíveis por molécula.

[00126] Como usado aqui, os termos resposta “imunológica” ou “imune” são o desenvolvimento de uma resposta humoral benéfica (mediada por anticorpos) e/ou uma resposta celular (mediada por células T específicas do antígeno ou seus produtos de secreção) direcionada contra um peptídeo em um paciente receptor. Essa resposta pode ser uma resposta ativa induzida pela administração de imunogênio ou uma resposta passiva induzida pela administração de anticorpo ou células T iniciadas. Uma resposta imune celular é induzida pela apresentação de epítopos polipeptídicos em associação com moléculas MHC de Classe I ou Classe II para ativar células T auxiliares $CD4^+$específicas do antígeno e/ou células T citotóxicas $CD8^+$. A resposta também pode envolver a ativação de monócitos, macrófagos, células NK, basófilos, células dendríticas, astrócitos, células da microglia, eosinófilos,

ativação ou recrutamento de neutrófilos ou outros componentes da imunidade inata. A presença de uma resposta imunológica mediada por células pode ser determinada por ensaios de proliferação (células T $CD4^+$) ou ensaios de CTL (linfócitos T citotóxicos). As contribuições relativas das respostas humoral e celular para o efeito protetor ou terapêutico de um imunogênio podem ser distinguidas isolando-se separadamente anticorpos e células T de um animal singênico imunizado e medindo o efeito protetor ou terapêutico em um segundo indivíduo.

[00127] Um “agente imunogênico” ou “imunogênio” é capaz de induzir uma resposta imunológica contra si mesmo na administração a um mamífero, opcionalmente em conjunto com um adjuvante.

[00128] Como usado aqui, os termos “indivíduo”, “hospedeiro”, “sujeito” e “paciente” são usados indistintamente aqui e se referem a um mamífero, incluindo, mas não se limitando a humanos, roedores, como camundongos e ratos, e outros animais de laboratório.

[00129] Como usado aqui, o termo “polipeptídeo” refere-se a uma cadeia de aminoácidos de qualquer comprimento, independentemente da modificação (por exemplo, fosforilação ou glicosilação). O termo polipeptídeo inclui proteínas e fragmentos das mesmas. Os polipeptídeos podem ser “exógenos”, o que significa que eles são “heterólogos”, isto é, estranhos à célula hospedeira que está sendo utilizada, como o polipeptídeo humano produzido por uma célula bacteriana. Os polipeptídeos são descritos aqui como sequências de resíduos de aminoácidos. Essas sequências são escritas da esquerda para a direita na direção do terminal amino para o carbóxi. De acordo com a nomenclatura padrão, as sequências de resíduos de aminoácidos são denominadas por um código de três letras ou uma única letra, conforme indicado a seguir: Alanina (Ala, A), Arginina (Arg, R), Asparagina (Asn, N), Ácido Aspártico (Asp, D), Cisteína (Cys, C), Glutamina (Gln, Q), Ácido Glutâmico (Glu, E), Glicina (Gly, G), Histidina (His, H),

Isoleucina (Ile, I), Leucina (Leu, L), Lisina (Lys, K), Metionina (Met, M), Fenilalanina (Phe, F), Prolina (Pro, P), Serina (Ser, S), Treonina (Thr, T), Triptofano (Trp, W), Tirosina (Tyr, Y) e Valina (Val, V).

[00130] Como usado aqui, o termo “variante” refere-se a um polipeptídeo ou polinucleotídeo que difere de um polipeptídeo ou polinucleotídeo de referência, mas retém propriedades essenciais. Uma variante típica de um polipeptídeo difere na sequência de aminoácidos de outro polipeptídeo de referência. Geralmente, as diferenças são limitadas de modo que as sequências do polipeptídeo de referência e da variante sejam muito semelhantes em geral e, em muitas regiões, idênticas. Uma variante e um polipeptídeo de referência podem diferir na sequência de aminoácidos por uma ou mais modificações (por exemplo, substituições, adições e/ou deleções). Um resíduo de aminoácido substituído ou inserido pode ou não ser um codificado pelo código genético. Uma variante de um polipeptídeo pode ocorrer naturalmente, como uma variante alélica, ou pode ser uma variante que não se sabe que ocorre naturalmente.

[00131] Modificações e alterações podem ser feitas na estrutura dos polipeptídeos da descrição e ainda obter uma molécula com características similares às do polipeptídeo (por exemplo, uma substituição de aminoácido conservativa). Por exemplo, certos aminoácidos podem ser substituídos por outros aminoácidos em uma sequência sem perda apreciável de atividade. Como é a capacidade interativa e a natureza de um polipeptídeo que definem a atividade funcional biológica desse polipeptídeo, certas substituições de sequência de aminoácidos podem ser feitas em uma sequência de polipeptídeo e, no entanto, obter um polipeptídeo com propriedades semelhantes.

[00132] Ao fazer essas alterações, o índice hidropático de aminoácidos pode ser considerado. A importância do índice hidropático de aminoácidos em conferir função biológica interativa em um polipeptídeo é geralmente entendida na técnica. É sabido que certos aminoácidos podem ser substituídos

por outros aminoácidos com um índice ou pontuação hidropática similar e ainda resultar em um polipeptídeo com atividade biológica similar. Cada aminoácido foi atribuído a um índice hidropático com base em sua hidrofobicidade e características de carga. Esses índices são: isoleucina (+4,5); valina (+4,2); leucina (+3,8); fenilalanina (+2,8); cisteína/cistina (+2,5); metionina (+1,9); alanina (+1,8); glicina (-0,4); treonina (-0,7); serina (-0,8); triptofano (-0,9); tirosina (-1,3); prolina (-1,6); histidina (-3,2); glutamato (-3,5); glutamina (-3,5); aspartato (-3,5); asparagina (-3,5); lisina (-3,9); e arginina (-4,5).

[00133] Acredita-se que o caráter hidropático relativo do aminoácido determina a estrutura secundária do polipeptídeo resultante, que por sua vez define a interação do polipeptídeo com outras moléculas, tais como enzimas, substratos, receptores, anticorpos, antígenos e cofatores. É conhecido na técnica que um aminoácido pode ser substituído por outro aminoácido com um índice hidropático similar e ainda obter um polipeptídeo funcionalmente equivalente. Em tais alterações, a substituição de aminoácidos cujos índices hidropáticos estão dentro de ± 2 é preferida, aqueles dentro de ± 1 são particularmente preferidos e aqueles dentro de ± 0,5 são ainda mais particularmente preferidos.

[00134] A substituição de aminoácidos similares também pode ser feita com base na hidrofilicidade, particularmente quando o polipeptídeo ou peptídeo funcional biológico equivalente assim criado se destina ao uso em modalidades imunológicas. Os seguintes valores de hidrofilicidade foram atribuídos aos resíduos de aminoácidos: arginina (+3,0); lisina (+3,0); aspartato (+3,0 ± 1); glutamato (+3,0 ± 1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); prolina (-0,5 ± 1); treonina (-0,4); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5); triptofano (-3,4). Entende-se que um aminoácido pode ser substituído por outro com um valor

de hidrofilicidade similar e ainda obter um polipeptídeo biologicamente equivalente e, em particular, um polipeptídeo imunologicamente equivalente. Em tais alterações, a substituição de aminoácidos cujos valores de hidrofilicidade estão dentro de ± 2 é preferida, aqueles dentro de ± 1 são particularmente preferidos e aqueles dentro de ± 0,5 são ainda mais particularmente preferidos.

[00135] Conforme descrito acima, as substituições de aminoácidos são geralmente baseadas na similaridade relativa dos substituintes da cadeia lateral de aminoácidos, por exemplo, sua hidrofobicidade, hidrofilicidade, carga, tamanho e similares. Substituições exemplificativas que levam em consideração várias características anteriores são bem conhecidas dos versados na técnica e incluem (resíduo original: substituição exemplificativa): (Ala: Gly, Ser), (Arg: Lys), (Asn: Gln, His), (Asp: Glu, Cys, Ser), (Gln: Asn), (Glu: Asp), (Gly: Ala), (His: Asn, Gln), (He: Leu, Val), (Leu: Ile, Val), (Lys: Arg), (Met: Leu, Tyr), (Ser: Thr), (Thr: Ser), (Trp: Tyr), (Tyr: Trp, Phe), e (Val: Ile, Leu). As modalidades desta descrição contemplam, portanto, equivalentes funcionais ou biológicos de um polipeptídeo conforme estabelecido acima. Em particular, as modalidades dos polipeptídeos podem incluir variantes com cerca de 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais identidade de sequência com o polipeptídeo de interesse.

[00136] O termo “porcentagem (%) de identidade de sequência” é definido como a porcentagem de nucleotídeos ou aminoácidos em uma sequência candidata que são idênticos aos nucleotídeos ou aminoácidos em uma sequência de ácidos nucleicos de referência, após o alinhamento das sequências e a introdução de lacunas, se necessário, para atingir a porcentagem máxima de identidade de sequência. O alinhamento para fins de determinação de porcentagem de identidade de sequência pode ser alcançado de várias maneiras que estão dentro da habilidade na técnica, por exemplo, usando software de computador disponível publicamente, como software

BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 ou Megalign (DNASTAR). Os parâmetros apropriados para medir o alinhamento, incluindo quaisquer algoritmos necessários para atingir o alinhamento máximo ao longo do comprimento total das sequências sendo comparadas, podem ser determinados por métodos conhecidos.

[00137] Para os fins deste documento, a % de identidade de sequência de uma determinada sequência de nucleotídeos ou aminoácidos C para, com, ou contra uma determinada sequência de ácidos nucleicos D (que pode alternativamente ser expressa como uma determinada sequência C que tem ou compreende uma certa % de identidade de sequência para, com ou contra uma determinada sequência D) é calculada da seguinte forma:

100 vezes a fração W/Z,

onde W é o número de nucleotídeos ou aminoácidos marcados como correspondências idênticas pelo programa de alinhamento de sequência no alinhamento desse programa de C e D, e onde Z é o número total de nucleotídeos ou aminoácidos em D. Será reconhecido que onde o comprimento da sequência C não é igual ao comprimento da sequência D, a % de identidade de sequência de C para D não será igual à % de identidade de sequência de D para C.

[00138] Como usado aqui, o termo “carreador farmaceuticamente aceitável” abrange qualquer um dos carreadores farmacêuticos padrão, como uma solução salina tamponada com fosfato, água e emulsões, como uma emulsão de óleo/água ou água/óleo e vários tipos de agentes umectantes.

II. Composições

[00139] Os altos níveis de expressão de B7-H4 encontrados em vários tecidos tumorais, por exemplo, câncer de ovário humano, apontam para um papel fundamental para B7-H4 na mediação da supressão imunológica. Além disso, verificou-se que os macrófagos associados a tumor (TAMs) que expressam B7-H4 suprimem a imunidade de células T antígeno-específicas

associadas a tumor (Kryczek, I. *et al.* (2006) “B7-H4 Expression Identifies A Novel Suppressive Macrophage Population In Human Ovarian Carcinoma,” J. Exp. Med. 203(4):871-881). A intensidade da expressão de B7-H4 em TAMs se correlaciona significativamente com o número de células Treg no tumor. Além disso, B7-H4 expressa em TAMs, está associada a resultados ruins do paciente (Kryczek, I. *et al.* (2006) “B7-H4 Expression Identifies A Novel Suppressive Macrophage Population In Human Ovarian Carcinoma,” J. Exp. Med. 203(4):871-881). Além disso, B7-H4 pode ser expressa em células supressoras derivadas de mieloide (MDSCs), onde pode exercer um efeito imunossupressor na infecção viral (Garg, A *et al.* (2017) “Human Immunodeficiency Virus Type-l Myeloid Derived Suppressor Cells Inhibit Cytomegalovirus Inflammation through Interleukin-27 and B7-H4” Sci. Rep. Mar 24;7:44485). Enquanto em um estudo de câncer uterino, a expressão de B7-H4 no microambiente tumoral foi associada ao aumento da infiltração de MDSCs (Vanderstraeten, A. *et al.* (2014) “Mapping the immunosuppressive environment in uterine tumors: implications for immunotherapy,” Cancer Immunol. Immunother. Jun;63(6):545-57). Portanto, B7-H4 pode ser expressa em células tumorais, TAM e/ou MDSCs, onde pode exercer sinalização imunossupressora no câncer.

[00140] Os neutrófilos são o principal componente da defesa inata do hospedeiro contra infecções e também contribuem para a patogênese autoimune e inflamação crônica. Durante a infecção, os neutrófilos migram rapidamente para os locais de inflamação, tornam-se ativados e iniciam uma cascata de mecanismos de defesa, incluindo fagocitose, morte e degradação de micro-organismos por proteínas antimicrobianas e proteolíticas, juntamente com a geração de espécies reativas de oxigênio. Os neutrófilos também participam da degradação, remodelação, cicatrização de feridas e modulação de outros componentes imunes inflamatórios e adaptativos. Devido ao seu curto período de vida, os neutrófilos devem ser reabastecidos

continuamente durante a infecção e inflamação por expansão das células progenitoras mieloides na medula óssea. B7-H4 *in vitro* inibe o crescimento de progenitores de neutrófilos derivados da medula óssea, sugerindo uma função inibitória de B7-H4 na expansão de neutrófilos (Zhu, G. *et al.*, Blood, 113: 1759-1767 (2009)). Assim, são providas composições que modulam a transdução de sinal de B7-H4.

A. Sequências de B7-H4

[00141] Uma modalidade provê polipeptídeos B7-H4. Os polipeptídeos podem incluir uma sequência de aminoácidos de B7-H4 de comprimento total, ou um fragmento ou variante da mesma, ou uma proteína de fusão da mesma.

[00142] Uma modalidade provê proteínas B7-H4 humanas ou polipeptídeos das mesmas. As sequências para B7-H4 humana são conhecidas na técnica. Por exemplo, uma sequência de consenso para B7-H4 é

1 MASLGQILFW SIISIIIILA GAIALIIGFG ISGRHSITVT TVASAGNIGE DGILSCTFEP

61 DIKLSDIVIQ WLKEGVLGLV HEFKEGKDEL SEQDEMFRGR TAVFADQVIV GNASLRLKNV

121 QLTDAGTYKC YIITSKGKGN ANLEYKTGAF SMPEWVDYN ASSETLRCEA PRWFPQPTW

181 WASQVDQGAN FSEVSNTSFE LNSENVTMKV VSVLYNVTIN NTYSCMIEND IAKATGDIKV

241 TESEIKRRSH LQLLNSKASL CVSSFFAISW ALLPLSPYLM LK

(SEQ ID NO: 1, Q7Z7D3 (VTCNl_HUMAN)), onde os aminoácidos 1-27 são uma sequência de sinal (sublinhada de acordo com a Publicação de Patente US nº 2016/0039905, que é incorporada por referência na sua totalidade). Sica *et al.* indicaram que os aminoácidos 1-20 compreendem a sequência de sinal. O acesso #Q7Z7D3 do UniProtKB indica

que o domínio extracelular inclui os aminoácidos 25-259.

[00143] Outra modalidade provê proteínas e polipeptídeos B7-H4 de camundongo. As sequências para B7-H4 de camundongo são conhecidas na técnica. Por exemplo, uma sequência de consenso para B7-H4 de camundongo é

MASLGQIIFWSIINIIIILAGAIALIIGFGISGKHFITVTTFTS AGNIGEDGTLSCTFEP

DIKLNGIVIQWLKEGIKGLVHEFKEGKDDLSQQHEMFR GRTAVFADQVWGNASLRLKNV

QLTDAGTYTCYIRTSKGKGNANLEYKTGAFSMPEINVD YNASSESLRCEAPRWFPQPTVA

WASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKWSVLYNVT INNTYSCMIENDIAKATGDIKV

TDSEVKRRSQLQLLNSGPSPCVFSSAFVAGWALLSLSCC LMLR

(SEQ ID NO:2, Q7TSP5 (VTCN1 MOUSE) que é incorporada por referência na sua totalidade.

1. Sequências de anticorpo anti-B7-H4

a. Sequências de B1A1

[00144] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino que é produzido pelo clone de hibridoma B1A1 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas e se liga especificamente a B7-H4.

i. Cadeia leve

[00145] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

DIVMTOSHKFMSTSVGDRVSITC**KASODVRTAVA**WYO OKPGOSPKLLIY**STSYRYT**GVPDRFTGSGSGTEFTFTISSVOAEDLAVY

YC**QQYYVTPLT**FGAGTKLELK (SEQ ID NO:3) que se liga especificamente a B7-H4.

[00146] As CDRs da SEQ ID NO:3 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **KASQDVRTAVA** (SEQ ID NO:4);

CDR2 **STSYRYT** (SEQ ID NO: 5); e

CDR3 **QQYYVTPLT** (SEQ ID NO: 6).

[00147] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO:3). Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO:3) é

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCA CATCAGTAGGAGACAGGGTCAGTATCACCTGCAAGGCCAGTCAGG ATGTGAGAACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAAT CTCCTAAACTACTGATTTACTCGACATCCTACCGGTACACTGGAGT CCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGAATTCACTTTC ACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTC AGCAATATTATGTTACTCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCT GGAGCTGAAA (SEQ ID NO:7).

ii. Cadeia pesada

[00148] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFT**SYWMH**W IKORPGOGLEWIG**AIYPGNSDTKYNOKFKDK**AKLTAVTSASTAYME LSSLTNEDSAVYYCTS**TVRNVMDY**WGOGTSVTVSS (SEQ ID NO:8) e se liga especificamente a B7-H4.

[00149] As CDRs da SEQ ID NO:8 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGNSDTKYNQKFKDK** (SEQ ID NO 10); e

CDR3 **TVRNVMDY** (SEQ ID NO: 11).

[00150] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO:8).

[00151] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO: 8) é

GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTGCTGGCA
AGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTAC
ACCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGATAAAACAGAGGCCTGGA
CAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAATAGTGATA
CTAAATACAACCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCAAACTGACTGCAG
TCACATCTGCCAGCACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAA
ATGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACATCTACGGTACGGAATGT
TATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 12).

[00152] Uma modalidade provê um anticorpo, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve que tem CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5 e 6 e se liga especificamente a B7-H4.

[00153] Uma modalidade provê um anticorpo, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada que tem CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11 e se liga especificamente a B7-H4.

[00154] Uma modalidade provê um anticorpo, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve que tem CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5, e 6 e uma cadeia pesada que tem CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11 e se liga especificamente a B7-H4.

[00155] Uma modalidade provê um anticorpo, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:3 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:8 e se liga especificamente a B7-H4.

b. Sequências de B1H1

[00156] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino é produzido pelo clone de hibridoma B1H1 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00157] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EIOMTOSPSSMSASLGDRITITC**QATQDIVKSLN**WYOO KPGKPPSFLIY**YTAQLAE**GVPSRFSGSGSGSDYSLTISNLESEDFADYY **LQFYEFPPT**FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13).

[00158] As CDRs de SEQ ID NO: 13 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **QATQDIVKSLN** (SEQ ID NO: 14);

CDR2 **YTAQLAE** (SEQ ID NO: 15); e

CDR3 **LQFYEFPPT** (SEQ ID NO: 16).

[00159] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO:13).

[00160] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO: 13) é

GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTATGTCTG

CATCTCTGGGAGACAGAATAACCATCACTTGCCAGGCAACTCAAG
ACATTGTTAAGAGTTTAAACTGGTATCAACAAAAACCAGGGAAAC
CCCCTTCATTCCTGATCTATTATACAGCTCAACTGGCAGAAGGGGT
CCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGTCAGACTATTCTCTG
ACAATCAGC
AACCTGGAGTCTGAAGATTTTGCAGACTATTACTGTCTACAGTTTT
ATGAGTTTCCTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCA
AA (SEQ ID NO: 17).

[00161] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem um domínio constante de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY
ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 18) e se liga especificamente a B7-H4.

ii. Cadeia leve humanizada

[00162] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem um domínio variável de cadeia leve humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00163] VL1 de B1H1 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ
KPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPS RF SGSGSGTD YTLTIS SLQSEDF AT
YY CLQF YEFPPTF GGGTKVEIK (SEQ ID NO: 19)

[00164] VL2 de B1H1 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ

KPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYY
CLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:20)

[00165] VL3 de B1H1 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ
KPGKAPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYY
CLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:20)

[00166] VL4 de B1H1 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ
KPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY
CLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:22)

[00167] VL5 de B1H1 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ
KPGKPPKFAIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYY
CLQFYEFPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:23)

[00168] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00169] Variante 1 da cadeia leve B1H1 de comprimento total:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ
KPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQSEDFATYY
CLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:24)

[00170] Variante 2 da cadeia leve B1H1 de comprimento total:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ
KPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYY
CLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL

NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:25)

[00171] Variante 3 da cadeia leve B1H1 de comprimento total:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ KPGKAPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYY CLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:26)

[00172] Variante 4 da cadeia leve B1H1 de comprimento total:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ KPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:27)

[00173] Variante 5 da cadeia leve B1H1 de comprimento total:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQATQDIVKSLNWYQQ KPGKPPKFLIYYTAQLAEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CLQFYEFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:28)

iii. Cadeia pesada

[00174] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGTVLARPGASVKMSCKVSGYPFT**SYWMH**W VKORPGOGLEWIGA**IYPGKSDTEYNPNFKG**KAKLTAVTSATTAYME LSSLTNEDSAVYYCTS**TVRNVMDY**WGOGTTLTVSS (SEQ ID NO:29) e se liga especificamente a B7-H4.

[00175] As CDRs da SEQ ID NO:29 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGKSDTEYNPNFKG** (SEQ ID NO: 30); e

CDR3 **TVRNVMDY** (SEQ ID NO: 11).

[00176] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO:29).

[00177] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO:29) é

GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTTCTGGCAAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGTTTCTGGCTACCCCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAAAAGTGACACTGAATACAACCCGAACTTCAAGGGCAAGGCCAAACTGACTGCAGTCACATCTGCCACCACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAAATGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGTACCTGGACCCACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:31).

[00178] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem um domínio constante de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO:32) e se liga especificamente a B7-H4.

[00179] Os aminoácidos sublinhados e em negrito representam aminoácidos que diferem da sequência mutante.

[00180] Uma outra modalidade provê um domínio constante de cadeia pesada mutante que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO:33)

[00181] Os aminoácidos sublinhados e em negrito representam aminoácidos que diferem da sequência de tipo selvagem.

iv. Cadeia pesada humanizada

[00182] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem um domínio variável de cadeia pesada humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00183] VH1 de B1H1 humanizada:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHW VRQAPGQGLEWIGAIYPGKSDTEYAPKFQGRVTLTADTSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:34)

[00184] VH2 de B1H1 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 35)

[00185] VH3 de B1H1 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 36)

[00186] VH4 de B1H1 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYYMHW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 37)

[00187] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00188] Variante 1 da cadeia pesada B1H1:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHW
VRQAPGQGLEWIGAIYPGKSDTEYAPKFQGRVTLTADTSTSTAYMEL
SSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:38)

[00189] Variante 2 da cadeia pesada B1H1:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHW

VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:39)

[00190] Variante 3 da cadeia pesada B1H1:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:40)

[00191] Variante 4 da cadeia pesada B1H1:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYYMHW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC

LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:41)

[00192] Em uma outra modalidade, o anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo tem uma cadeia pesada humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00193] Variante mutante 1 da cadeia pesada B1H1:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMHW
VRQAPGQGLEWIGAIYPGKSDTEYAPKFQGRVTLTADTSTSTAYMEL
SSLRSEDTAVYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:42);

[00194] Variante mutante 2 da cadeia pesada B1H1:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMFIW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCTSTWmYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:43);

[00195] Variante mutante 3 da cadeia pesada B1H1:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYPFTSYWMFIW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTYVSSASTKGPSVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL
VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:44); e

[00196] Variante mutante 4 da cadeia pesada B1H1:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGVPFTSYYMHW
VRQAPGQGLEWMGAIYPGKSDTEYAQKFQGRVTLTADTSTSTAYME
LSSLRSEDTATYYCTSTWTHYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:45).

[00197] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15 e 16.

[00198] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo

com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 30.

[00199] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 30.

[00200] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:29.

[00201] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID Nos:19, 20, 21, 22, ou 23 e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:34, 35, 36, ou 37. .

[00202] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24,

[00203] 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 38, 39, 40, ou 41.

[00204] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem

uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 42, 43, 44, ou 45.

[00205] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

[00206] Uma outra modalidade provê um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 42, 43, 44, ou 45, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 42, 43, 44, ou 45, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

c. Sequências de B1H3

[00207] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino é produzido pelo clone de hibridoma B1H3 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas e se liga especificamente a B7-H4.

i. Cadeia leve

[00208] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EIOMTOSPSSMSASLGDTITITC**QATQDIVKSLN**WYOO KPGKPPSFLI**YYTTQLAE**GVPSRFSGSGSGSDYSLTISNLDSEDFADYY C**LQFYEFPPT**FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:46)

[00209] As CDRs da SEQ ID NO:46 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **QATQDIVKSLN** (SEQ ID NO: 14);

CDR2 **YYTTQLAE** (SEQ ID NO:47); e

CDR3 **LQFYEFPPT** (SEQ ID NO: 16).

[00210] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO:46).

[00211] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO:46) é

GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTATGTCTG CATCTCTGGGAGACACAATAACCATCACTTGCCAGGCAACTCAAG ACATTGTTAAGAGTTTAAACTGGTATCAACAAAAACCAGGGAAAC CCCCTTCATTCCTGATCTATTATACAACTCAACTGGCAGAAGGGGT CCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGTCAGACTATTCTCTG ACAATCAGCAACCTGGACTCTGAAGATTTTGCAGACTATTACTGTC TACAGTTTTATGAGTTTCCTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCT GGAAATCAAA (SEQ ID NO:48).

ii. Cadeia pesada

[00212] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7-H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFS**SYWMH**W VKORPGOGLEWIG**AIYPGKSDTSYNOKFOG**KAKLTAVTSASTAEME LTSLTNEDSAVYYCTS**TWTHYFDY**WGOGTTLTVSS (SEQ ID NO:49).

[00213] As CDRs da SEQ ID NO:49 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGKSDTEYNPNFKG** (SEQ ID NO:50); e

CDR3 **TVRNVMDY** (SEQ ID NO: 11).

[00214] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO:49).

[00215] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO:49) é

GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTTCTGGCAA GGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACAC CTTTTCCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACA GGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAAAAGTGATACT AGCTACAACCAGAAGTTCCAGGGCAAGGCCAAACTGACTGCAGTC ACATCTGCCAGCACTGCCTTCATGGAGCTCACCAGCCTGACAAATG AGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGTACCTGGACCCACTACTT TGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:51).

[00216] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 16 e 47.

[00217] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 50.

[00218] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 16, e 47, e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 50.

[00219] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:46 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:49.

d. Sequências de B1H10

[00220] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 é produzido pelo clone de hibridoma B1H10 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00221] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

DIOMTOTTSSLSASLGDRVTISC**RASQDISNYLN**WYOO KPDGTIKLLIY**YTSRLHS**GVPSRFSGSGSGSDYSLTISNLEOEDIATYEC **QQGNTLPWT**FGGGTKLEFK (SEQ ID NO:52).

[00222] As CDRs da SEQ ID NO:52 estão em negrito e sublinhadas e

são:

CDR1 **RASQDISNYLN** (SEQ ID NO:53);

CDR2 **YTSRLHS** (SEQ ID NO: 54); e

CDR3 **QQGNTLPWT** (SEQ ID NO:55).

[00223] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO:52).

[00224] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO:52) é

GATATCCAGATGACACAAACTACATCCTCCCTGTCTG
CCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGG
ACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAA
CTATTAAACTCCTGATCTATTACACATCAAGATTACATTCAGGAGT
CCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGATCAGATTATTCTCTC
ACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCC
AACAGGGTAATACGCTTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGC
TGGAATTCAAA (SEQ ID NO:56).

[00225] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem um domínio constante de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ
KPGKTIKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFC
QQGNTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:57)

ii. Cadeia leve B1H10 humanizada

[00226] Em uma outra modalidade, o anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo tem um domínio variável de

cadeia leve humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00227] VL1 de B1H10 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKTIKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFC QQGNTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 58)

[00228] VL2 de B1H10 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYF CQQGNTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:59)

[00229] VL3 de B1H10 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYF CQQGQTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:60)

[00230] VL4 de B1H10 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYF CQQGSTLPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:61)

[00231] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00232] Variante 1 de cadeia leve B1H10 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYF CQQGNTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS

KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:62)

[00233] Variante 2 de cadeia leve B1H10 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYF CQQGQTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:63)

[00234] Variante 3 de cadeia leve B1H10 humanizada:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYF CQQGSTLPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:64)

iii. Cadeia pesada

[00235] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMNW VROSHGKSLEWIGRVNPSNGGTNYNOKFKGKATLTVDKSLSTAYMO LSSLTSEDSAVYYCARRHNYADFWGOGTTLTVSS (SEQ ID NO:65).

[00236] As CDRs da SEQ ID NO:65 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **DYYMN** (SEQ ID NO: 66);

CDR2 **RVNPSNGGTNYNQKFKG** (SEQ ID NO: 67); e

CDR3 **RHNYADF** (SEQ ID NO: 68).

[00237] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO:65).

[00238] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada

(SEQ ID NO: 65) é

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTG
AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATAC
ACATTCACTGACTACTACATGAACTGGGTGAGGCAGAGTCATGGA
AAGAGCCTTGAGTGGATTGGACGTGTTAATCCTAGCAATGGTGGT
ACTAACTACAACCAGAAATTCAAGGGCAAGGCCACATTGACAGTA
GACAAATCCCTCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACA
TCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACGACATAACTACG
CAGACTTCTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 69).

iv. Cadeia pesada B1H10 humanizada

[00239] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de - ligação ao antígeno do mesmo que tem uma variante de domínio variável de cadeia pesada humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00240] VH1 de B1H10 humanizada:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWIGRVNPSNGGTNYAQKFQGRVTLTVDKSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 70)

[00241] VH2 de B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPANGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:71)

[00242] VH3 de B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSSGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 72)

[00243] VH4 de B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSNGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:73)

[00244] VH5 de B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSSGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 74)

[00245] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma variante de cadeia pesada humanizada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00246] Variante 1 de cadeia pesada B1H10 humanizada:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWIGRVNPSNGGTNYAQKFQGRVTLTVDKSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:75)

[00247] Variante 2 de cadeia pesada B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPANGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT

CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:76)

[00248] Variante 3 de cadeia pesada B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSSGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:77)

[00249] Variante 4 de cadeia pesada B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSNGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:78)

[00250] Variante 5 de cadeia pesada B1H10 humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW

VRQAPGQGLEWMGRVNPSSGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:79)

[00251] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma variante de cadeia pesada humanizada mutante que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com uma das seguintes sequências de aminoácidos:

[00252] Variante 1 de cadeia pesada B1H10 mutante humanizada:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWIGRVNPSNGGTNYAQKFQGRVTLTVDKSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:80)

[00253] Variante 2 de cadeia pesada B1H10 mutante humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPANGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA

PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:81)

[00254] Variante 3 de cadeia pesada B1H10 mutante humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSSGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSTSTAYME
LSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:82)

[00255] Variante 4 de cadeia pesada B1H10 mutante humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSNGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:83)

[00256] Variante 5 de cadeia pesada B1H10 mutante humanizada:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGRVNPSSGGTNYAQKFQGRVTLTVDTSKSTAYM
ELSSLRSEDTAVYYCARRHNYADFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA
PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSWTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:84)

[00257] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54 ou 55.

[00258] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 ou 68.

[00259] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54, ou 55, e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 ou 68.

[00260] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 52 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%,

80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:65.

[00261] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:58, 59, 60, ou 61, e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs: 70, 71, 72, 73, ou 74. .

[00262] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 75, 76, 77, 78, ou 79.

[00263] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 83, ou 84.

[00264] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de

identidade de sequência com as SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79.

[00265] Uma outra modalidade provê um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem duas cadeias leves e duas cadeias pesadas, em que as duas cadeias leves incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, e as duas cadeias pesadas incluem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84, ou uma variante do mesmo que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84.

e. Sequências de B2E6

[00266] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 é produzido pelo clone de hibridoma B2E6 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00267] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

ETYMTOSHKIMSTSVGDRYTITCKASODVRTAVAWYO OKPGOSPKLLISSASYOYTGYPDRFTGSGSGTDFTFTISSLOAEDLAVY YCHOYYNTPLTFGAGTKLELR (SEQ ID NO:85).

[00268] As CDRs da SEQ ID NO:85 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **KASQDVRTAVA** (SEQ ID NO:4);

CDR2 **SASYQYT** (SEQ ID NO: 86); e

CDR3 **HQYYNTPLT** (SEQ ID NO: 87).

[00269] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a

cadeia leve (SEQ ID NO:85).

[00270] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO:85) é

GAAACTGTGATGACCCAGTCTCACAAAATCATGTCCA CTTCAGTAGGAGACAGGGTCACCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGG ATGTGAGAACTGCTGTGGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAAT CTCCTAAATTACTAATTTCCTCGGCATCCTACCAATACACTGGAGT CCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTC ACCATCAGCAGTTTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTC ATCAGTATTATAATACTCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCT GGAGCTGAGA (SEQ ID NO:88).

ii. Cadeia pesada

[00271] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFTSYWMHW VKORPGOGLEWIGAIYPGKSDTTYNOKFEGKAKLTAVTSDSTAYMD LSSLTNEDSAVYYCTSSVRNAMDYWGOGTSVTVSS (SEQ ID NO:89).

[00272] As CDRs da SEQ ID NO:89 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGKSDTTYNQKFEG** (SEQ ID NO: 90); e

CDR3 **SVRNAMDY** (SEQ ID NO:91).

[00273] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO:89).

[00274] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO: 89) é

GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTGCTGGCA

AGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTAC
ACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGA
CAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAAAAGTGAT
ACTACCTACAACCAGAAGTTCGAGGGCAAGGCCAAACTGACTGCA
GTCACATCTGACAGCACAGCCTACATGGATCTCAGTAGCCTGACA
AATGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACATCTTCGGTTCGGAATG
CTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO:92).

[00275] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86 e 87.

[00276] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada que tem CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

[00277] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86, e 87, e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

[00278] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:85 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:89.

f. Sequências de B4B3

[00279] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 é produzido pelo clone de hibridoma B4B3 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00280] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

DVLMTOTPLSLPVSLGGOASISCRSSOIIVHSNGNTYLE WYLOKPGOSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED LGVYYCFOGSHVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:93)

[00281] As CDRs da SEQ ID NO:93 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **RSSQIIVHSNGNTYLE** (SEQ ID NO: 94);

CDR2 **KVSNRFS** (SEQ ID NO: 95); e

CDR3 **FQGSHVPWT** (SEQ ID NO: 96).

[00282] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO:93).

[00283] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO:93) é

GATGTTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTG TCAGTCTTGGAGGTCAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAT CATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAG AAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACC GATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGA CAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGG GAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTCACATGTTCCGTGGACGTTCGG TGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA (SEQ ID NO:97).

ii. Cadeia pesada

[00284] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

OVOLOOPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFISYWMHWV KORPGOGLEWIGEIDPSDSYTYYNOKFKGKATLTVDKSSSTAYMOLS SLTSEPSAVYYCARRKTWDWYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO: 98).

[00285] As CDRs da SEQ ID NO:98 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **EIDPSDSYTYYNQKFKG** (SEQ ID NO: 99); e

CDR3 **RKTWDWYFDV** (SEQ ID NO: 100).

[00286] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO:98).

[00287] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO: 98) é

CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGATAC ACCTTCATTAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGA CAAGGCCTTGAGTGGATCGGAGAGATTGATCCTTCTGATAGTTATA CTTACTACAATCAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAG ACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACAT CTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAAGGAAAACCTGGG ACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTCACCGTCTC CTCA (SEQ ID NO: 101).

[00288] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com

as SEQ ID Nos: 94, 95 e 96.

[00289] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

[00290] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 94, 95, e 96, e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

[00291] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 93 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:98.

g. Sequências de B4E11

[00292] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 é produzido pelo clone de hibridoma B4E11 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00293] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

DIVMTOSHKFMSTSVGDRYTITCKASODVSTAVAWYO OKPGOSPKLLISSASYRYTGYPDRFTGSGSGTDFTFTISSVOAEDLAVY YCOOHYSTPTFGGGTKLEIR (SEQ ID NO: 102).

[00294] As CDRs de SEQ ID NO: 102 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **KASQDVSTAVA** (SEQ ID NO: 103);

CDR2 **SASYRYT** (SEQ ID NO: 104); e

CDR3 **QQHYSTPT** (SEQ ID NO: 105).

[00295] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO: 102).

[00296] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO: 102) é

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCA CATCAGTAGGAGACAGGGTCACTATCACCTGCAAGGCCAGTCAGG ATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGACAGT CTCCTAAACTACTGATTTCCTCGGCATCCTACCGGTACACTGGAGT CCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTC ACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTC AGCAACATTATAGTACTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGG AAATCAGA (SEQ ID NO: 106).

ii. Cadeia pesada

[00297] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFTSYWMHW VKERPGOGLEWIGAIYPGDSDTRYNOKFKGRAKLTAVTSANTAYME LSSLTNDDSAVFYCTCTTAGVLDYWGOGTSVTVSS (SEQ ID NO: 107).

[00298] As CDRs de SEQ ID NO: 107 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **SYWMH** (SEQ ID NO: 9);

CDR2 **AIYPGDSDTRYNQKFKG** (SEQ ID NO: 108); e

CDR3 **TTAGVLDY** (SEQ ID NO: 109).

[00299] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO: 107).

[00300] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO: 107) é

GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTGCTGGCA
AGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTAC
ACCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAAAGAGAGGCCTGGA
CAGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAGATAGTGATA
CTAGGTATAATCAGAAGTTCAAGGGCAGGGCCAAACTGACTGCAG
TCACATCTGCCAACACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAA
ATGATGACTCTGCGGTCTTCTACTGTACATGTACTACGGCTGGTGT
TTTGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 110).

[00301] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104 e 105.

[00302] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

[00303] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104, e 105, e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

[00304] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao

antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 102 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 107.

h. Sequências de B6C8

[00305] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 é produzido pelo clone de hibridoma B6C8 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00306] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

DVVMTOTPLSLPVSLGDOASISCTSSOSIVHGNGNTYLE WYLOKPGOSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAED LGVYYCFOGSHVPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 111).

[00307] As CDRs de SEQ ID NO: 111 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **TSSQSIVHGNGNTYLE** (SEQ ID NO: 112);

CDR2 **KVSNRFS** (SEQ ID NO: 95); e

CDR3 **FQGSHVPYT** (SEQ ID NO: 113).

[00308] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO: 111).

[00309] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO: 111) é

GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTG TCAGTCTTGGAGATCAGGCCTCCATCTCTTGCACATCTAGTCAGAG CATTGTACATGGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAG

AAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACC
GATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGA
CAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGG
GAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTCACATGTTCCGTACACGTTCGG
AGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 114).

ii. Cadeia pesada

[00310] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

OVOLOOPGAELVKPGASVKLSCKASGYSFTSYWMNW
VKORPGRGLEWIGRIHPSnSFTHYNOKFKSKATLTVDKSSSTAYIOLSS
LTSEPSAVYFCARYGLFYGNDGYAMDHWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 115).

[00311] As CDRs de SEQ ID NO: 115 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **SYWMN** (SEQ ID NO: 116);

CDR2 **RIHPSDSETHYNQKFKS** (SEQ ID NO: 117); e

CDR3 **YGLFYGNDGYAMDH** (SEQ ID NO: 118)

[00312] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO: 115).

[00313] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO: 115) é

CAGGTCCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGTG
AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACT
CTTTCACCAGCTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGAC
GAGGCCTCGAGTGGATTGGAAGGATTCATCCTTCTGATAGTGAAA
CTCACTACAATCAAAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAG
ACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATCCAACTCAGCAGCCTGACAT

CTGAGGACTCTGCGGTCTATTTTTGTGCAAGATACGGGCTCTTCTA TGGTAACGACGGATATGCTATGGACCACTGGGGTCAAGGAACCTC AG (SEQ ID NO: 119).

[00314] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 97, 116 e 117.

[00315] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 118, 119 e 120.

[00316] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos:97, 114, e 115, e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 118, 119 e 120.

[00317] Uma modalidade provê um anticorpo, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:113 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 117.

i. Sequências de B9H1

[00318] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 é produzido pelo clone de hibridoma B9H1 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00319] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia

leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

DIOMTOTTSSLSASLGDRVTISCRASODISFYLNWYOOK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEOEDIATYEC OOGNTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 120).

[00320] As CDRs de SEQ ID NO: 120 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 **RASQDISFYLN** (SEQ ID NO: 121);

CDR2 **YTSRLHS** (SEQ ID NO: 54); e

CDR3 **QQGNTLPWT** (SEQ ID NO:55).

[00321] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a cadeia leve (SEQ ID NO: 120).

[00322] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO: 120) é

GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTG CCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGG ACATTAGCTTTTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAC TGTTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTC CCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCA CCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCA ACAGGGTAATACACTTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCT GGAAATCAAA (SEQ ID NO: 122).

ii. Cadeia pesada

[00323] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMNW VKOSHGKSLEWIGRVNPSNGGTS YN OKFKGK ATLTVDKSL S

AAYMOLN SLT SEP S AVYY C ARRHNYPD YW GOGTTL TVSS (SEQ ID NO: 123).

[00324] As CDRs de SEQ ID NO: 123 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 DYYMN (SEQ ID NO: 66);

CDR2 RVNPSN GGTS YN QKFKG (SEQ ID NO: 124); e

CDR3 RHNYPDY (SEQ ID NO: 125).

[00325] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO: 125).

[00326] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO: 125) é

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAACTGGTG AAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATAC ACATTCACTGACTACTACATGAACTGGGTGAAGCAGAGTCATGGA AAGAGCCTTGAGTGGATTGGACGTGTTAATCCTAGCAATGGTGGT ACTAGCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACAGTA GACAAATCCCTCAGCGCAGCCTATATGCAGCTCAACAGCCTGACA TCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAAGGCATAACTACC CTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 126).

[00327] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 54, 55 e 121.

[00328] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

[00329] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4,

preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 54, 55, e 121, e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

[00330] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 120 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 123.

j. Sequências de B10D7

[00331] Em uma modalidade, um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 é produzido pelo clone de hibridoma B10D7 e contém duas cadeias leves e duas cadeias pesadas.

i. Cadeia leve

[00332] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EIOMTOSPSSMSASLGDRITITCOATODIVKSLNWYOOK PGKPPSFLIYYTAOLAEGVPSRFSGSGSGSDYSLTISNLESEDFADYYC LOFYEFPPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 13).

[00333] As CDRs de SEQ ID NO: 13 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 QATQDIVKSLN (SEQ ID NO: 14);

CDR2 YTAQLAE (SEQ ID NO: 15); e

CDR3 LQFYEFPPT (SEQ ID NO: 16).

[00334] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica a

cadeia leve (SEQ ID NO:13).

[00335] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia leve (SEQ ID NO: 13) é

GAAATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTATGTCTG
CATCTCTGGGAGACAGAATAACCATCACTTGCCAGGCAACTCAAG
ACATTGTTAAGAGTTTAAACTGGTATCAACAAAAACCAGGGAAAC
CCCCTTCATTCCTGATCTATTATACAGCTCAACTGGCAGAAGGGGT
CCCGTCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGTCAGACTATTCTCTG
ACAATCAGCAACCTGGAGTCTGAAGATTTTGCAGACTATTACTGTC
TACAGTTTTATGAGTTTCCTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCT
GGAAATCAA (SEQ ID NO: 127).

ii. Cadeia pesada

[00336] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal murino anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a seguinte sequência de aminoácidos:

EVOLOOSGTVLARPGASVKMSCKASGYPFTSYWMHW
VKORPGOGLEWIGAIYPGNSD
TRYNPNFKGKANLTAVTSATTAYMELSSLTNEESAVYYCTSTWTHYF
DYWGOGTTLT VSS (SEQ ID NO: 128).

[00337] As CDRs de SEQ ID NO: 128 estão em negrito e sublinhadas e são:

CDR1 SYWMH (SEQ ID NO: 9);

CDR2 AIYPGN SDTRYNPNFKG (SEQ ID NO: 129); e

CDR3 TWTHYFDY (SEQ ID NO: 130).

[00338] Uma outra modalidade provê um ácido nucleico que codifica uma cadeia pesada (SEQ ID NO: 128).

[00339] Um ácido nucleico exemplificativo que codifica cadeia pesada (SEQ ID NO: 130) é

GAGGTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTGCTGGCA
AGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACC
CCTTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTAAAGCAGAGGCCTGGAC
AGGGTCTGGAATGGATTGGCGCTATTTATCCTGGAAATAGTGATAC
TAGGTACAACCCGAATTTCAAGGGCAAGGCCAACCTGACTGCAGT
CACATCTGCCACCACTGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACAAA
TGAGGAATCTGCGGTCTATTACTGTACAAGTACCTGGACCCACTAC
TTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 131).

[00340] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15 e 16.

[00341] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129 e 130.

[00342] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129 e 130.

[00343] Uma modalidade provê um anticorpo anti-B7H4, preferivelmente um anticorpo monoclonal, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 128.

2. Composições de anticorpo

[00344] As moléculas de ligação a B7-H4 descritas podem ser anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos. Os anticorpos descritos e fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos incluem imunoglobulina inteira (ou seja, um anticorpo intacto) de qualquer classe, fragmentos dos mesmos e proteínas sintéticas contendo pelo menos o domínio variável de ligação ao antígeno de um anticorpo. Em algumas modalidades, a molécula descrita contém uma cadeia leve de anticorpo, bem como pelo menos o domínio variável de uma cadeia pesada de anticorpo. Em outras modalidades, tais moléculas podem incluir adicionalmente uma ou mais das regiões CH1, dobradiça, CH2, CH3 e CH_4 da cadeia pesada (especialmente, as regiões CH1 e dobradiça, ou as regiões CH1, dobradiça e CH2, ou as regiões CH1, dobradiça, CH2 e CH3). O anticorpo pode ser selecionado de qualquer classe de imunoglobulinas, incluindo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, e qualquer isótipo, incluindo IgG1, IgG2, IgG_3 e IgG_4. Em algumas modalidades, o domínio constante é um domínio constante de fixação do complemento onde é desejado que o anticorpo apresente atividade citotóxica e a classe é tipicamente IgG1. Em outras modalidades, onde tal atividade citotóxica não é desejável, o domínio constante pode ser da classe IgG2 ou IgG_4. O anticorpo pode incluir sequências de mais de uma classe ou isóotipo, e a seleção de domínios constantes particulares para otimizar as funções efetoras desejadas está dentro da habilidade comum na técnica.

[00345] Os domínios variáveis diferem na sequência entre os anticorpos e são usados na ligação e especificidade de cada anticorpo particular para seu antígeno particular. No entanto, a variabilidade geralmente não é distribuída uniformemente pelos domínios variáveis de anticorpos. É tipicamente concentrado em três segmentos chamados regiões determinantes de complementaridade (CDRs) ou regiões hipervariáveis, nos domínios variáveis tanto da cadeia leve quanto da cadeia pesada. As porções mais

conservadas dos domínios variáveis são chamadas de molde (FR). Os domínios variáveis das cadeias pesadas e leves nativas compreendem, cada um, quatro regiões FR, amplamente adotando uma configuração de folha beta, conectada por três CDRs, que formam laços que conectam e, em alguns casos, fazem parte da estrutura da folha beta. As CDRs em cada cadeia são mantidas juntas em estreita proximidade pelas regiões FR e, com as CDRs da outra cadeia, contribuem para a formação do local de ligação ao antígeno dos anticorpos.

[00346] Também são descritos fragmentos de anticorpos que têm bioatividade. Os fragmentos, sejam anexados a outras sequências ou não, incluem inserções, deleções, substituições ou outras modificações selecionadas de regiões particulares ou resíduos de aminoácidos específicos, desde que a atividade do fragmento não seja significativamente alterada ou prejudicada em comparação com o anticorpo não modificado ou fragmento de anticorpo.

[00347] As técnicas também podem ser adaptadas para a produção de anticorpos de cadeia única específicos para B7-H4. Os métodos para a produção de anticorpos de cadeia única são bem conhecidos dos versados na técnica. Um anticorpo de cadeia única pode ser criado fundindo os domínios variáveis das cadeias pesadas e leves usando um ligante peptídico curto, reconstituindo assim um local de ligação ao antígeno em uma única molécula. Fragmentos variáveis de anticorpo de cadeia única (scFvs) em que o terminal C de um domínio variável é amarrado ao terminal N do outro domínio variável através de um peptídeo ou ligante de 15 a 25 aminoácidos foram desenvolvidos sem interromper significativamente a ligação ao antígeno ou especificidade da ligação. O ligante é escolhido para permitir que a cadeia pesada e a cadeia leve se liguem em sua orientação conformacional adequada.

[00348] Fragmentos variáveis de cadeia única divalentes (di-scFvs) podem ser projetados ligando dois scFvs. Isso pode ser feito pela produção de

uma única cadeia peptídica com duas regiões VH e duas VL, produzindo scFvs em tandem. Os ScFvs também podem ser projetados com peptídeos de ligação que são muito curtos para as duas regiões variáveis se dobrarem (cerca de cinco aminoácidos), forçando os scFvs a dimerizar. Esse tipo é conhecido como diacorpos. Foi demonstrado que os diacorpos têm constantes de dissociação até 40 vezes mais baixas do que os scFvs correspondentes, o que significa que eles têm uma afinidade muito maior com seu alvo. Ligantes ainda mais curtos (um ou dois aminoácidos) levam à formação de trímeros (triacorpos ou tricorpos). Tetracorpos também foram produzidos. Eles apresentam uma afinidade ainda maior com seus alvos do que diacorpos.

[00349] Uma modalidade provê um anticorpo monoclonal obtido a partir de uma população substancialmente homogênea de anticorpos, isto é, os anticorpos individuais dentro da população são idênticos, exceto por possíveis mutações de ocorrência natural que podem estar presentes em um pequeno subconjunto das moléculas de anticorpo. Os anticorpos monoclonais incluem anticorpos “quiméricos” em que uma porção da cadeia pesada e/ou leve é idêntica ou homóloga às sequências correspondentes em anticorpos derivados de uma espécie particular ou pertencentes a uma classe ou subclasse de anticorpo particular, enquanto o restante da(s) cadeia(s) é idêntico ou homólogo às sequências correspondentes em anticorpos derivados de outra espécie ou pertencentes a outra classe ou subclasse de anticorpos, bem como fragmentos de tais anticorpos, desde que apresentem a atividade antagonista desejada.

[00350] Uma modalidade provê anticorpos e fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos, que se ligam especificamente a B7-H4 humano.

[00351] Uma modalidade provê anticorpos produzidos por um hibridoma do grupo que consiste em B1A1, B1H1, B1H3, B1H10, B2E6, B4B2, B4E11, B6C8, B9H1 e B10D7.

a. Anticorpos

[00352] O agente imunomodulador pode ser um anticorpo. Os anticorpos adequados são conhecidos na técnica ou podem ser preparados por um versado na técnica. As sequências de ácidos nucleicos e polipeptídeos para B7-H4 são conhecidas na técnica e sequências de proteínas exemplificativas são providas acima. As sequências podem ser usadas, conforme discutido em mais detalhes abaixo, por um versado na técnica para preparar um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo específico para B7-H4. O anticorpo, ou fragmento de ligação ao antígeno, portanto, pode ser um agonista ou antagonista da sinalização de B7-H4.

[00353] A atividade (isto é, agonista ou antagonista) de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que é específico para B7-H4 pode ser determinada usando ensaios funcionais que são conhecidos na técnica e incluem os ensaios discutidos abaixo. Tipicamente, os ensaios incluem determinar se o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo aumenta (ou seja, agonista) ou diminui (ou seja, antagonista) a sinalização através de B7-H4. Como a transdução de sinal de B7-H4 resulta em uma resposta imune supressora, a agonização de B7-H4 causa uma resposta imune suprimida ou reduzida. A sinalização antagonizante de B7-H4 inibe a resposta imunossupressora, resultando em um aumento geral da resposta imune.

[00354] Em algumas modalidades, os anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno descritos se ligam imunoespecificamente a B7-H4. Em algumas modalidades, o anticorpo se liga a um domínio extracelular de B7-H4.

[00355] Por exemplo, são providas moléculas que podem se ligar imunoespecificamente a B7-H4:

(I) arranjada na superfície de uma célula (especialmente uma célula viva);

(II) arranjada na superfície de uma célula (especialmente uma

célula viva) a uma concentração endógena;

(III) arranjada na superfície de uma célula viva, e modula a ligação entre B7-H4 e um ligante da mesma;

(IV) arranjada na superfície de uma célula viva, e reduz ou inibe a supressão imunológica por B7-H4;

(V) arranjada na superfície de uma célula viva, e induz ou intensifica a supressão imunológica por B7-H4;

(VI) arranjada na superfície de uma célula viva, em que a célula é uma célula tumoral;

(VII) combinações de I-IV e VI;

(VIII) combinações de I-III e V-IV; e

(IX) arranjada na superfície de células cancerosas derivadas de mieloides ou linfoides vivas (AML ou ALL), e intensifica a apoptose e a diferenciação, resultando na redução da autorrenovação de células-tronco cancerosas.

[00356] Em algumas modalidades, as moléculas são capazes de induzir citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), citotoxicidade dependente de complemento (CDC) ou apoptose celular através de outros mecanismos de células que expressam B7-H4.

[00357] Para preparar um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a B7-H4, podem ser usadas proteínas purificadas, polipeptídeos, fragmentos, fusões ou epítopos para B7-H4 ou polipeptídeos expressos a partir das sequências de ácidos nucleicos dos mesmos. Os anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos podem ser preparados usando quaisquer métodos adequados conhecidos na técnica, tais como aqueles discutidos em mais detalhes abaixo.

i. Anticorpos humanos e humanizados

[00358] Muitos anticorpos não humanos (por exemplo, aqueles derivados de camundongos, ratos ou coelhos) são naturalmente antigênicos

em humanos e, portanto, podem dar origem a respostas imunes indesejáveis quando administrados a humanos. Portanto, o uso de anticorpos humanos ou humanizados nos métodos serve para diminuir a chance de que um anticorpo administrado a um ser humano evoque uma resposta imunológica indesejável.

[00359] Animais transgênicos (por exemplo, camundongos) que são capazes, após imunização, de produzir um repertório completo de anticorpos humanos na ausência de produção de imunoglobulina endógena podem ser utilizados. Por exemplo, foi descrito que a deleção homozigótica do gene da região de união da cadeia pesada do anticorpo (J(H)) em camundongos mutantes quiméricos e da linhagem germinativa resulta na inibição completa da produção de anticorpos endógenos. A transferência da série de genes de imunoglobulina da linhagem germinativa humana em tais camundongos mutantes da linhagem germinativa resultará na produção de anticorpos humanos após o desafio com antígeno.

[00360] Opcionalmente, os anticorpos são gerados em outras espécies e "humanizados" para administração em humanos. As formas humanizadas de anticorpos não humanos (por exemplo, murinos) são imunoglobulinas quiméricas, cadeias de imunoglobulinas ou fragmentos das mesmas (tais como Fv, Fab, Fab', F(ab')2 ou outras subsequências de ligação ao antígeno de anticorpos) que contêm uma sequência mínima derivada de imunoglobulina não humana. Os anticorpos humanizados incluem imunoglobulinas humanas (anticorpo receptor) em que os resíduos de uma região determinante de complementaridade (CDR) do anticorpo receptor são substituídos por resíduos de uma CDR de uma espécie não humana (anticorpo doador), como camundongo, rato ou coelho tendo especificidade, afinidade e capacidade desejadas. Em alguns casos, os resíduos de molde Fv da imunoglobulina humana são substituídos por resíduos não humanos correspondentes. Os anticorpos humanizados também podem conter resíduos que não são encontrados nem no anticorpo receptor nem na CDR importada

ou nas sequências de molde. Em geral, o anticorpo humanizado conterá substancialmente todos de pelo menos um, e tipicamente dois, domínios variáveis, em que todas ou substancialmente todas as regiões CDR correspondem às de uma imunoglobulina não humana e todas ou substancialmente todas as regiões FR são aquelas de uma sequência consenso de imunoglobulina humana. O anticorpo humanizado idealmente também conterá pelo menos uma porção de uma região constante de imunoglobulina (Fc), tipicamente a de uma imunoglobulina humana.

[00361] Os métodos para humanizar anticorpos não humanos são bem conhecidos na técnica. Geralmente, um anticorpo humanizado tem um ou mais resíduos de aminoácidos introduzidos nele de uma fonte que não é humana. Esses resíduos de aminoácidos não humanos são frequentemente chamados de resíduos de “importação”, que são tipicamente retirados de um domínio variável de “importação”. As técnicas de humanização de anticorpos geralmente envolvem o uso de tecnologia de DNA recombinante para manipular a sequência de DNA que codifica uma ou mais cadeias polipeptídicas de uma molécula de anticorpo. A humanização pode ser essencialmente realizada substituindo CDRs ou sequências de CDR de roedor pelas sequências correspondentes de um anticorpo humano. Consequentemente, uma forma humanizada de um anticorpo não humano (ou um fragmento do mesmo) é um anticorpo ou fragmento quimérico, em que substancialmente menos do que um domínio variável humano intacto foi substituído pela sequência correspondente de uma espécie não humana. Na prática, os anticorpos humanizados são tipicamente anticorpos humanos em que alguns resíduos de CDR e possivelmente alguns resíduos de FR são substituídos por resíduos de locais análogos em anticorpos de roedores.

[00362] A escolha dos domínios variáveis humanos, tanto leves quanto pesados, a serem usados na produção dos anticorpos humanizados é muito importante para reduzir a antigenicidade. De acordo com o método de

“melhor ajuste”, a sequência do domínio variável de um anticorpo de roedor é rastreada contra toda a biblioteca de sequências de domínios variáveis humanos conhecidas. A sequência humana que está mais próxima daquela do roedor é então aceita como o molde humano (FR) para o anticorpo humanizado. Outro método usa um molde particular derivado da sequência de consenso de todos os anticorpos humanos de um subgrupo particular de cadeias leves ou pesadas. O mesmo molde pode ser usado para vários anticorpos humanizados diferentes.

[00363] É ainda importante que os anticorpos sejam humanizados com retenção de alta afinidade para o antígeno e outras propriedades biológicas favoráveis. Para atingir esse objetivo, os anticorpos humanizados podem ser preparados por um processo de análise das sequências parentais e vários produtos humanizados conceituais usando modelos tridimensionais das sequências parentais e humanizadas. Modelos tridimensionais de imunoglobulina estão comumente disponíveis e são familiares para aqueles versados na técnica. Estão disponíveis programas de computador que ilustram e apresentam estruturas conformacionais tridimensionais prováveis de sequências de imunoglobulina candidatas selecionadas.

[00364] A inspeção dessas exibições permite a análise do papel provável dos resíduos no funcionamento da sequência de imunoglobulina candidata, isto é, a análise de resíduos que influenciam a capacidade da imunoglobulina candidata para se ligar ao seu antígeno. Dessa forma, os resíduos de FR podem ser selecionados e combinados a partir do consenso e da sequência de importação de modo que a característica de anticorpo desejada, tal como afinidade aumentada para o(s) antígeno(s) alvo, seja alcançada. Em geral, os resíduos de CDR estão direta e substancialmente envolvidos na influência da ligação ao antígeno.

[00365] O anticorpo pode ser ligado a um substrato ou marcado com uma porção detectável ou tanto ligado quanto marcado. As porções

detectáveis contempladas com as presentes composições incluem marcadores fluorescentes, enzimáticos e radioativos.

ii. Anticorpos de cadeia única

[00366] Os métodos para a produção de anticorpos de cadeia única são bem conhecidos dos versados na técnica. Um anticorpo de cadeia única é criado fundindo os domínios variáveis das cadeias pesadas e leves usando um ligante peptídico curto, reconstituindo assim um local de ligação ao antígeno em uma única molécula. Fragmentos variáveis de anticorpo de cadeia única (scFvs) em que o terminal C de um domínio variável é amarrado ao terminal N do outro domínio variável através de um peptídeo ou ligante de 15 a 25 aminoácidos foram desenvolvidos sem interromper significativamente a ligação ao antígeno ou especificidade da ligação. O ligante é escolhido para permitir que a cadeia pesada e a cadeia leve se liguem em sua orientação conformacional adequada. Esses Fvs não possuem as regiões constantes (Fc) presentes nas cadeias pesada e leve do anticorpo nativo.

iii. Anticorpos monovalentes

[00367] Os métodos *in vitro* também são adequados para a preparação de anticorpos monovalentes. A digestão de anticorpos para produzir seus fragmentos, particularmente fragmentos Fab, pode ser realizada usando técnicas de rotina conhecidas na técnica. Por exemplo, a digestão pode ser realizada usando papaína. A digestão de anticorpos com papaína normalmente produz dois fragmentos de ligação ao antígeno idênticos, chamados fragmentos Fab, cada um com um único local de ligação ao antígeno e um fragmento Fc residual. O tratamento com pepsina produz um fragmento, denominado fragmento F(ab')2, que tem dois locais de combinação de antígeno e ainda é capaz de reticular o antígeno.

[00368] Os fragmentos Fab produzidos na digestão do anticorpo também contêm os domínios constantes da cadeia leve e o primeiro domínio constante da cadeia pesada. Os fragmentos Fab' diferem dos fragmentos Fab

pela adição de alguns resíduos no terminal carbóxi do domínio da cadeia pesada, incluindo uma ou mais cisteínas da região de dobradiça do anticorpo. O fragmento F(ab')2 é um fragmento bivalente que compreende dois fragmentos Fab' ligados por uma ponte dissulfeto na região de dobradiça. Fab'-SH é a designação aqui para Fab' em que o(s) resíduo(s) de cisteína dos domínios constantes carregam um grupo tiol livre. Os fragmentos de anticorpos foram produzidos originalmente como pares de fragmentos Fab' que têm cisteínas de dobradiça entre eles. Outros acoplamentos químicos de fragmentos de anticorpos também são conhecidos.

iv. Anticorpos híbridos

[00369] O anticorpo pode ser um anticorpo híbrido. Em anticorpos híbridos, um par de cadeia pesada e leve é homólogo ao encontrado em um anticorpo criado contra um epítopo, enquanto o outro par de cadeia pesada e leve é homólogo a um par encontrado em um anticorpo criado contra outro epítopo. Isso resulta na propriedade de valência multifuncional, isto é, capacidade de ligar pelo menos dois epítopos diferentes simultaneamente. Esses híbridos podem ser formados por fusão de hibridomas que produzem os respectivos anticorpos componentes, ou por técnicas recombinantes. Esses híbridos podem, é claro, também ser formados usando cadeias quiméricas.

v. Conjugados ou fusões de fragmentos de anticorpos

[00370] A função de alvejamento do anticorpo pode ser usada terapeuticamente por acoplamento do anticorpo ou um fragmento do mesmo com um agente terapêutico. Tal acoplamento do anticorpo ou fragmento (por exemplo, pelo menos uma porção de uma região constante de imunoglobulina (Fc)) com o agente terapêutico pode ser alcançado fazendo um imunoconjugado ou fazendo uma proteína de fusão, compreendendo o anticorpo ou fragmento de anticorpo e o agente terapêutico.

[00371] Tal acoplamento do anticorpo ou fragmento com o agente terapêutico pode ser alcançado fazendo um imunoconjugado ou fazendo uma

proteína de fusão, ou ligando o anticorpo ou fragmento a um ácido nucleico, tal como um siRNA, compreendendo o anticorpo ou fragmento de anticorpo e o agente.

[00372] Em algumas modalidades, o anticorpo é modificado para alterar sua meia-vida. Em algumas modalidades, é desejável aumentar a meia-vida do anticorpo de modo que esteja presente na circulação ou no local do tratamento por longos períodos de tempo. Por exemplo, pode ser desejável manter os títulos do anticorpo na circulação ou no local a ser tratado por longos períodos de tempo. Os anticorpos podem ser engenheirados com variantes Fc que estendem a meia-vida, por exemplo, usando a tecnologia de prolongamento da meia-vida do anticorpo Xtend™ (Xencor, Monrovia, CA). Em outras modalidades, a meia-vida do anticorpo anti-DNA é diminuída para reduzir os efeitos colaterais potenciais. Os conjugados descritos podem ser usados para modificar uma determinada resposta biológica. A fração do fármaco não deve ser interpretada como limitada a agentes terapêuticos químicos clássicos. Por exemplo, a fração de fármaco pode ser uma proteína ou polipeptídeo possuindo uma atividade biológica desejada. Essas proteínas podem incluir, por exemplo, uma toxina, como abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas ou toxina da difteria.

vi. Anticorpos B7H4 exemplificativos

[00373] Anticorpos B7H4 exemplificativos ou fragmentos de ligação ao antígeno são descritos aqui. Os anticorpos podem incluir uma ou mais cadeias pesadas e uma ou mais cadeias leves de anticorpo B1H1 ou B1H10 de camundongo anti-B7H4 humano. Em algumas modalidades, o anticorpo B7H45 inclui algumas ou todas as CDRs da cadeia leve, toda a região variável da cadeia leve, algumas ou todas as CDRs da cadeia pesada, toda a região variável da cadeia pesada ou uma combinação das mesmas de qualquer um dos anticorpos B1H1 ou B1H10 anti-B7H4 humano. Combinações exemplificativas são descritas abaixo.

[00374] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

[00375] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

[00376] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

[00377] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

[00378] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que tem uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

[00379] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

[00380] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

[00381] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno

do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

[00382] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

[00383] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

[00384] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

[00385] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

[00386] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

[00387] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

[00388] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de

acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

[00389] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

[00390] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

[00391] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

[00392] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

[00393] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

[00394] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

[00395] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de

aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

[00396] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

[00397] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

[00398] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

[00399] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

[00400] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

[00401] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

[00402] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

[00403] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

[00404] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

[00405] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

[00406] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

[00407] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

[00408] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

[00409] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

[00410] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno

do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

[00411] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

[00412] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

[00413] Um anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo com uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

2. Proteínas e polipeptídeos

a. Composições de proteína e polipeptídeo

[00414] O agente imunomodulador pode ser uma proteína, polipeptídeo ou proteína de fusão. Por exemplo, o agente imunomodulador pode ser uma proteína ou polipeptídeo isolado ou recombinante, ou fragmento funcional, variante ou proteína de fusão do mesmo de B7-H4.

[00415] A proteína ou polipeptídeo, ou fragmento funcional, variante ou proteína de fusão do mesmo pode ser um agonista ou um antagonista. Por exemplo, em algumas modalidades, um antagonista de B7-H4 é um polipeptídeo B7-H4 ou um fragmento ou proteína de fusão do mesmo que se liga a um ligante de B7-H4. O polipeptídeo pode ser um fragmento solúvel, por exemplo, o domínio extracelular de B7-H4, ou um fragmento funcional do mesmo, ou uma proteína de fusão do mesmo. Em algumas modalidades, um ligante solúvel de B7-H4 pode servir como um agonista, aumentando a

transdução de sinal através de B7-H4.

[00416] A atividade (isto é, agonista ou antagonista) de uma proteína ou polipeptídeo de B7-H4, ou qualquer fragmento, variante ou proteína de fusão do mesmo pode ser determinada usando ensaios funcionais que são conhecidos na técnica e incluem os ensaios discutidos abaixo. Tipicamente, os ensaios incluem determinar se a proteína, polipeptídeo ou fragmento, variante ou proteína de fusão do mesmo aumenta (ou seja, agonista) ou diminui (ou seja, antagonista) a sinalização através do receptor B7-H4. Em algumas modalidades, o ensaio inclui determinar se a proteína, polipeptídeo ou fragmento, variante ou proteína de fusão do mesmo aumenta (ou seja, agonista) ou diminui (ou seja, antagonista) a resposta imune associada a B7-H4. Tipicamente, os ensaios incluem determinar se a proteína, polipeptídeo ou fragmento, variante ou proteína de fusão do mesmo aumenta (ou seja, agonista) ou diminui (ou seja, antagonista) a sinalização através de B7-H4. Em algumas modalidades, os ensaios incluem determinar se a proteína, polipeptídeo ou fragmento, variante ou proteína de fusão do mesmo diminui (ou seja, agonista) ou aumenta (ou seja, antagonista) uma resposta imune regulada negativamente por B7-H4. Em algumas modalidades, o ensaio inclui determinar se a proteína, polipeptídeo ou fragmento, variante ou proteína de fusão do mesmo aumenta (isto é, antagonista) a apoptose e diferenciação de células de leucemia mieloide aguda e células de leucemia linfoblástica aguda, resultando em capacidade de autorrenovação reduzida de células-tronco de LMA e LLA.

[00417] As sequências de ácidos nucleicos e polipeptídeos para B7-H4 são conhecidas na técnica e sequências de proteínas e peptídeos exemplificativas são providas acima. As sequências podem ser usadas, conforme discutido em mais detalhes abaixo, por um versado na técnica para preparar qualquer proteína ou polipeptídeo de B7-H4, ou qualquer fragmento, variante ou proteína de fusão do mesmo. Geralmente, as proteínas,

polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas de B7-H4 são expressos a partir de ácidos nucleicos que incluem sequências que codificam uma sequência de sinal. A sequência de sinal é geralmente clivada do polipeptídeo imaturo para produzir o polipeptídeo maduro sem a sequência de sinal. A sequência de sinal pode ser substituída pela sequência de sinal de outro polipeptídeo usando técnicas de biologia de molécula padrão para afetar os níveis de expressão, secreção, solubilidade ou outra propriedade das proteínas polipeptídicas B7-H4 com e sem uma sequência de sinal. Entende-se que, em alguns casos, a proteína madura como é conhecida ou descrita na técnica, isto é, a sequência da proteína sem a sequência de sinal, é uma proteína madura putativa. Durante a expressão de células normais, uma sequência de sinal pode ser removida por uma peptidase celular para produzir uma proteína madura. A sequência da proteína madura pode ser determinada ou confirmada usando métodos que são conhecidos na técnica.

1. Fragmentos

[00418] Como usado aqui, um fragmento de B7-H4 refere-se a qualquer subconjunto do polipeptídeo que é pelo menos um aminoácido mais curto do que a proteína de comprimento total. Fragmentos úteis incluem aqueles que retêm a capacidade de se ligarem ao seu ligante ou ligantes naturais. Um polipeptídeo que é um fragmento de qualquer B7-H4 de comprimento total tipicamente tem pelo menos 20 por cento, 30 por cento, 40 por cento, 50 por cento, 60 por cento, 70 por cento, 80 por cento, 90 por cento, 95 por cento, 98 por cento, 99 por cento, 100 por cento, ou mesmo mais de 100 por cento da capacidade de ligar seu ligante natural, respectivamente, em comparação com a proteína de comprimento total.

[00419] Fragmentos de B7-H4 incluem fragmentos livres de células. Os polipeptídeos livres de células podem ser fragmentos de polipeptídeos transmembranas de comprimento total que podem ser eliminados, secretados ou de outra forma extraídos das células produtoras. Os fragmentos livres de

células de polipeptídeos podem incluir algum ou todo o domínio extracelular do polipeptídeo e não ter alguns ou todos os domínios intracelulares e/ou transmembranas da proteína de comprimento total. Em uma modalidade, os fragmentos de polipeptídeos incluem todo o domínio extracelular da proteína de comprimento total. Em outras modalidades, os fragmentos livres de células dos polipeptídeos incluem fragmentos do domínio extracelular que retêm a atividade biológica da proteína de comprimento total. O domínio extracelular pode incluir 1, 2, 3, 4 ou 5 aminoácidos contíguos do domínio transmembrana e/ou 1, 2, 3, 4 ou 5 aminoácidos contíguos da sequência de sinal. Alternativamente, o domínio extracelular pode ter 1, 2, 3, 4, 5 ou mais aminoácidos removidos do terminal C, terminal N ou ambos. Em algumas modalidades, o domínio extracelular é o único domínio funcional do fragmento (por exemplo, o domínio de ligação ao ligante).

ii. Variantes

[00420] Variantes de B7-H4 e seus fragmentos também são providos. Em algumas modalidades, a variante é pelo menos 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 ou 99 por cento idêntica a qualquer uma das SEQ ID NO: 1. Variantes úteis incluem aquelas que aumentam a atividade biológica, conforme indicado por qualquer um dos ensaios aqui descritos, ou que aumentam a meia-vida ou estabilidade da proteína. A proteína e os polipeptídeos de B7-H4, e fragmentos, variantes e proteínas de fusão dos mesmos podem ser modificados para aumentar a atividade biológica. Por exemplo, em algumas modalidades, um polipeptídeo B7-H4, proteína ou fragmento, variante ou fusão do mesmo foi modificado com pelo menos uma substituição, deleção ou inserção de aminoácido que aumenta uma função do mesmo.

[00421] Por fim, polipeptídeos variantes podem ser engenheirados para ter uma meia-vida aumentada em relação ao tipo selvagem. Essas variantes são normalmente modificadas para resistir à degradação enzimática.

Modificações exemplificativas incluem resíduos de aminoácidos modificados e ligações peptídicas modificadas que resistem à degradação enzimática. Várias modificações para conseguir isso são conhecidas na técnica. As variantes podem ser modificadas para ajustar os efeitos de afinidade para o receptor na meia-vida de proteínas, polipeptídeos, fragmentos ou fusões dos mesmos no soro e no pH endossomal.

iii. Proteínas de fusão

[00422] Os polipeptídeos de fusão têm um primeiro parceiro de fusão incluindo todo ou parte de um polipeptídeo B7-H4 fundido a um segundo polipeptídeo diretamente ou por meio de uma sequência de peptídeo ligante que é fundida ao segundo polipeptídeo. As proteínas de fusão contêm opcionalmente um domínio que funciona para dimerizar ou multimerizar duas ou mais proteínas de fusão. O domínio de ligação de peptídeo/polipeptídeo pode ser um domínio separado ou, alternativamente, pode estar contido em um dos outros domínios (primeiro polipeptídeo ou segundo polipeptídeo) da proteína de fusão. De forma similar, o domínio que funciona para dimerizar ou multimerizar as proteínas de fusão pode ser um domínio separado ou, alternativamente, pode estar contido dentro de um dos outros domínios (primeiro polipeptídeo, segundo polipeptídeo ou domínio de ligação de peptídeo/polipeptídeo) da proteína de fusão. Em uma modalidade, o domínio de dimerização/multimerização e o domínio de ligação de peptídeo/polipeptídeo são os mesmos.

[00423] As proteínas de fusão aqui descritas são de fórmula I:

N-R1-R2-R3-C

em que “N” representa o terminal N da proteína de fusão, “C” representa o terminal C da proteína de fusão. Em algumas modalidades, “R1” é um polipeptídeo ou proteína de B7-H4 ou fragmento ou variante do mesmo, “R2” é um domínio de ligação de peptídeo/polipeptídeo opcional e “R3” é um segundo polipeptídeo. Alternativamente, R_3 pode ser um polipeptídeo ou

proteína de B7-H4, ou fragmento ou variante do mesmo e R1 pode ser um segundo polipeptídeo. Em algumas modalidades, o polipeptídeo B7-H4 é o domínio extracelular ou um fragmento do mesmo, como o domínio C2 semelhante a Ig, ou a região delimitada pelas cisteínas que formam uma ligação dissulfeto, conforme discutido acima.

[00424] A dimerização ou multimerização pode ocorrer entre ou dentre duas ou mais proteínas de fusão por meio de domínios de dimerização ou multimerização. Alternativamente, a dimerização ou multimerização de proteínas de fusão pode ocorrer por reticulação química. Os dímeros ou multímeros que são formados podem ser homodiméricos/homomultiméricos ou heterodiméricos/heteromultiméricos.

[00425] Em algumas modalidades, a proteína de fusão inclui o domínio extracelular de B7-H4, ou um fragmento ou variante do mesmo, fundido a uma região Ig Fc. As proteínas de fusão de Ig recombinante podem ser preparadas fundindo a região de codificação do domínio extracelular de um domínio extracelular ou um fragmento ou variante do mesmo com a região Fc de IgG1, IgG2, IgG3 ou IgG4 humana ou IgG2a de camundongo, ou outro domínio de Ig adequado, como descrito anteriormente (Chapoval, *et al.*, Methods Mol. Med., 45:247-255 (2000)).

iv. Modificações de polipeptídeo

[00426] Os polipeptídeos e proteínas de fusão podem ser modificados por frações químicas que podem estar presentes em polipeptídeos em um ambiente celular normal, por exemplo, fosforilação, metilação, amidação, sulfatação, acilação, glicosilação, sumoilação e ubiquitilação. As proteínas de fusão também podem ser modificadas com um marcador capaz de prover um sinal detectável, direta ou indiretamente, incluindo, mas não se limitando a radioisótopos e compostos fluorescentes.

[00427] Os polipeptídeos e proteínas de fusão também podem ser modificados por frações químicas que normalmente não são adicionadas a

polipeptídeos em um ambiente celular. Por exemplo, as proteínas de fusão descritas também podem ser modificadas por ligação covalente de cadeias de polímero, incluindo, mas não se limitando a cadeias de polímero de polietilenoglicol (PEG) (isto é, peguilação). A conjugação de macromoléculas a PEG surgiu recentemente como uma estratégia eficaz para alterar os perfis farmacocinéticos (PK) de uma variedade de fármacos e, assim, melhorar seu potencial terapêutico. A conjugação de PEG aumenta a retenção de fármacos na circulação, protegendo contra a digestão enzimática, retardando a filtração pelos rins e reduzindo a geração de anticorpos neutralizantes. Além disso, os conjugados de PEG podem ser usados para permitir a multimerização das proteínas de fusão.

[00428] Modificações podem ser introduzidas na molécula pela reação de resíduos de aminoácidos alvejados do polipeptídeo com um agente de derivatização orgânico que é capaz de reagir com cadeias laterais selecionadas ou resíduos terminais. Outra modificação é a ciclização da proteína.

[00429] Exemplos de derivados químicos dos polipeptídeos incluem lisinila e resíduos amino-terminais derivatizados com succínico ou outros anidridos de ácido carboxílico. A derivatização com um anidrido carboxílico cíclico tem o efeito de reverter a carga dos resíduos de lisinila. Outros reagentes adequados para derivatizar resíduos contendo amino incluem imidoésteres, tais como picolinimidato de metila; fosfato de piridoxal; piridoxal; cloroboro-hidreto; ácido trinitrobenzenossulfônico; O-metil isoureia; 2,4 pentanodiona; e reação catalisada por transaminase com glioxilato.

[00430] Grupos laterais de carboxila, aspartila ou glutamila podem ser modificados seletivamente por reação com carbodi-imidas (R— N=C=N— R'), tais como 1-ciclo-hexil-3-(2-morfolinil-(4-etil)carbodi-imida ou 1-etil-3-(4-azonia-4,4-dimetilpentil)carbodi-imida. Além disso, os resíduos de aspartila e glutamila podem ser convertidos em resíduos de asparaginila e

glutaminila por reação com amônia. As proteínas de fusão também podem incluir um ou mais D-aminoácidos que são substituídos por um ou mais L-aminoácidos.

v. Propriedades de ligação modificadas

[00431] As propriedades de ligação das proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas são relevantes para a dose e regime de dosagem a ser administrado. Em uma modalidade, as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões descritos dos mesmos têm propriedades de ligação a um ligante B7-H4 que demonstram um termo mais alto, ou maior porcentagem, de ocupação de um local de ligação (por exemplo, no ligante) em relação a outras moléculas receptoras que se ligam a elas. Em outras modalidades, as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões descritos dos mesmos têm afinidade de ligação reduzida a um ligante B7-H4 em relação à proteína de tipo selvagem.

[00432] Em algumas modalidades, as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas têm uma afinidade relativamente alta para o ligante B7-H4 e, portanto, podem ter uma taxa de desativação relativamente lenta. Em outras modalidades, os polipeptídeos de proteínas, fragmentos, variantes e fusões dos mesmos são administrados de forma intermitente ao longo de um período de dias, semanas ou meses para amortecer as respostas imunes que podem se recuperar antes da próxima administração, o que pode servir para alterar a resposta imune sem ativar ou desativar completamente a resposta imune e pode evitar efeitos colaterais de longo prazo.

3. Moléculas de ácido nucleico isoladas

[00433] As sequências de ácido nucleico isoladas que codificam as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas são aqui descritas. Como usado aqui, “ácido nucleico isolado” refere-se a um ácido nucleico que é separado de outras moléculas de ácido nucleico que estão

presentes em um genoma de mamífero, incluindo ácidos nucleicos que normalmente flanqueiam um ou ambos os lados do ácido nucleico em um genoma de mamífero. O termo “isolado”, como usado aqui em relação aos ácidos nucleicos, também inclui a combinação com qualquer sequência de ácido nucleico de ocorrência não natural, uma vez que tais sequências de ocorrência não natural não são encontradas na natureza e não têm sequências imediatamente contíguas em um genoma de ocorrência natural.

[00434] Um ácido nucleico isolado pode ser, por exemplo, uma molécula de DNA, desde que uma das sequências de ácido nucleico normalmente encontradas flanqueando imediatamente essa molécula de DNA em um genoma de ocorrência natural seja removida ou ausente. Assim, um ácido nucleico isolado inclui, sem limitação, uma molécula de DNA que existe como uma molécula separada independente de outras sequências (por exemplo, um ácido nucleico sintetizado quimicamente, ou um cDNA ou fragmento de DNA genômico produzido por PCR ou tratamento com endonuclease de restrição), bem como DNA recombinante que é incorporado em um vetor, um plasmídeo de replicação autônoma, um vírus (por exemplo, um retrovírus, lentivírus, adenovírus ou vírus de herpes) ou no DNA genômico de um procarionte ou eucarionte. Além disso, um ácido nucleico isolado pode incluir um ácido nucleico projetado, como uma molécula de DNA recombinante que é parte de um ácido nucleico híbrido ou de fusão. Um ácido nucleico existente entre centenas a milhões de outros ácidos nucleicos dentro, por exemplo, de uma biblioteca de cDNA ou uma biblioteca genômica, ou uma fatia de gel contendo uma digestão de restrição de DNA genômico, não deve ser considerado um ácido nucleico isolado.

[00435] Os ácidos nucleicos que codificam as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas podem ser otimizados para expressão no hospedeiro de expressão de escolha. Os códons podem ser substituídos por códons alternativos que codificam o mesmo aminoácido para

explicar as diferenças no uso de códons entre o mamífero do qual a sequência de ácido nucleico é derivada e o hospedeiro de expressão.

[00436] Dessa maneira, os ácidos nucleicos podem ser sintetizados usando códons preferidos do hospedeiro de expressão.

[00437] Os ácidos nucleicos podem ter orientação sentido ou antissentido, ou podem ser complementares a uma sequência de referência que codifica um polipeptídeo ou proteína de B7-H4. Os ácidos nucleicos podem ser DNA, RNA ou análogos de ácido nucleico. Os análogos de ácido nucleico podem ser modificados na fração de base, fração de açúcar ou estrutura de fosfato. Tal modificação pode melhorar, por exemplo, a estabilidade, hibridização ou solubilidade do ácido nucleico. As modificações na fração de base podem incluir desoxiuridina para desoxitimidina e 5-metil-2'-desoxicitidina ou 5-bromo-2'-desoxicitidina para desoxicitidina. As modificações da fração de açúcar podem incluir a modificação da T hidroxila do açúcar ribose para formar açúcares 2'-0-metila ou 2'-0-alila. A cadeia principal de fosfato de desoxirribose pode ser modificada para produzir ácidos nucleicos de morfolino, em que cada fração de base está ligada a um anel de morfolino de seis membros ou ácidos nucleicos de peptídeo, em que a cadeia principal de desoxifosfato é substituída por uma cadeia principal de pseudopeptídeo e as quatro bases são retidas. Ver, por exemplo, Summerton and Weller (1997) Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 7: 187-195; e Hyrup *et al.* (1996) Bioorgan. Med. Chem. 4:5-23. Além disso, a cadeia principal de desoxifosfato pode ser substituída por, por exemplo, uma cadeia principal de fosforotioato ou fosforoditioato, uma fosforamidita ou uma cadeia principal de alquilfosfotriéster.

[00438] Os ácidos nucleicos que codificam polipeptídeos podem ser administrados a indivíduos com necessidade dos mesmos. A dispensação nucleica envolve a introdução de ácidos nucleicos "estranhos" em uma célula e, finalmente, em um animal vivo. As composições e métodos para

dispensação de ácidos nucleicos a um indivíduo são conhecidos na técnica (ver Understanding Gene Therapy, Lemoine, N.R., ed., BIOS Scientific Publishers, Oxford, 2008).

4. Vetores e células hospedeiras

[00439] Os vetores que codificam as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas são também providos. Os ácidos nucleicos, como os descritos acima, podem ser inseridos em vetores para expressão em células. Como usado aqui, um "vetor" é um replicon, como um plasmídeo, fago, vírus ou cosmídeo, no qual outro segmento de DNA pode ser inserido de modo a provocar a replicação do segmento inserido. Os vetores podem ser vetores de expressão. Um "vetor de expressão" é um vetor que inclui uma ou mais sequências de controle de expressão, e uma "sequência de controle de expressão" é uma sequência de DNA que controla e regula a transcrição e/ou tradução de outra sequência de DNA.

[00440] Os ácidos nucleicos em vetores podem ser funcionalmente ligados a uma ou mais sequências de controle de expressão. Como usado aqui, "funcionalmente ligado" significa incorporado em uma construção genética de modo que as sequências de controle de expressão controlem efetivamente a expressão de uma sequência de codificação de interesse. Exemplos de sequências de controle de expressão incluem promotores, intensificadores e regiões de terminação da transcrição. Um promotor é uma sequência de controle de expressão composta por uma região de uma molécula de DNA, tipicamente dentro de 100 nucleotídeos a montante do ponto em que a transcrição começa (geralmente perto do local de iniciação para a RNA polimerase II). Para colocar uma sequência de codificação sob o controle de um promotor, é necessário posicionar o local de iniciação da tradução do quadro de leitura da tradução do polipeptídeo entre um e cerca de cinquenta nucleotídeos a jusante do promotor. Intensificadores proveem especificidade de expressão em termos de tempo, localização e nível. Ao contrário dos

promotores, os intensificadores podem funcionar quando localizados a várias distâncias do local de transcrição. Um intensificador também pode estar localizado a jusante do local de iniciação da transcrição. Uma sequência de codificação é “funcionalmente ligada” e “sob o controle” de sequências de controle de expressão em uma célula quando a RNA polimerase é capaz de transcrever a sequência de codificação em mRNA, que então pode ser traduzido na proteína codificada pela sequência de codificação.

[00441] Os vetores de expressão adequados incluem, sem limitação, plasmídeos e vetores virais derivados de, por exemplo, bacteriófago, baculovírus, vírus do mosaico do tabaco, vírus do herpes, citomegalovírus, retrovírus, vírus vaccinia, adenovírus e vírus adenoassociados. Inúmeros vetores e sistemas de expressão estão comercialmente disponíveis em empresas como Novagen (Madison, WI), Clontech (Palo Alto, CA), Stratagene (La Jolla, CA) e Invitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA).

[00442] Um vetor de expressão pode incluir uma sequência de marcação. As sequências de marcação são tipicamente expressas como uma fusão com o polipeptídeo codificado. Esses marcadores podem ser inseridos em qualquer lugar dentro do polipeptídeo, incluindo no terminal carboxila ou amino. Exemplos de marcadores úteis incluem, mas não estão limitados a proteína fluorescente verde (GFP), glutationa S-transferase (GST), poli-histidina, c-myc, hemaglutinina, marcador Flag™ (Kodak, New Haven, CT), proteína de ligação de maltose E e proteína A. Em uma modalidade, uma molécula de ácido nucleico que codifica um dos polipeptídeos descritos está presente em um vetor contendo ácidos nucleicos que codificam um ou mais domínios de uma região constante de cadeia pesada de Ig, por exemplo, com uma sequência de aminoácidos correspondente à dobradiça, regiões CH2 e CH3 de uma cadeia Oyl de imunoglobulina humana.

[00443] Os vetores contendo ácidos nucleicos a serem expressos podem ser transferidos para células hospedeiras. O termo “célula hospedeira”

pretende incluir células procarióticas e eucarióticas nas quais um vetor de expressão recombinante pode ser introduzido. Como usado aqui, “transformado” e “transfectado” abrangem a introdução de uma molécula de ácido nucleico (por exemplo, um vetor) em uma célula por uma de uma série de técnicas. Embora não se limitem a uma técnica particular, várias dessas técnicas estão bem estabelecidas na técnica. As células procarióticas podem ser transformadas com ácidos nucleicos, por exemplo, por eletroporação ou transformação mediada por cloreto de cálcio. Os ácidos nucleicos podem ser transfectados em células de mamífero por técnicas incluindo, por exemplo, coprecipitação com fosfato de cálcio, transfecção mediada por DEAE-dextrano, lipofecção, eletroporação ou microinjeção. As células hospedeiras (por exemplo, uma célula procariótica ou uma célula eucariótica, como uma célula CHO) podem ser usadas para, por exemplo, produzir as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas aqui descritos.

[00444] Os vetores descritos podem ser usados para expressar as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões das mesmas em células. Um exemplo de vetor inclui, mas não está limitado a um vetor adenoviral. Uma abordagem inclui a transferência de ácido nucleico em células primárias em cultura seguida por transplante autólogo das células transformadas *ex vivo* no hospedeiro, seja sistemicamente ou em um órgão ou tecido específico. Os métodos *ex vivo* podem incluir, por exemplo, as etapas de colheita de células de um indivíduo, cultura das células, sua transdução com um vetor de expressão e manutenção das células em condições adequadas para a expressão dos polipeptídeos codificados. Esses métodos são conhecidos na técnica da biologia molecular. A etapa de transdução pode ser realizada por qualquer meio padrão usado para terapia genética *ex vivo*, incluindo, por exemplo, fosfato de cálcio, lipofecção, eletroporação, infecção viral e transferência de gene biolística. Alternativamente, podem ser usados lipossomas ou micropartículas poliméricas. As células que foram transduzidas

com sucesso podem ser selecionadas, por exemplo, para expressão da sequência de codificação ou de um gene de resistência a fármacos. As células podem então ser irradiadas letalmente (se desejado) e injetadas ou implantadas no indivíduo. Em uma modalidade, os vetores de expressão contendo ácidos nucleicos que codificam proteínas de fusão são transfectados em células que são administradas a um indivíduo em necessidade.

[00445] A terapia de ácido nucleico *in vivo* pode ser realizada por transferência direta de um DNA funcionalmente ativo em tecido somático de mamífero ou órgão *in vivo*. Por exemplo, ácidos nucleicos que codificam polipeptídeos aqui descritos podem ser administrados diretamente a tecidos linfoides.

[00446] Alternativamente, o alvejamento específico do tecido linfoide pode ser alcançado usando elementos reguladores da transcrição específicos do tecido linfoide (TREs), tais como um linfócito B, linfócito T ou TRE específico da célula dendrítica. TREs específicos para tecidos linfoides são conhecidos na técnica.

[00447] Os ácidos nucleicos também podem ser administrados *in vivo* por meios virais. As moléculas de ácido nucleico que codificam proteínas de fusão podem ser acondicionadas em vetores de retrovírus usando linhagens de células de acondicionamento que produzem retrovírus com replicação defeituosa, como é bem conhecido na técnica. Outros vetores de vírus também podem ser usados, incluindo adenovírus recombinantes e vírus vaccinia, que podem ser tornados não replicantes. Além de DNA ou RNA nu, ou vetores virais, bactérias engenheiradas podem ser usadas como vetores.

[00448] Os ácidos nucleicos também podem ser administrados por outros carreadores, incluindo lipossomas, micro e nanopartículas poliméricas e policátions, tais como asialoglicoproteína/polilisina.

[00449] Além da transferência de genes mediada por vírus e carreadores *in vivo*, meios físicos bem conhecidos na técnica podem ser

usados para transferência direta de DNA, incluindo a administração de DNA de plasmídeo e transferência de genes mediada por bombardeio de partículas.

5. Moléculas pequenas

[00450] O agente imunomodulador pode ser uma molécula pequena. Agonistas e antagonistas de moléculas pequenas B7-H4 são conhecidos na técnica ou podem ser identificados usando métodos de triagem de rotina.

[00451] Em algumas modalidades, os ensaios de triagem podem incluir triagem aleatória de grandes bibliotecas de compostos de teste. Alternativamente, os ensaios podem ser usados para focar em classes particulares de compostos suspeitos de modular o nível de B7-H4. Os ensaios podem incluir determinações da atividade de sinalização de B7-H4 ou resposta inibitória mediada por B7-H4. Outros ensaios podem incluir determinações de transcrição ou tradução de ácido nucleico, níveis de mRNA, estabilidade de mRNA, degradação de mRNA, taxas de transcrição e taxas de tradução.

C. Composições farmacêuticas

[00452] São providas composições farmacêuticas incluindo os agentes imunomoduladores descritos. As composições farmacêuticas contendo o agente imunomodulador podem ser para administração por vias de administração parenteral (injeção intramuscular, intraperitoneal, intravenosa (IV) ou subcutânea), transdérmica (passivamente ou usando iontoforese ou eletroporação) ou transmucosa (nasal, vaginal, retal ou sublingual) ou usando inserções bioerodíveis e podem ser formuladas em formas de dosagem apropriadas para cada via de administração.

[00453] Em algumas abordagens *in vivo*, as composições aqui descritas são administradas a um indivíduo em uma quantidade terapeuticamente eficaz. Como usado aqui, o termo “quantidade eficaz” ou “quantidade terapeuticamente eficaz” significa uma dosagem suficiente para tratar, inibir ou aliviar um ou mais sintomas do distúrbio a ser tratado ou de outra forma

prover um efeito farmacológico e/ou fisiológico desejado. A dosagem precisa irá variar de acordo com uma variedade de fatores, tais como variáveis dependentes do indivíduo (por exemplo, idade, saúde do sistema imunológico, etc.), a doença e o tratamento sendo realizado.

[00454] Para os agentes imunomoduladores descritos, conforme estudos adicionais são realizados, emergirão informações sobre os níveis de dosagem apropriados para o tratamento de várias condições em vários pacientes, e o trabalhador qualificado comum, considerando o contexto terapêutico, idade e saúde geral do receptor, será capaz de determinar a dosagem adequada. A dosagem selecionada depende do efeito terapêutico desejado, da via de administração e da duração do tratamento desejado. Para os agentes imunomoduladores descritos, geralmente os níveis de dosagem de 0,001 a 20 mg/kg de peso corporal diariamente são administrados a mamíferos. Geralmente, para injeção intravenosa ou infusão, a dosagem pode ser mais baixa.

[00455] Em certas modalidades, o agente imunomodulador é administrado localmente, por exemplo, por injeção diretamente em um local a ser tratado. Tipicamente, a injeção causa uma concentração localizada aumentada da composição do agente imunomodulador que é maior do que aquela que pode ser alcançada por administração sistêmica. As composições do agente imunomodulador podem ser combinadas com uma matriz conforme descrito acima para auxiliar na criação de uma concentração localizada aumentada das composições polipeptídicas, reduzindo a difusão passiva dos polipeptídeos para fora do local a ser tratado.

1. Formulações para administração parenteral

[00456] Em algumas modalidades, as composições aqui descritas, incluindo aquelas contendo peptídeos e polipeptídeos, são administradas em uma solução aquosa, por injeção parenteral. A formulação também pode estar na forma de uma suspensão ou emulsão. Em geral, as composições

farmacêuticas são providas incluindo quantidades eficazes de um peptídeo ou polipeptídeo e, opcionalmente, incluem diluentes, conservantes, solubilizantes, emulsificantes, adjuvantes e/ou carreadores farmaceuticamente aceitáveis. Essas composições incluem opcionalmente um ou mais para os seguintes: diluentes, água estéril, solução salina tamponada com vários conteúdos de tampão (por exemplo, Tris-HCl, acetato, fosfato), pH e força iônica; e aditivos, como detergentes e agentes solubilizantes (por exemplo, TWEEN 20 (polissorbato-20), TWEEN 80 (polissorbato-80)), antioxidantes (por exemplo, ácido ascórbico, metabissulfito de sódio) e conservantes (por exemplo, Thimersol, álcool benzílico) e substâncias de volume (por exemplo, lactose, manitol). Exemplos de solventes ou veículos não aquosos são propileno glicol, polietileno glicol, óleos vegetais, como azeite de oliva e óleo de milho, gelatina, e ésteres orgânicos injetáveis tais como oleato de etila. As formulações podem ser liofilizadas e redissolvidas/ressuspensas imediatamente antes do uso. A formulação pode ser esterilizada, por exemplo, por filtração através de um filtro de retenção de bactérias, por incorporação de agentes esterilizantes nas composições, por irradiação das composições ou por aquecimento das composições.

2. Formulações para administração oral

[00457] Nas modalidades, as composições são formuladas para dispensação oral. As formas de dosagem sólida oral são descritas geralmente em Remington’s Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. 1990 (Mack Publishing Co. Easton Pa. 18042) no Capítulo 89. As formas de dosagem sólidas incluem comprimidos, cápsulas, pílulas, trociscos ou pastilhas, hóstias, glóbulos, pós ou grânulos ou incorporação do material em preparações particuladas de compostos poliméricos, tais como ácido polilático, ácido poliglicólico, etc. ou em lipossomas. Essas composições podem influenciar o estado físico, estabilidade, taxa de liberação *in vivo* e taxa de depuração *in vivo* do descrito. Ver, por exemplo, Remington’s Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990,

Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042) páginas 1435-1712 que são aqui incorporadas por referência. As composições podem ser preparadas na forma líquida ou podem estar na forma de pó seco (por exemplo, liofilizado). A encapsulação lipossomal ou proteinoide pode ser usada para formular as composições. A encapsulação lipossomal pode ser usada e os lipossomas podem ser derivatizados com vários polímeros (por exemplo, Patente U.S. nº 5.013.556). Ver também Marshall, K. In: Modern Pharmaceutics Edited by G. S. Banker and C. T. Rhodes Chapter 10, 1979. Em geral, a formulação incluirá o peptídeo (ou formas quimicamente modificadas do mesmo) e ingredientes inertes que protegem o peptídeo no ambiente do estômago, e a liberação do material biologicamente ativo no intestino.

[00458] Os agentes podem ser modificados quimicamente para que a administração oral do derivado seja eficaz. Geralmente, a modificação química contemplada é a ligação de pelo menos uma fração à própria molécula componente, onde a fração permite a absorção na corrente sanguínea do estômago ou intestino, ou a absorção diretamente na mucosa intestinal. Também é desejado o aumento da estabilidade geral do componente ou componentes e o aumento do tempo de circulação no corpo. A PEGuilação é uma modificação química exemplificativa para uso farmacêutico. Outras frações que podem ser usadas incluem: propileno glicol, copolímeros de etileno glicol e propileno glicol, carboximetilcelulose, dextrano, álcool polivinílico, polivinilpirrolidona, poliprolina, poli-1,3-dioxolano e poli-1,3,6-tioxocano [ver, por exemplo, Abuchowski and Davis (1981) “Soluble Polymer-Enzyme Adducts,” in Enzymes as Drugs. Hocenberg and Roberts, eds. (Wiley-Interscience: New York, N.Y.) pp. 367-383; e Newmark, *et al.* (1982) J. Appl. Biochem. 4: 185-189]

[00459] Outra modalidade provê formas de dosagem líquidas para administração oral, incluindo emulsões, soluções, suspensões e xaropes farmaceuticamente aceitáveis, que podem conter outros componentes

incluindo diluentes inertes; adjuvantes, tais como agentes umectantes, emulsionantes e agentes de suspensão; e agentes adoçantes, aromatizantes e perfumantes.

[00460] Formulações orais de liberação controlada podem ser desejáveis. O agente pode ser incorporado em uma matriz inerte que permite a liberação por mecanismos de difusão ou de lixiviação, por exemplo, gomas. Matrizes de degeneração lenta também podem ser incorporadas na formulação. Outra forma de liberação controlada é baseada no sistema terapêutico Oros (Alza Corp.), isto é, o fármaco é encerrado em uma membrana semipermeável que permite que a água entre e empurre o fármaco para fora através de uma única pequena abertura devido aos efeitos osmóticos.

[00461] Para formulações orais, o local de liberação pode ser o estômago, o intestino delgado (o duodeno, o jejuno ou o íleo) ou o intestino grosso. Em algumas modalidades, a liberação evitará os efeitos deletérios do ambiente do estômago, seja pela proteção do agente (ou derivado) ou pela liberação do agente (ou derivado) além do ambiente do estômago, como no intestino. Para garantir a resistência gástrica total, um revestimento impermeável a pelo menos pH 5,0 é essencial. Exemplos dos ingredientes inertes mais comuns que são usados como revestimentos entéricos são acetato de celulose trimelitato (CAT), hidroxipropilmetilcelulose ftalato (HPMCP), HPMCP 50, HPMCP 55, acetato ftalato de polivinila (PVAP), Eudragit L30D™, Aquateric™, acetato ftalato de celulose (CAP), Eudragit L™, Eudragit S™ e Shellac™. Esses revestimentos podem ser usados como filmes mistos.

3. Formulações para administração tópica

[00462] Os agentes imunomoduladores descritos podem ser aplicados topicamente. A administração tópica não funciona bem para a maioria das formulações de peptídeos, embora possa ser eficaz especialmente se aplicada aos pulmões, mucosa nasal, oral (sublingual, bucal), vaginal ou retal.

[00463] As composições podem ser dispensadas aos pulmões durante a inalação e atravessar o revestimento epitelial do pulmão para a corrente sanguínea quando dispensadas como um aerossol ou partículas secas por pulverização com um diâmetro aerodinâmico menor que cerca de 5 mícrons.

[00464] Uma ampla gama de dispositivos mecânicos projetados para dispensação pulmonar de produtos terapêuticos pode ser usada, incluindo, mas não se limitando a nebulizadores, inaladores de dose medida e inaladores de pó, todos os quais são familiares para aqueles versados na técnica. Alguns exemplos específicos de dispositivos comercialmente disponíveis são o nebulizador ETltravent (Mallinckrodt Inc., St. Louis, Mo.); o nebulizador Acorn II (Marquest Medical Products, Englewood, Colorado); o inalador de dose medida Ventolin (Glaxo Inc., Research Triangle Park, N.C.); e o inalador de pó Spinhaler (Fisons Corp., Bedford, Mass.). Nektar, Alkermes e Mannkind têm preparações em pó de insulina inalável aprovadas ou em ensaios clínicos onde a tecnologia pode ser aplicada às formulações aqui descritas.

[00465] As formulações para administração à mucosa serão tipicamente partículas de fármaco secas por pulverização, que podem ser incorporadas em um comprimido, gel, cápsula, suspensão ou emulsão.

[00466] Excipientes farmacêuticos padrão estão disponíveis em qualquer formulador.

[00467] As formulações transdérmicas também podem ser preparadas. Tipicamente, são pomadas, loções, sprays ou adesivos, que podem ser preparados usando a tecnologia padrão. As formulações transdérmicas podem exigir a inclusão de intensificadores de penetração.

4. Matrizes poliméricas de dispensação controlada

[00468] Os agentes imunomoduladores descritos neste documento também podem ser administrados em formulações de liberação controlada. Dispositivos poliméricos de liberação controlada podem ser feitos para

liberação sistemática de longo prazo após implantação de um dispositivo polimérico (haste, cilindro, filme, disco) ou injeção (micropartículas). A matriz pode estar na forma de micropartículas, como microesferas, onde o agente é disperso dentro de uma matriz polimérica sólida ou microcápsulas, onde o núcleo é de um material diferente do invólucro polimérico, e o peptídeo é disperso ou suspenso no núcleo, que pode ser de natureza líquida ou sólida. A menos que especificamente definido aqui, micropartículas, microesferas e microcápsulas são usadas indistintamente. Alternativamente, o polímero pode ser fundido como uma placa fina ou filme, variando de nanômetros a quatro centímetros, um pó produzido por moagem ou outras técnicas padrão, ou mesmo um gel, como um hidrogel.

[00469] Matrizes não biodegradáveis ou biodegradáveis podem ser usadas para dispensação de polipeptídeos de fusão ou ácidos nucleicos que codificam os polipeptídeos de fusão, embora em algumas modalidades matrizes biodegradáveis sejam preferidas. Estas podem ser polímeros naturais ou sintéticos, embora os polímeros sintéticos sejam preferidos em algumas modalidades devido à melhor caracterização dos perfis de degradação e liberação. O polímero é selecionado com base no período durante o qual a liberação é desejada. Em alguns casos, a liberação linear pode ser mais útil, embora em outros uma liberação de pulso ou "liberação em massa" possa prover resultados mais eficazes. O polímero pode estar na forma de um hidrogel (tipicamente absorvendo até cerca de 90% em peso de água) e pode, opcionalmente, ser reticulado com íons multivalentes ou polímeros.

[00470] As matrizes podem ser formadas por evaporação de solvente, secagem por pulverização, extração com solvente e outros métodos conhecidos dos versados na técnica. As microesferas bioerodíveis podem ser preparadas usando qualquer um dos métodos desenvolvidos para fazer microesferas para dispensação de fármacos, por exemplo, conforme descrito por Mathiowitz and Langer, J. Controlled Release, 5: 13-22 (1987);

Mathiowitz, *et al.*, Reactive Polymers, 6:275-283 (1987); and Mathiowitz, *et al.*, J. Appl. Polymer Sci ., 35:755-774 (1988).

[00471] Os dispositivos podem ser formulados para liberação local para tratar a área de implantação ou injeção - que normalmente dispensará uma dosagem que é muito menor do que a dosagem para o tratamento de um corpo inteiro - ou dispensação sistêmica. Estes podem ser implantados ou injetados por via subcutânea, no músculo, gordura ou engolidos.

III. Métodos de fabricação

Métodos para produzir anticorpos

[00472] Os anticorpos podem ser gerados em cultura de células, em fagos ou em vários animais, incluindo, mas não se limitando a vacas, coelhos, cabras, camundongos, ratos, hamsters, porquinhos-da-índia, ovelhas, cães, gatos, macacos, chimpanzés, símios. Portanto, em uma modalidade, um anticorpo é um anticorpo de mamífero. As técnicas de fago podem ser usadas para isolar um anticorpo inicial ou para gerar variantes com especificidade alterada ou características de avidez. Essas técnicas são rotineiras e bem conhecidas na técnica. Em uma modalidade, o anticorpo é produzido por meios recombinantes conhecidos na técnica. Por exemplo, um anticorpo recombinante pode ser produzido por transfecção de uma célula hospedeira com um vetor compreendendo uma sequência de DNA que codifica o anticorpo. Um ou mais vetores podem ser usados para transfectar a sequência de DNA que expressa pelo menos uma região VL e uma região VH na célula hospedeira. Descrições exemplificativas de meios recombinantes de geração e produção de anticorpos incluem Delves, Antibody Production: Essential Techniques (Wiley, 1997); Shephard, *et al.*, Monoclonal Antibodies (Oxford ETniversity Press, 2000); Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (Academic Press, 1993); Current Protocols in Immunology (John Wiley & Sons, edição mais recente).

[00473] Os anticorpos descritos podem ser modificados por meios

recombinantes para aumentar uma maior eficácia do anticorpo na mediação da função desejada. Assim, está dentro do escopo da invenção que os anticorpos podem ser modificados por substituições usando meios recombinantes. Tipicamente, as substituições serão substituições conservativas. Por exemplo, pelo menos um aminoácido na região constante do anticorpo pode ser substituído por um resíduo diferente. Ver, por exemplo, Pat. U.S. nº 5.624.821, Pat. U.S. Nº 6.194.551, pedido nº WO 9958572; e Angal, *et al.*, Mol. Immunol. 30: 105-08 (1993). A modificação nos aminoácidos inclui deleções, adições e substituições de aminoácidos. Em alguns casos, tais mudanças são feitas para reduzir atividades indesejadas, por exemplo, citotoxicidade dependente do complemento. Frequentemente, os anticorpos são marcados pela união, covalente ou não covalente, de uma substância que provê um sinal detectável.

[00474] Uma grande variedade de marcadores e técnicas de conjugação são conhecidos e são amplamente relatados na literatura científica e de patentes. Esses anticorpos podem ser rastreados para ligação a proteínas, polipeptídeos ou proteínas de fusão de B7-H4. Ver, por exemplo, Antibody Engineering: A Practical Approach (Oxford University Press. 1996).

[00475] Por exemplo, anticorpos adequados com as atividades biológicas desejadas podem ser identificados usando ensaios *in vitro*, incluindo, mas não se limitando a: proliferação, migração, adesão, crescimento de ágar mole, angiogênese, comunicação célula-célula, apoptose, transporte, transdução de sinal e ensaios *in vivo* como a inibição do crescimento do tumor. Os anticorpos providos aqui também podem ser úteis em aplicações de diagnóstico. Como anticorpos de captura ou não neutralizantes, eles podem ser triados quanto à capacidade de se ligarem ao antígeno específico sem inibir a ligação ao receptor ou a atividade biológica do antígeno. Como anticorpos neutralizantes, os anticorpos podem ser úteis em ensaios de ligação competitiva.

[00476] Os anticorpos que podem ser usados nas composições e métodos descritos incluem imunoglobulina completa (isto é, um anticorpo intacto) de qualquer classe, fragmentos dos mesmos e proteínas sintéticas contendo pelo menos o domínio variável de ligação ao antígeno de um anticorpo. Os domínios variáveis diferem na sequência entre os anticorpos e são usados na ligação e especificidade de cada anticorpo particular para seu antígeno particular. No entanto, a variabilidade geralmente não é distribuída uniformemente pelos domínios variáveis de anticorpos. É tipicamente concentrado em três segmentos chamados regiões determinantes de complementaridade (CDRs) ou regiões hipervariáveis, nos domínios variáveis tanto da cadeia leve quanto da cadeia pesada. As porções mais conservadas dos domínios variáveis são chamadas de molde (FR). Os domínios variáveis das cadeias pesadas e leves nativas compreendem, cada um, quatro regiões FR, amplamente adotando uma configuração de folha beta, conectada por três CDRs, que formam laços que conectam e, em alguns casos, fazem parte da estrutura da folha beta. As CDRs em cada cadeia são mantidas juntas em estreita proximidade pelas regiões FR e, com as CDRs da outra cadeia, contribuem para a formação do local de ligação ao antígeno dos anticorpos.

[00477] Também são descritos fragmentos de anticorpos que têm bioatividade. Os fragmentos, sejam anexados a outras sequências ou não, incluem inserções, deleções, substituições ou outras modificações selecionadas de regiões particulares ou resíduos de aminoácidos específicos, desde que a atividade do fragmento não seja significativamente alterada ou prejudicada em comparação com o anticorpo não modificado ou fragmento de anticorpo.

[00478] As técnicas também podem ser adaptadas para a produção de anticorpos de cadeia única específicos para um peptídeo antigênico. Os métodos para a produção de anticorpos de cadeia única são bem conhecidos dos versados na técnica. Um anticorpo de cadeia única pode ser criado

fundindo os domínios variáveis das cadeias pesadas e leves usando um ligante peptídico curto, reconstituindo assim um local de ligação ao antígeno em uma única molécula. Fragmentos variáveis de anticorpo de cadeia única (scFvs) em que o terminal C de um domínio variável é amarrado ao terminal N do outro domínio variável através de um peptídeo ou ligante de 15 a 25 aminoácidos foram desenvolvidos sem interromper significativamente a ligação ao antígeno ou especificidade da ligação. O ligante é escolhido para permitir que a cadeia pesada e a cadeia leve se liguem em sua orientação conformacional adequada.

[00479] Fragmentos variáveis de cadeia única divalentes (di-scFvs) podem ser projetados ligando dois scFvs. Isso pode ser feito pela produção de uma única cadeia peptídica com duas regiões VH e duas VL, produzindo scFvs em tandem. Os ScFvs também podem ser projetados com peptídeos de ligação que são muito curtos para as duas regiões variáveis se dobrarem (cerca de cinco aminoácidos), forçando os scFvs a dimerizar. Esse tipo é conhecido como diacorpos. Foi demonstrado que os diacorpos têm constantes de dissociação até 40 vezes mais baixas do que os scFvs correspondentes, o que significa que eles têm uma afinidade muito maior com seu alvo. Ligantes ainda mais curtos (um ou dois aminoácidos) levam à formação de trímeros (triacorpos ou tricorpos). Tetracorpos também foram produzidos. Eles apresentam uma afinidade ainda maior com seus alvos do que diacorpos.

[00480] Um anticorpo monoclonal é obtido a partir de uma população substancialmente homogênea de anticorpos, isto é, os anticorpos individuais dentro da população são idênticos, exceto por possíveis mutações de ocorrência natural que podem estar presentes em um pequeno subconjunto das moléculas de anticorpo. Os anticorpos monoclonais incluem anticorpos “quiméricos” em que uma porção da cadeia pesada e/ou leve é idêntica ou homóloga às sequências correspondentes em anticorpos derivados de uma espécie particular ou pertencentes a uma classe ou subclasse de anticorpo

particular, enquanto o restante da(s) cadeia(s) é idêntico ou homólogo às sequências correspondentes em anticorpos derivados de outra espécie ou pertencentes a outra classe ou subclasse de anticorpos, bem como fragmentos de tais anticorpos, desde que apresentem a atividade antagonista desejada.

[00481] Os anticorpos monoclonais podem ser produzidos usando qualquer procedimento que produza anticorpos monoclonais. Em um método de hibridoma, um camundongo ou outro animal hospedeiro apropriado é tipicamente imunizado com um agente imunizante para induzir linfócitos que produzem ou são capazes de produzir anticorpos que se ligarão especificamente ao agente imunizante. Alternativamente, os linfócitos podem ser imunizados *in vitro*.

[00482] Os anticorpos também podem ser produzidos por métodos de DNA recombinante. O DNA que codifica os anticorpos descritos pode ser facilmente isolado e sequenciado usando procedimentos convencionais (por exemplo, usando sondas de oligonucleotídeos que são capazes de se ligar especificamente a genes que codificam as cadeias pesadas e leves de anticorpos murinos). Bibliotecas de anticorpos ou fragmentos de anticorpos ativos também podem ser geradas e triadas usando técnicas de exibição de fago.

[00483] Os métodos de preparação de anticorpos usando a química de proteínas também são conhecidos na técnica. Um método de produção de proteínas que compreende os anticorpos é ligar dois ou mais peptídeos ou polipeptídeos por técnicas de química de proteínas. Por exemplo, os peptídeos ou polipeptídeos podem ser sintetizados quimicamente usando equipamento de laboratório atualmente disponível usando a química Fmoc (9-fluorenilmetiloxicarbonil) ou Boc (terc-butiloxicarbonila). (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA). Um versado na técnica pode facilmente reconhecer que um peptídeo ou polipeptídeo correspondente ao anticorpo, por exemplo, pode ser sintetizado por reações químicas padrão. Por exemplo, um

peptídeo ou polipeptídeo pode ser sintetizado e não clivado de sua resina de síntese, enquanto o outro fragmento de um anticorpo pode ser sintetizado e subsequentemente clivado da resina, expondo assim um grupo terminal que é funcionalmente bloqueado no outro fragmento. Por reações de condensação de peptídeo, esses dois fragmentos podem ser covalentemente unidos por meio de uma ligação peptídica em seus terminais carboxila e amino, respectivamente, para formar um anticorpo, ou fragmento do mesmo. Alternativamente, o peptídeo ou polipeptídeo é independentemente sintetizado *in vivo* como descrito acima. Uma vez isolados, esses peptídeos ou polipeptídeos independentes podem ser ligados para formar um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo por meio de reações de condensação de peptídeo similares.

[00484] Por exemplo, a ligação enzimática de segmentos de peptídeos clonados ou sintéticos permite que fragmentos de peptídeos relativamente curtos sejam unidos para produzir fragmentos de peptídeos maiores, polipeptídeos ou domínios proteicos inteiros. Alternativamente, a ligação química nativa de peptídeos sintéticos pode ser utilizada para construir sinteticamente grandes peptídeos ou polipeptídeos a partir de fragmentos de peptídeos mais curtos. Esse método inclui uma reação química em duas etapas. A primeira etapa é a reação quimiosseletiva de um peptídeo-alfa-tioéster sintético desprotegido com outro segmento de peptídeo desprotegido contendo um resíduo Cys amino-terminal para dar um intermediário ligado a tioéster como o produto covalente inicial. Sem uma mudança nas condições de reação, esse intermediário sofre uma reação intramolecular rápida e espontânea para formar uma ligação peptídica nativa no local da ligação.

B. Métodos para produzir proteínas

[00485] As proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes e fusões descritos das mesmas podem ser fabricados usando técnicas convencionais que são conhecidas na técnica. As proteínas de fusão isoladas podem ser

obtidas, por exemplo, por síntese química ou por produção recombinante em uma célula hospedeira. Para produzir de forma recombinante uma proteína, polipeptídeo, fragmento, variante ou fusão da mesma, um ácido nucleico contendo uma sequência de nucleotídeos que codifica a proteína, polipeptídeo, fragmento, variante ou fusão da mesma pode ser usado para transformar, transduzir ou transfectar uma célula hospedeira bacteriana ou eucariótica (por exemplo, um inseto, levedura ou célula de mamífero). Em geral, as construções de ácido nucleico incluem uma sequência reguladora operacionalmente ligada a uma sequência de nucleotídeos que codifica a proteína, polipeptídeo, fragmento, variante ou fusão da mesma. As sequências reguladoras (também chamadas aqui de sequências de controle de expressão) normalmente não codificam um produto gênico, mas, em vez disso, afetam a expressão das sequências de ácido nucleico às quais estão operacionalmente ligadas.

[00486] Sistemas procarióticos e eucarióticos úteis para expressar e produzir polipeptídeos bem conhecidos na técnica incluem, por exemplo, cepas de Escherichia coli, como BL-21, e células de mamíferos em cultura, como células CHO.

[00487] Em células hospedeiras eucarióticas, uma série de sistemas de expressão com base viral podem ser utilizados para expressar proteínas de fusão. Os sistemas de expressão com base viral são bem conhecidos na técnica e incluem, mas não estão limitados a vetores virais baseados em baculovírus, SV40, retrovírus ou vaccinia.

[00488] As linhagens de células de mamíferos que expressam de forma estável proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes ou fusões das mesmas podem ser produzidas usando vetores de expressão com elementos de controle apropriados e um marcador selecionável. Por exemplo, os vetores de expressão eucariótica pCR3.1 (Invitrogen Life Technologies) e r91023(B) (ver Wong *et al.* (1985) Science 228:810-815) são adequados para a

expressão de proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes ou fusões das mesmas, em, por exemplo, células de ovário de hamster chinês (CHO), células COS-1, células 293 de rim embrionário humano, células NIH3T3, células BHK21, células MDCK e células endoteliais vasculares humanas (HUVEC). Os sistemas de expressão adequados adicionais incluem GS Gene Expression System™ disponível através da Lonza Group Ltd.

[00489] Após a introdução de um vetor de expressão por eletroporação, lipofecção, fosfato de cálcio ou coprecipitação de cloreto de cálcio, DEAE dextrano ou outro método de transfecção adequado, as linhagens celulares estáveis podem ser selecionadas (por exemplo, por seleção metabólica ou resistência a antibióticos a G418, canamicina ou higromicina). As células transfectadas podem ser cultivadas de modo que o polipeptídeo de interesse seja expresso, e o polipeptídeo pode ser recuperado, por exemplo, do sobrenadante da cultura de células ou das células lisadas. Alternativamente, uma proteína, polipeptídeo, fragmento, variante ou fusão da mesma pode ser produzida por (a) ligação de sequências amplificadas em um vetor de expressão de mamífero, como pcDNA3 (Invitrogen Life Technologies), e (b) transcrição e tradução *in vitro* usando extrato de germe de trigo ou lisado de reticulócito de coelho.

[00490] Proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes ou fusões das mesmas podem ser isolados usando, por exemplo, métodos cromatográficos, tais como cromatografia de afinidade, cromatografia de troca iônica, cromatografia de interação hidrofóbica, troca iônica de DEAE, filtração em gel e cromatografia de hidroxilapatita. Em algumas modalidades, proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes ou fusões das mesmas podem ser projetados para conter um domínio adicional contendo a sequência de aminoácidos que permite que os polipeptídeos sejam capturados em uma matriz de afinidade. Por exemplo, um polipeptídeo de fusão Fc em um sobrenadante de cultura de células ou um extrato citoplasmático pode ser

isolado usando uma coluna de proteína A. Além disso, um marcador como c-myc, hemaglutinina, poli-histidina ou Flag™ (Kodak) pode ser usado para auxiliar a purificação do polipeptídeo. Esses marcadores podem ser inseridos em qualquer lugar dentro do polipeptídeo, incluindo no terminal carboxila ou amino. Outras fusões que podem ser úteis incluem enzimas que auxiliam na detecção do polipeptídeo, como a fosfatase alcalina. A cromatografia de imunoafinidade também pode ser usada para purificar polipeptídeos. As proteínas de fusão podem ser adicionalmente engenheiradas para conter um sinal secretor (se não houver um sinal secretor já presente) que faz com que as proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes ou fusões das mesmas sejam secretados pelas células nas quais são produzidos. As proteínas, polipeptídeos, fragmentos, variantes ou fusões secretados das mesmas podem então ser convenientemente isolados do meio celular.

C. Método para produzir moléculas de ácido nucleico isoladas

[00491] As moléculas de ácido nucleico isoladas podem ser produzidas por técnicas padrão, incluindo, sem limitação, clonagem molecular comum e técnicas de síntese química de ácido nucleico. Por exemplo, técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR) podem ser usadas para obter um ácido nucleico isolado que codifica um polipeptídeo variante. PCR é uma técnica em que os ácidos nucleicos alvo são amplificados enzimaticamente. Normalmente, a informação de sequência das extremidades da região de interesse ou além pode ser utilizada para projetar iniciadores de oligonucleotídeos que são idênticos em sequência às fitas opostas do molde a ser amplificado. O PCR pode ser usado para amplificar sequências específicas de DNA, bem como RNA, incluindo sequências de DNA genômico total ou RNA celular total. Os iniciadores têm tipicamente 14 a 40 nucleotídeos de comprimento, mas podem variar de 10 nucleotídeos a centenas de nucleotídeos de comprimento. As técnicas gerais de PCR são descritas, por exemplo, em PCR Primer: A Laboratory Manual ed. by Dieffenbach and

Dveksler, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995. Ao usar o RNA como fonte de molde, a transcriptase reversa pode ser usada para sintetizar uma fita de DNA complementar (cDNA). A reação em cadeia da ligase, amplificação por deslocamento de fita, replicação de sequência autossustentada ou amplificação baseada em sequência de ácido nucleico também podem ser usadas para obter ácidos nucleicos isolados. Ver, por exemplo, Lewis (1992) Genetic Engineering News 12:1; Guatelli *et al.* (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 1874-1878; e Weiss (1991) Science 254: 1292-1293.

[00492] Os ácidos nucleicos isolados podem ser sintetizados quimicamente, como uma única molécula de ácido nucleico ou como uma série de oligonucleotídeos (por exemplo, usando a tecnologia de fosforamidita para a síntese automática de DNA na direção 3' para 5'). Por exemplo, podem ser sintetizados um ou mais pares de oligonucleotídeos longos (por exemplo, > 100 nucleotídeos) que contêm a sequência desejada, com cada par contendo um segmento curto de complementaridade (por exemplo, cerca de 15 nucleotídeos) de modo que um duplex é formado quando o par de oligonucleotídeos é recozido. A DNA polimerase pode ser usada para estender os oligonucleotídeos, resultando em uma única molécula de ácido nucleico de fita dupla por par de oligonucleotídeo, que então pode ser ligada a um vetor. Os ácidos nucleicos isolados também podem ser obtidos por mutagênese. Os ácidos nucleicos que codificam proteínas podem ser mutados usando técnicas padrão, incluindo mutagênese dirigida por oligonucleotídeo e/ou mutagênese dirigida ao local por meio de PCR. Ver, Short Protocols in Molecular Biology. Chapter 8, Green Publishing Associates and John Wiley & Sons, editado por Ausubel *et al.*, 1992.

IV. Ensaios e triagem de anticorpos

[00493] Ensaios para triagem de anticorpos incluem:

1. Análise da afinidade de ligação de B7-H4-Fc a ligantes em comparação com B7-H4.

2. Os ensaios funcionais para confirmar B7-H4-Fc evitam a sinalização por células que expressam B7-H4. Células repórter podem ser utilizadas para esses ensaios, ou células B7-H4+ primárias são outra opção.

[00494] Camundongos deficientes em B7-H4 (“nocaute”) ou camundongos de tipo selvagem podem ser utilizados para a geração de mAbs de alta afinidade contra B7-H4 usando técnicas de imunização proprietárias. Os camundongos com tendência autoimune NZB/WF1 podem ser usados para gerar mAbs para superar a “tolerância”.

[00495] 1. Triagem de fase I: ligação de mAh a linhagens celulares transfectadas para expressar B7-H4 da superfície celular. Além disso, os mAbs devem ter a capacidade de se ligar a B7-H4 expresso endogenamente na superfície de subconjuntos de células humanas primárias. Esses mAbs devem ser altamente específicos para B7-H4. Os anticorpos podem ser rastreados usando ELISA com proteína B7-H4 purificada para detectar anticorpos ant-B7-H4.

[00496] 2. Triagem de fase II: Os mAbs específicos de B7-H4 devem bloquear a ligação de B7-H4 aos seus ligantes e/ou células alvo.

[00497] 3. Triagem de fase III: Ensaios funcionais para confirmar que os mAbs B7-H4 ou a combinação de mAbs modulam a sinalização de B7-H4. Esses ensaios irão utilizar linhagens celulares que expressam B7-H4 endógeno, ou células primárias, como monócitos humanos, macrófagos e subconjuntos de células dendríticas para avaliar a função na presença de mAbs B7-H4.

[00498] Além disso, as linhagens de células repórter podem ser usadas para determinar se as vias de sinalização, como NFkB (repórter NFkB) ou NFAT (repórter NFAT), são alteradas após a cultura com mAbs B7-H4.

[00499] 4. Triagem de fase IV: Ensaios funcionais para determinar se mAbs B7-H4são capazes de induzir citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC), citotoxicidade dependente de complemento (CDC) ou

apoptose celular através de outros mecanismos de linhagens celulares que expressam B7-H4. Em particular, os mAbs B7-H4 serão testados quanto à capacidade de esgotar através de um desses métodos linhagens celulares de leucemia, conhecidas por expressarem B7-H4 na superfície celular. Os mAbs B7-H4 também podem ser projetados para esgotar as células que expressam B7-H4 e testados conforme descrito posteriormente neste documento por meio de métodos conhecidos.

[00500] 5. Triagem de fase V: Ensaios funcionais para determinar se os mAbs B7-H4 são capazes de fornecer ou induzir um sinal negativo (agonista) via B7-H4 em células que expressam B7-H4 para inibir a função celular. As linhagens celulares que expressam endogenamente B7-H4, ou transfectantes de linhagens celulares serão avaliadas quanto a alterações no fenótipo e sobrevivência após cultura com mAbs B7-H4. Em outros ensaios, as linhagens de células repórter serão usadas para determinar em B7-H4 mAbs que modulam as vias de sinalização positivas, como NF-kB (repórter NF-kB) ou outros repórteres de sinalização celular conhecidos. A indução de apoptose em linhagens celulares também será avaliada.

[00501] Os ensaios de fase II e III podem ser usados para prever as concentrações de mAb(s) B7-H4 necessárias para bloquear os níveis fisiológicos de ligantes *in vivo*.

V. Método de uso

[00502] Antagonistas ou agonistas de B7-H4 podem ser usados para modular as respostas imunes em indivíduos com necessidade de tal tratamento.

[00503] Métodos exemplificativos são discutidos em mais detalhes abaixo.

A. Estimulação de resposta imune

1. Estratégias terapêuticas

[00504] São providos métodos para induzir ou intensificar uma

resposta imune em um indivíduo.

[00505] Normalmente, os métodos incluem a administração a um indivíduo de uma quantidade eficaz de agente imunomodulador, ou células iniciadas *ex vivo* com o agente imunomodulador. A resposta imune pode ser, por exemplo, uma resposta imune primária a um antígeno ou um aumento da função da célula efetora, como o aumento da proliferação específica de antígeno de células T, aumento da produção de citocinas por células T, estimulação da diferenciação ou uma combinação dos mesmos. Em algumas modalidades, o agente pode aumentar o desenvolvimento de células T naive em Th1, Th17, Th22 ou outras células que secretam, ou fazem com que outras células secretem, moléculas inflamatórias, incluindo, mas não se limitando a, IL-10, TNF-α, TGF-beta, IFN-γ, IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21 e MMPs. Em algumas modalidades, o agente pode reduzir ou inibir a atividade de Tregs, reduzir a produção de citocinas, como IL-10 de Tregs, reduzir a diferenciação de Tregs, reduzir o número de Tregs, reduzir a razão de Tregs dentro de uma população de células imunes, ou reduzir a sobrevivência de Tregs. O agente imunomodulador pode ser administrado a um indivíduo com necessidade do mesmo em uma quantidade eficaz para superar a exaustão de células T e/ou anergia de células T. Superação da exaustão das células T ou anergia das células T pode ser determinada medindo a função das células T usando técnicas conhecidas.

[00506] Os métodos podem ser usados *in vivo* ou *ex vivo* como aplicações terapêuticas que estimulam a resposta imune. Assim, em algumas modalidades, o agente, ou ácido nucleico que codifica o agente, é administrado diretamente ao indivíduo. Em algumas modalidades, o agente ou ácido nucleico que codifica o agente é colocado em contato com células (por exemplo, células imunes) *ex vivo*, e as células de tratamento são administradas ao indivíduo (por exemplo, transferência adotiva). Em geral, os agentes imunomoduladores descritos podem ser usados para tratar um

indivíduo que tem ou está predisposto a qualquer doença ou distúrbio para o qual o sistema imunológico do indivíduo desenvolve uma resposta imune. Os agentes podem permitir que uma resposta imune mais robusta seja possível. As composições descritas são úteis para estimular ou intensificar as respostas imunes envolvendo células T.

[00507] Os agentes imunomoduladores usados para aumentar uma resposta imune são tipicamente aqueles que reduzem a expressão de B7-H4, ligação de ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Por exemplo, o agente pode ser um antagonista de B7-H4, tal como um anticorpo anti-B7-H4 antagonista (bloqueio) ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo. O agente também pode ser um polipeptídeo B7-H4, por exemplo, um polipeptídeo solúvel ou sua proteína de fusão que pode servir como um receptor chamariz para um ou mais ligantes ou receptores B7-H4.

[00508] O bloqueio de B7-H4, por exemplo usando anticorpos anti-B7-H4 bloqueadores de função, pode ser um agente alternativo ou agente complementar para polipeptídeos B7-H4 solúveis e proteínas de fusão.

[00509] Por exemplo, em algumas modalidades, o bloqueio de B7-H4 é combinado com um receptor chamariz, como B7-H4 solúvel ou sua proteína de fusão. O tratamento combinado (por exemplo, bloqueio de B7-H4-Fc e B7-H4) pode ser complementar.

[00510] Em algumas modalidades, a terapia de estimulação da resposta imune (por exemplo, no tratamento de câncer ou infecções) inclui o esgotamento de células B7-H4+.

[00511] O desenvolvimento e a identificação de mAbs de esgotamento de B7-H4 podem ser realizados de acordo com métodos de construção e triagem conhecidos, incluindo aqueles discutidos neste documento. Ver, por exemplo, Reff, *et al.*, Blood. Vol 83, No 2, 1994: pp 435-445, que descreve a preparação de um anticorpo quimérico anti-CD20 que se liga a C1q humano e medeia a lise celular dependente do complemento (CDCC) na presença de

complemento humano, e citotoxicidade celular dependente do anticorpo (ADCC) com células efetoras humanas. O rituximabe destrói as células B e, portanto, é usado para tratar doenças que são distinguidas por um número hiperativo, disfuncional ou excessivo de células B. Outros anticorpos de esgotamento de células B incluem ocrelizumabe e ofatumumabe. Em outro exemplo, Abs CD3 pode ter como alvo preferencial e esgotar células T efetoras ativadas enquanto preserva Tregs $CD4^{+}Foxp3^{+}$. Os anticorpos esgotam transitoriamente as células T, embora não apresentem nenhuma ou pouca citotoxicidade celular dependente do complemento e dependente do anticorpo. A lise de células redirecionadas devido à capacidade de reticular moléculas CD3 expressas por duas células diferentes (células T CD8+ citotóxicas de um lado e outras células T alvo do outro lado) foi mostrada, no entanto, o esgotamento de células T resulta principalmente de AICD (revisado em You, Front Immunol. 2015; 6: 242).

[00512] Um agente que inibe ou bloqueia a resposta imune supressora de B7-H4 pode ser administrado a um indivíduo com necessidade de aumentar sua resposta imune em uma quantidade eficaz para aumentar a absorção de antígeno pelas células apresentadoras de antígeno (APCs).

2. Indivíduos a serem tratados

a. Tratamento de câncer

[00513] As composições e métodos descritos podem ser usados para tratar o câncer. Geralmente, os agentes são usados para estimular ou intensificar uma resposta imune ao câncer no indivíduo, administrando ao indivíduo uma quantidade de um agente imunomodulador que reduz a expressão de B7-H4, ligação de ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Células cancerosas adquirem um conjunto característico de capacidades funcionais durante seu desenvolvimento, embora por meio de vários mecanismos. Tais capacidades incluem evasão da apoptose, autossuficiência em sinais de crescimento, insensibilidade a sinais

anticrescimento, invasão/metástase de tecido, potencial replicativo ilimitado e angiogênese prolongada. O termo “célula cancerosa” pretende abranger células cancerosas pré-malignas e malignas. Em algumas modalidades, o câncer se refere a um tumor benigno, que permaneceu localizado. Em outras modalidades, o câncer se refere a um tumor maligno, que invadiu e destruiu estruturas corporais vizinhas e se espalhou para locais distantes. Em ainda outras modalidades, o câncer está associado a um antígeno de câncer específico (por exemplo, antígeno pan-carcinoma (KS 1/4), antígeno de carcinoma de ovário (CA125), antígeno específico da próstata (PSA), antígeno carcinoembrionário (CEA), CD 19, CD20, HER2/neu, etc.).

[00514] Os métodos e composições aqui descritos são úteis no tratamento ou prevenção de uma variedade de cânceres ou outras doenças proliferativas anormais, incluindo (mas não se limitando a) o seguinte: carcinoma, incluindo o da bexiga, mama, cólon, rim, fígado, pulmão, ovário, pâncreas, estômago, colo do útero, tireoide e pele; incluindo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoiéticos de linhagem linfoide, incluindo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Berketts; tumores hematopoiéticos de linhagem mieloide, incluindo leucemias mielógenas agudas e crônicas e leucemia promielocítica; tumores de origem mesenquimal, incluindo fibrossarcoma e rabdomiosscarcoma; outros tumores, incluindo melanoma, seminoma, tetratocarcinoma, neuroblastoma e glioma; tumores do sistema nervoso central e periférico, incluindo astrocitoma, neuroblastoma, glioma e schwannomas; tumores de origem mesenquimal, incluindo fibrossarcoma, rabdomiossarcoma e osteossarcoma; e outros tumores, incluindo melanoma, xenoderma pegmentoso, ceratoactantoma, seminoma, câncer folicular da tireoide e teratocarcinoma.

[00515] Os cânceres causados por aberrações na apoptose também podem ser tratados pelos métodos e composições descritos. Esses cânceres

podem incluir, mas não estão limitados a linfomas foliculares, carcinomas com mutações de p53, tumores dependentes de hormônio da mama, próstata e ovário, e lesões pré-cancerosas, como polipose adenomatosa familiar e síndromes mielodisplásicas.

[00516] Em modalidades específicas, alterações malignas ou disproliferativas (como metaplasias e displasias), ou distúrbios hiperproliferativos, são tratadas ou prevenidas pelos métodos e composições no ovário, bexiga, mama, cólon, pulmão, pele, pâncreas ou útero. Em outras modalidades específicas, sarcoma, melanoma ou leucemia é tratado ou prevenido pelos métodos e composições.

[00517] As composições e métodos descritos são particularmente úteis para o tratamento de cânceres que estão associados a células que expressam níveis anormalmente elevados de B7-H4.

[00518] Os cânceres específicos e os distúrbios relacionados que podem ser tratados ou prevenidos por métodos e composições aqui descritos incluem, mas não se limitam a leucemias, incluindo, mas não se limitando a leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemias mielocíticas agudas, como leucemias mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica, eritroleucemia e síndrome mielodisplásica, leucemias crônicas tais como, mas não limitados a leucemia mielocítica (granulocítica) crônica, leucemia linfocítica crônica, leucemia de células pilosas; policitemia vera; linfomas tais como, mas não limitados a linfomas da doença de Hodgkin ou doença não Hodgkin (por exemplo, quinase do linfoma anaplásico difuso (ALK) negativo, linfoma de células B grandes (DLBCL); quinase do linfoma anaplásico difuso (ALK) positivo; linfoma de células B grandes (DLBCL); quinase do linfoma anaplásico (ALK) positivo, linfoma anaplásico de células grandes (ALCL) ALK+, linfoma mieloide agudo (LMA)); mielomas múltiplos, tais como, mas não limitados a mieloma múltiplo latente, mieloma não secretor, mieloma osteosclerótico, leucemia de células plasmáticas,

plasmocitoma solitário e plasmocitoma extramedular; macroglobulinemia de Waldenstrom; gamopatia monoclonal de significância indeterminada; gamopatia monoclonal benigna; doença da cadeia pesada; sarcomas ósseos e do tecido conjuntivo, tais como, mas não limitados a sarcoma ósseo, osteossarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, tumor maligno de células gigantes, fibrossarcoma ósseo, cordoma, sarcoma periosteal, sarcomas de tecidos moles, angiossarcoma (hemangiossarcoma), fibrossarcoma, sarcoma de Kaposi, leiomiossarcoma, lipossarcoma, linfangiossarcoma, neurilemoma, rabdomiossarcoma, sarcoma sinovial; tumores cerebrais incluindo, mas não limitados a glioma, astrocitoma, glioma do tronco encefálico, ependimoma, oligodendroglioma, tumor não glial, neurinoma acústico, craniofaringioma, meduloblastoma, meningioma, pineocitoma, pineoblastoma, linfoma cerebral primário; câncer de mama incluindo, mas não limitado a adenocarcinoma, carcinoma lobular (de pequenas células), carcinoma intraductal, câncer de mama medular, câncer de mama mucinoso, câncer de mama tubular, câncer de mama papilar, doença de Paget, e câncer de mama inflamatório; câncer adrenal, incluindo, mas não limitado a feocromocitoma e carcinoma adrenocortical; câncer de tireoide, como, mas não limitado a câncer de tireoide papilar ou folicular, câncer de tireoide medular e câncer de tireoide anaplásico; câncer pancreático, incluindo, mas não limitado a, insulinoma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma, tumor secretor de somatostatina e tumor de células carcinoides ou ilhotas; cânceres da hipófise incluindo, mas não limitados a doença de Cushing, tumor secretor de prolactina, acromegalia e diabetes insípido; cânceres oculares incluindo, mas não limitados a melanoma ocular, como melanoma da íris, melanoma coroidal e melanoma do corpo ciliar e retinoblastoma; cânceres vaginais, incluindo, mas não limitados a carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma e melanoma; câncer vulvar, incluindo, mas não limitado a, carcinoma de células escamosas, melanoma, adenocarcinoma, carcinoma de células basais, sarcoma e doença de Paget;

cânceres do colo do útero incluindo, mas não limitados a carcinoma de células escamosas, e adenocarcinoma; cânceres uterinos incluindo, mas não limitados a carcinoma endometrial e sarcoma uterino; cânceres de ovário incluindo, mas não limitados a carcinoma epitelial ovariano, tumor limítrofe, tumor de células germinativas e tumor estromal; cânceres esofágicos incluindo, mas não limitados a câncer escamoso, adenocarcinoma, carcinoma adenoide cístico, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma adenoescamoso, sarcoma, melanoma, plasmacitoma, carcinoma verrucoso e carcinoma de células tipo grão de aveia (pequenas células); cânceres do estômago incluindo, mas não limitados a adenocarcinoma, fungo (polipoide), ulceração, espalhamento superficial, espalhamento difuso, linfoma maligno, lipossarcoma, fibrossarcoma e carcinossarcoma; cânceres do cólon; cânceres retais; cânceres do fígado incluindo, mas não limitados a carcinoma hepatocelular e hepatoblastoma, cânceres da vesícula biliar incluindo, mas não limitados a adenocarcinoma; colangiocarcinomas incluindo, mas não limitados a papilar, nodular e difuso; cânceres de pulmão incluindo, mas não limitados a câncer de pulmão de células não pequenas, carcinoma de células escamosas (carcinoma epidermoide), adenocarcinoma, carcinoma de células grandes e câncer de pulmão de células pequenas; cânceres testiculares incluindo, mas não limitados a tumor germinativo, seminoma, anaplásico, clássico (típico), espermatocítico, não seminoma, carcinoma embrionário, carcinoma de teratoma, coriocarcinoma (tumor do saco vitelino), cânceres de próstata incluindo, mas não limitados a adenocarcinoma, leiomiossarcoma e rabdomiossarcoma; cânceres de pênis; cânceres orais incluindo, mas não limitados a carcinoma de células escamosas; cânceres basais; cânceres da glândula salivar incluindo, mas não limitados a adenocarcinoma, carcinoma mucoepidermoide e carcinoma adenoide cístico; cânceres da faringe incluindo, mas não limitados a carcinoma epidermoide e verrucoso; cânceres de pele incluindo, mas não limitados a carcinoma de células basais, carcinoma

de células escamosas e melanoma, melanoma de espalhamento superficial, melanoma nodular, melanoma maligno de lentigo, melanoma lentiginoso acral; cânceres nos rins incluindo, mas não limitados a câncer das células renais, adenocarcinoma, hipernefroma, fibrossarcoma, câncer das células de transição (pelve renal e/ou ureter); tumor de Wilms; cânceres da bexiga incluindo, mas não limitados a carcinoma de células de transição, câncer de células escamosas, adenocarcinoma, carcinossarcoma. Além disso, os cânceres incluem mixossarcoma, sarcoma osteogênico, endoteliossarcoma, linfangioendoteliossarcoma, mesotelioma, sinovioma, hemangioblastoma, carcinoma epitelial, cistadenocarcinoma, carcinoma broncogênico, carcinoma de glândulas sudoríparas, carcinoma de glândulas sebáceas, carcinoma papilar e adenocarcinomas papilares (para uma revisão de tais distúrbios, ver Fishman *et al.*, 1985, Medicine, 2d Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia and Murphy *et al.*, 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., United States of America).

b. Tratamento de infecções

[00519] As composições e métodos descritos podem ser usados para tratar infecções e doenças infecciosas. Geralmente, os agentes são usados para estimular ou intensificar uma resposta imune ao agente causador de infecção no indivíduo, administrando ao indivíduo uma quantidade de um agente imunomodulador que reduz a expressão de B7-H4, ligação de ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. O método pode reduzir um ou mais sintomas da infecção.

[00520] Os neutrófilos são o principal componente da defesa inata do hospedeiro contra infecções e também contribuem para a patogênese autoimune e inflamação crônica. Durante a infecção, os neutrófilos migram rapidamente para os locais de inflamação, tornam-se ativados e iniciam uma cascata de mecanismos de defesa, incluindo fagocitose, morte e degradação

de micro-organismos por proteínas antimicrobianas e proteolíticas, juntamente com a geração de espécies reativas de oxigênio. Os neutrófilos também participam da degradação, remodelação, cicatrização de feridas e modulação de outros componentes imunes inflamatórios e adaptativos. Devido ao seu curto período de vida, os neutrófilos devem ser reabastecidos continuamente durante a infecção e inflamação por expansão das células progenitoras mieloides na medula óssea. B7-H4 *in vitro* inibe o crescimento de progenitores de neutrófilos derivados da medula óssea, sugerindo uma função inibitória de B7-H4 na expansão de neutrófilos (Zhu, G. *et al.*, Blood, 113: 1759-1767 (2009)).

[00521] Uma modalidade provê um método para tratar a infecção em um indivíduo que necessite dele, administrando uma quantidade eficaz de um agente que inibe ou bloqueia a resposta imune supressora de B7-H4 em uma quantidade eficaz para expandir neutrófilos e/ou aumentar a imunidade inata.

[00522] A infecção ou doença pode ser causada por uma bactéria, vírus, protozoário, helmintos ou outro patógeno microbiano que entra intracelularmente e é atacado, isto é, por linfócitos T citotóxicos.

[00523] A infecção ou doença pode ser aguda ou crônica. Uma infecção aguda é tipicamente uma infecção de curta duração. Durante uma infecção microbiana aguda, as células imunes começam a expressar receptores imunomoduladores. Por conseguinte, em algumas modalidades, o método inclui aumentar uma resposta imunoestimulante contra uma infecção aguda.

[00524] A infecção pode ser causada por, por exemplo, mas não limitada a Candida albicans, Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa ou Mycobacterium.

[00525] Em algumas modalidades, as composições descritas são usadas

para tratar infecções crônicas, por exemplo, infecções em que a exaustão de células T ou anergia de células T ocorreu fazendo com que a infecção permanecesse com o hospedeiro por um período de tempo prolongado.

[00526] Infecções exemplificativas a serem tratadas são infecções crônicas causadas por um vírus da hepatite, um vírus da imunodeficiência humana (HIV), um vírus linfotrófico T humano (HTLV), um vírus do herpes, um vírus Epstein-Barr ou um vírus do papiloma humano.

[00527] Como as infecções virais são eliminadas principalmente por células T, um aumento na atividade das células T seria terapeuticamente útil em situações em que a eliminação mais rápida ou completa de um agente viral infeccioso seria benéfica para um animal ou indivíduo humano. Assim, as composições descritas podem ser administradas para o tratamento de infecções virais locais ou sistêmicas, incluindo, mas não se limitando a imunodeficiência (por exemplo, HIV), papiloma (por exemplo, HPV), herpes (por exemplo, HSV), encefalite, gripe (por exemplo, vírus influenza humano A) e resfriado comum (por exemplo, rinovírus humano) e outras infecções virais, causadas por, por exemplo, HTLV, vírus da hepatite, vírus sincicial respiratório, vírus vaccinia e vírus da raiva. As moléculas podem ser administradas topicamente para tratar doenças virais da pele, como lesões de herpes ou zona, ou verrugas genitais. As moléculas também podem ser administradas sistemicamente para tratar doenças virais sistêmicas, incluindo, mas não se limitando a AIDS, gripe, resfriado comum ou encefalite.

[00528] Infecções representativas que podem ser tratadas incluem, mas não estão limitadas a infecções causadas por microrganismos, incluindo, mas não se limitando a Actinomyces, Anabaena, Bacillus, Bacteroides, Bdellovibrio, Bordetella, Borrelia, Campylobacter, Caulobacter, Chlamydia, Chlorobium, Chromatium, Clostridium, Corynebacterium, Cytophaga, Deinococcus, Escherichia, Francisella, Halobacterium, Heliobacter, Haemophilus, Hemophilus influenza tipo B (HIB), Hyphomicrobium,

Legionella, Leptspirosis, Listeria, Meningococos A, B e C, Methanobacterium, Micrococcus, Myobacterium, Mycoplasma, Myxococcus, Neisseria, Nitrobacter, Oscillatoria, Prochloron, Proteus, Pseudomonas, Phodospirillum, Rickettsia, Salmonella, Shigella, Spirillum, Spirochaeta, Staphylococcus, Streptococcus, Streptomyces, Sulfolobus, Thermoplasma, Thiobacillus, e Treponema, Vibrio, Yersinia, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Candida albicans, Candida tropicalis, Nocardia asteroides, Rickettsia ricketsii, Rickettsia typhi, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydial psittaci, Chlamydial trachomatis, Plasmodium falciparum, Trypanosoma brucei, Entamoeba histolytica, Toxoplasma gondii, Trichomonas vaginalis e Schistosoma mansoni.

[00529] Outros microrganismos que podem ser tratados usando as composições e métodos descritos incluem bactérias, como as de Klebsiella, Serratia, Pasteurella; patógenos associados à cólera, tétano, botulismo, antraz, peste e doença de Lyme; ou patógenos fúngicos ou parasitários, como Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis, etc.), Cryptococcus, Aspergillus (fumigatus, niger, etc.), gênero Mucorales (mucor, absidia, rhizophus), Sporothrix (schenkii), Blastomyces (dermatitidis), Paracoccidioides (brasiliensis), Coccidioides (immitis) e Histoplasma (capsulatuma), Entamoeba, histolytica, Balantidium coli, Naegleria fowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lambia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Toxoplasma gondi, etc.), Sporothrix, Blastomyces, Paracoccidioides, Coccidioides, Histoplasma, Entamoeba, Histolytica, Balantidium, Naegleria, Acanthamoeba, Giardia, Cryptosporidium, Pneumocystis, Plasmodium, Babesia, ou Trypanosoma, etc.

B. Inibição de resposta imune

1. Estratégias terapêuticas

[00530] São providos métodos para reduzir ou inibir uma resposta

imune em um indivíduo.

[00531] Normalmente os métodos incluem a administração a um indivíduo de uma quantidade eficaz de agente imunomodulador, ou células iniciadas *ex vivo* com o agente imunomodulador. A resposta imune pode ser, por exemplo, uma resposta imune primária a um antígeno ou um aumento da função da célula efetora, como o aumento da proliferação específica de antígeno de células T, aumento da produção de citocinas por células T, estimulação da diferenciação ou uma combinação dos mesmos. Assim, em algumas modalidades, o agente reduz a proliferação de células T, a produção de citocinas de células T, a diferenciação de células T ou uma combinação das mesmas. Em algumas modalidades, o agente pode reduzir o desenvolvimento de células T naive em Th1, Th17, Th22 ou outras células que secretam, ou fazem com que outras células secretem, moléculas inflamatórias, incluindo, mas não se limitando a, IL-10, TNF-a, TGF-beta, IFN-g, IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21 e MMPs. Em algumas modalidades, o agente pode aumentar ou promover a atividade de Tregs, aumentar a produção de citocinas, como IL-10 de Tregs, aumentar a diferenciação de Tregs, aumentar o número de Tregs, aumentar a razão de Tregs dentro de uma população de células imunes, ou aumentar a sobrevivência de Tregs.

[00532] Os métodos podem ser usados *in vivo* ou *ex vivo* como aplicações terapêuticas que inibem a resposta imune. Assim, em algumas modalidades, o agente, ou ácido nucleico que codifica o agente, é administrado diretamente ao indivíduo. Em algumas modalidades, o agente ou ácido nucleico que codifica o agente é colocado em contato com células (por exemplo, células imunes) *ex vivo*, e as células de tratamento são administradas ao indivíduo (por exemplo, transferência adotiva). Em geral, os agentes imunomoduladores descritos podem ser usados para tratar um indivíduo que tem ou está predisposto a qualquer doença ou distúrbio para o qual o sistema imunológico do indivíduo desenvolve uma resposta imune

hiperativo ou inapropriado. Os agentes podem permitir que uma resposta imune menos robusta seja possível. As composições descritas são úteis para reduzir ou inibir as respostas imunes envolvendo células T.

[00533] Os agentes imunomoduladores usados para reduzir uma resposta imune são tipicamente aqueles que aumentam a expressão de B7-H4, ligação de ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Por exemplo, o agente pode ser um agonista de B7-H4, tal como um anticorpo anti-B7-H4 agonista (estimulação) ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo.

a. Respostas inflamatórias

[00534] As composições e métodos descritos podem ser usados para tratar a inflamação. Geralmente, os agentes são usados para reduzir ou inibir uma resposta imune no indivíduo, administrando ao indivíduo uma quantidade de um agente imunomodulador que aumenta a expressão de B7-H4, ligação de ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. O método pode reduzir ou mais sintomas da inflamação. A inflamação pode ser aguda, crônica ou inflamação persistente.

[00535] Em algumas modalidades, os agentes imunomoduladores desaceleram o sistema imunológico.

[00536] Por exemplo, o agente pode ser usado para controlar a resposta hiperinflamatória, causando danos aos tecidos saudáveis. Por conseguinte, em algumas modalidades, os agentes são administrados a um indivíduo que está passando por uma resposta hiperinflamatória. Em tais casos, o controle de respostas imunes excessivas pode ser benéfico para o indivíduo.

b. Doenças/distúrbios inflamatórios e autoimunes

[00537] Agentes que aumentam a expressão de B7-H4, ligação de ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos também podem ser usados para tratar doenças e distúrbios inflamatórios ou autoimunes. Doenças/distúrbios inflamatórios ou autoimunes representativos

incluem, mas não estão limitados a artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, alopecia areata, espondilite anquilosante, síndrome antifosfolipídeo, doença de Addison autoimune, anemia hemolítica autoimune, doença autoimune do ouvido interno, doença linfoproliferativa autoimune (Alps), púrpura trombocitopênica autoimune (PTA), doença de Behçet, penfigoide bolhoso, cardiomiopatia, dermatite herpetiforme, síndrome da fadiga crônica (CFIDS), polineuropatia desmielinizante inflamatória crônica, penfigoide cicatricial, síndrome da aglutinina fria, síndrome de Crest, doença de Crohn, doença de Dego, dermatomiosite, dermatomiosite - juvenil, lúpus discoide, crioglobulinemia mista essencial, fibromialgia - fibromiosite, doença de Graves, guillain-barre, tireoidite de Hashimoto, fibrose pulmonar idiopática, púrpura trombocitopênica idiopática (PTI), nefropatia por Iga, diabetes dependente de insulina (Tipo I), artrite juvenil, doença de Meniere, doença do tecido conjuntivo mista, esclerose múltipla, miastenia gravis, pênfigo vulgar, anemia perniciosa, poliarterite nodosa, policondrite, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiosite e dermatomiosite, agamaglobulinemia primária, cirrose biliar primária, psoríase, fenômeno de Raynaud, síndrome de Reiter, febre reumática, sarcoidose, esclerodermia, síndrome de Sjogren, síndrome da pessoa rígida, arterite de Takayasu, arterite temporal/arterite de células gigantes, colite ulcerativa, uveíte, vasculite, vitiligo e granulomatose de Wegener.

[00538] Em algumas modalidades, a inflamação ou doença autoimune é causada por um patógeno ou é o resultado de uma infecção.

VI. Terapias de combinação

[00539] Os agentes imunomoduladores descritos podem ser administrados a um indivíduo que necessita dos mesmos sozinhos ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais. Em algumas modalidades, o agente imunomodulador e o agente terapêutico adicional são administrados separadamente, mas simultaneamente. O agente

imunomodulador e o agente terapêutico adicional também podem ser administrados como parte da mesma composição. Em outras modalidades, o agente imunomodulador e o segundo agente terapêutico são administrados separadamente e em momentos diferentes, mas como parte do mesmo regime de tratamento.

[00540] O indivíduo pode ser administrado com um primeiro agente terapêutico 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou mais horas, ou 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou mais dias antes da administração de um segundo agente terapêutico. Em algumas modalidades, o indivíduo pode ser administrado com uma ou mais doses do primeiro agente a cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 35 ou 48 dias antes de uma primeira administração do segundo agente. O agente imunomodulador pode ser o primeiro ou o segundo agente terapêutico.

[00541] O agente imunomodulador e o agente terapêutico adicional podem ser administrados como parte de um regime terapêutico. Por exemplo, se um primeiro agente terapêutico pode ser administrado a um indivíduo a cada quatro dias, o segundo agente terapêutico pode ser administrado no primeiro, segundo, terceiro ou quarto dia, ou combinações dos mesmos. O primeiro agente terapêutico ou segundo agente terapêutico pode ser administrado repetidamente ao longo de todo o regime de tratamento.

[00542] Moléculas exemplificativas incluem, mas não estão limitadas a citocinas, agentes quimioterápicos, radionuclídeos, outros imunoterapêuticos, enzimas, antibióticos, antivirais (especialmente inibidores de protease sozinhos ou em combinação com nucleosídeos para o tratamento de HIV ou hepatite B ou C), antiparasitas (helmintos, protozoários), fatores de crescimento, inibidores de crescimento, hormônios, antagonistas de hormônios, anticorpos e fragmentos bioativos dos mesmos (incluindo anticorpos humanizados, de cadeia simples e quiméricos), formulações de antígenos e vacinas (incluindo adjuvantes), fármacos peptídicos, anti-inflamatórios, ligantes que se ligam a receptores semelhantes a Toll

(incluindo, mas não se limitando a oligonucleotídeos CpG) para ativar o sistema imunológico inato, moléculas que mobilizam e otimizam o sistema imunológico adaptativo, outras moléculas que ativam ou regulam positivamente a ação de linfócitos T citotóxicos, células natural killer e células T auxiliares e outras moléculas que desativam ou regulam negativamente as células T supressoras ou reguladoras.

[00543] Os agentes terapêuticos adicionais são selecionados com base na condição, distúrbio ou doença a ser tratada. Por exemplo, o agente imunomodulador pode ser coadministrado com um ou mais agentes adicionais que funcionam para intensificar ou promover uma resposta imune ou reduzir ou inibir uma resposta imune.

A. Aumento de respostas imunes

1. Antimicrobianos

[00544] Por exemplo, um agente imunomodulador B7-H4 pode ser usado em um papel preventivo ou profilático no tratamento e prevenção de doenças como discutido acima, e também no contexto de lesões traumáticas graves, como grande queimadura, fratura de osso aberto, amputação acidental ou outras feridas. Portanto, os agentes imunomoduladores B7-H4 podem ser administrados ao indivíduo em combinação com um antimicrobiano, como um antibiótico, um antifúngico, um antiviral, um antiparasitário ou óleo essencial.

[00545] Em algumas modalidades, o agente imunomodulador B7-H4 e/ou o antimicrobiano é administrado ao indivíduo no momento da admissão ao hospital para prevenir outras complicações bacterianas, fúngicas ou virais. O antibiótico pode ter como alvo patógenos e o agente imunomodulador B7-H4 pode estimular o sistema imunológico a fornecer uma resposta intensificada para tratar ou prevenir outras infecções ou doenças.

2. Agentes quimioterápicos

[00546] Os agentes imunomoduladores B7-H4 podem ser combinados

com um ou mais agentes quimioterapêuticos e agentes pró-apoptóticos. Os agentes quimioterápicos representativos incluem, mas não estão limitados a amsacrina, bleomicina, bussulfano, capecitabina, carboplatina, carmustina, clorambucil, cisplatina, cladribina, clofarabina, crisantaspase, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, docetaxel, doxorrubicina, epirrubicina, etoposídeo, fludarabina, fluorouracila, gemcitabina, hidroxicarbamida, idarrubicina, ifosfamida, irinotecano, leucovorina, doxorrubicina lipossomal, daunorrubicina lipossomal, lomustina, melfalano, mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina, mitoxantrona, oxaliplatina, paclitaxel, pemetrexede, pentostatina, procarbazina, raltitrexede, satraplatina, estreptozocina, tegafur-uracil, temozolomida, teniposídeo, tiotepa, tioguanina, topotecano, treossulfano, vimblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina ou uma combinação dos mesmos. Os agentes pró-apoptóticos representativos incluem, mas não estão limitados a fludarabinetaurosporina, ciclo-heximida, actinomicina D, lactosilceramida, 15d-PGJ (2) e combinações dos mesmos.

3. Outros imunomoduladores

a. Antagonistas de PD-1

[00547] Em algumas modalidades, os agentes imunomoduladores B7-H4 são coadministrados com um antagonista de PD-1. A morte programada 1 (PD-1) é um membro da família de receptores CD28 que fornece uma resposta imunológica negativa quando induzida em células T. O contato entre PD-1 e um de seus ligantes (B7-H1 ou B7-DC) induz uma resposta inibitória que diminui a multiplicação de células T e/ou a força e/ou duração de uma resposta de células T. Antagonistas de PD-1 adequados são descritos nas Patentes U.S. nº 8.114.845, 8.609.089 e 8.709.416, que são especificamente incorporados por referência neste documento em suas entidades e incluem compostos ou agentes que se ligam a e bloqueiam um ligante de PD-1 para interferir com ou inibir a ligação do ligante ao receptor PD-1, ou ligar-se

diretamente e bloquear o receptor PD-1 sem induzir a transdução de sinal inibitória através do receptor PD-1.

[00548] Em algumas modalidades, o antagonista do receptor PD-1 se liga diretamente ao receptor PD-1 sem desencadear a transdução de sinal inibitório e também se liga a um ligante do receptor PD-1 para reduzir ou inibir o ligante de desencadear a transdução de sinal através do receptor PD-1. Ao reduzir o número e/ou quantidade de ligantes que se ligam ao receptor PD-1 e desencadeiam a transdução de um sinal inibitório, menos células são atenuadas pelo sinal negativo dispensado pela transdução de sinal PD-1 e uma resposta imune mais robusta pode ser alcançada.

[00549] Acredita-se que a sinalização de PD-1 é acionada pela ligação a um ligante de PD-1 (como B7-H1 ou B7-DC) em estreita proximidade com um antígeno peptídico apresentado pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (ver, por exemplo, Freeman, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 105: 10275-10276 (2008)). Portanto, proteínas, anticorpos ou pequenas moléculas que evitam a coligação de PD-1 e TCR na membrana das células T também são antagonistas de PD-1 úteis.

[00550] Em algumas modalidades, os antagonistas do receptor PD-1 são antagonistas de moléculas pequenas ou anticorpos que reduzem ou interferem na transdução do sinal do receptor PD-1 pela ligação a ligantes de PD-1 ou ao próprio PD-1, especialmente quando a coligação de PD-1 com TCR não segue tal ligação, portanto, não desencadeia a transdução de sinal inibitório através do receptor PD-1.

[00551] Outros antagonistas de PD-1 contemplados pelos métodos desta invenção incluem anticorpos que se ligam a PD-1 ou ligantes de PD-1 e outros anticorpos.

[00552] Os anticorpos anti-PD-1 adequados incluem, mas não estão limitados a aqueles descritos nas seguintes publicações:

PCT/IL03/00425 (Hardy *et al.*, WO/2003/099196)

PCT/JP2006/309606 (Korman *et al.*, WO/2006/121168)

PCT/US2008/008925 (Li *et al.*, WO/2009/014708)

PCT/JP03/08420 (Honjo *et al.*, WO/2004/004771)

PCT/JP04/00549 (Honjo *et al.*, WO/2004/072286)

PCT/IB2003/006304 (Collins *et al.*, WO/2004/056875)

PCT/US2007/088851 (Ahmed *et al.*, WO/2008/083174)

PCT/US2006/026046 (Korman *et al.*, WO/2007/005874)

PCT/US2008/084923 (Terrett *et al.*, WO/2009/073533)

Berger *et al.*, Clin. Cancer Res., 14:30443051 (2008).

[00553] Um exemplo específico de um anticorpo anti-PD-1 é um anticorpo descrito em Kosak, US 20070166281 (pub. 19 de julho de 2007) no par. 42), um anticorpo anti-PD-1 humano que, em algumas modalidades, é administrado na dose de 3 mg/kg.

[00554] Anticorpos anti-B7-H1 exemplificativos incluem, mas não estão limitados a aqueles descritos nas seguintes publicações:

PCT/US06/022423 (WO/2006/133396, pub. 14 de dezembro de 2006) PCT/US07/088851 (WO/2008/083174, pub. 10 de julho de 2008)

US 2006/0110383 (pub. 25 de maio de 2006)

[00555] Um exemplo específico de um anticorpo anti-B7-H1 é um anticorpo descrito (WO/2007/005874, publicado em 11 de janeiro de 2007)), um anticorpo anti-B7-H1 humano.

[00556] Anticorpos anti-PD-1 e anti-B7-H1 adicionais são descritos em 2014/0044738, que é especificamente incorporado neste documento por referência em sua totalidade.

[00557] Para anticorpos anti-B7-DC, ver 7.411.051, 7.052.694, 7.390.888 e o Pedido de Publicação U.S. nº 2006/0099203.

[00558] Outros antagonistas do receptor PD-1 exemplificativos incluem, mas não estão limitados a polipeptídeos B7-DC, incluindo homólogos e variantes destes, bem como fragmentos ativos de qualquer um

dos anteriores e proteínas de fusão que incorporam qualquer um destes. Em algumas modalidades, a proteína de fusão inclui a porção solúvel de B7-DC acoplada à porção Fc de um anticorpo, tal como IgG humana, e não incorpora toda ou parte da porção transmembrana de B7-DC humana.

[00559] O antagonista de PD-1 também pode ser um fragmento de um mamífero B7-H1, por exemplo, de camundongo ou primata, como um humano, em que o fragmento se liga e bloqueia PD-1, mas não resulta em transdução de sinal inibitório através de PD-1. Os fragmentos também podem fazer parte de uma proteína de fusão, por exemplo, uma proteína de fusão Ig.

[00560] Outros antagonistas de polipeptídeos PD-1 úteis incluem aqueles que se ligam aos ligantes do receptor PD-1. Estes incluem a proteína do receptor PD-1, ou fragmentos solúveis da mesma, que podem se ligar aos ligantes PD-1, como B7-H1 ou B7-DC, e evitar a ligação ao receptor PD-1 endógeno, evitando assim a transdução de sinal inibitório. B7-H1 também demonstrou se ligar à proteína B7.1 (Butte et ah, Immunity, Vol. 27, pp. 111-122, (2007)). Tais fragmentos também incluem a porção ECD solúvel da proteína PD-1 que inclui mutações, como a mutação A99L, que aumenta a ligação aos ligantes naturais (Molnar *et al.*, PNAS, 105: 10483-10488 (2008)). B7-1 ou fragmentos solúveis do mesmo, que podem se ligar ao ligante B7-H1 e evitar a ligação ao receptor PD-1 endógeno, evitando assim a transdução de sinal inibitório, também são úteis.

[00561] Os ácidos nucleicos antissentido de PD-1 e B7-H1, tanto DNA quanto RNA, bem como moléculas de siRNA, também podem ser antagonistas de PD-1. Essas moléculas antissentido evitam a expressão de PD-1 em células T, bem como a produção de ligantes de células T, como B7-H1, PD-L1 e/ou PD-L2. Por exemplo, siRNA (por exemplo, de cerca de 21 nucleotídeos de comprimento, que é específico para o gene que codifica PD-1, ou que codifica um ligante de PD-1, e cujos oligonucleotídeos podem ser prontamente adquiridos comercialmente) complexados com carreadores,

como polietilenoimina (ver Cubillos-Ruiz *et al.*, J. Clin. Invest. 119(8): 2231-2244 (2009), são prontamente absorvidos por células que expressam PD-1, bem como ligantes de PD-1 e reduzem a expressão desses receptores e ligantes para atingir uma diminuição na transdução de sinal inibitório em células T, ativando assim as células T.

b. Antagonistas de CTLA4

[00562] Outras moléculas úteis na mediação dos efeitos das células T em uma resposta imune também são contempladas como agentes terapêuticos adicionais. Em algumas modalidades, a molécula é um antagonista de CTLA4, por exemplo, um anticorpo anti-CTLA4 antagonista. Um exemplo de um anticorpo anti-CTLA4 contemplado para uso nos métodos da invenção inclui um anticorpo como descrito em PCT/US2006/043690 (Fischkoff *et al.*, WO/2007/056539).

[00563] As dosagens para os anticorpos anti-PD-1, anti-B7-H1 e anti-CTLA4 são conhecidas na técnica e podem estar na faixa de, por exemplo, 0,1 a 100 mg/kg, ou com faixas mais curtas de 1 a 50 mg/kg ou 10 a 20 mg/kg. Uma dose apropriada para um indivíduo humano pode estar entre 5 e 15 mg/kg, com 10 mg/kg de anticorpo (por exemplo, anticorpo anti-PD-1 humano) sendo uma modalidade específica.

[00564] Exemplos específicos de um anticorpo anti-CTLA4 útil nos métodos da invenção são Ipilimumabe, um anticorpo anti-CTLA4 humano, administrado a uma dose de, por exemplo, cerca de 10 mg/kg, e Tremelimumabe um anticorpo anti-CTLA4 humano, administrado a uma dose de, por exemplo, cerca de 15 mg/kg. Ver também Sammartino, *et al.*, Clinical Kidney Journal, 3(2): 135-137 (2010), publicado online em dezembro de 2009.

[00565] Em outras modalidades, o antagonista é uma molécula pequena. Foi demonstrado que uma série de pequenos compostos orgânicos se ligam ao ligante B7-1 para evitar a ligação a CTLA4 (ver Erbe *et al.*, J. Biol.

Chem ., 277:7363-7368 (2002). Esses pequenos orgânicos podem ser administrados sozinhos ou em conjunto com um anticorpo anti-CTLA4 para reduzir a transdução do sinal inibitório de células T.

4. Agentes potenciadores

[00566] Em algumas modalidades, os agentes terapêuticos adicionais incluem um agente potenciador. O agente potenciador atua para aumentar a eficácia do regulador positivo da resposta imune, possivelmente por mais de um mecanismo, embora o mecanismo de ação preciso não seja essencial para a prática ampla da presente invenção.

[00567] Em algumas modalidades, o agente potenciador é a ciclofosfamida. A ciclofosfamida (CTX, Cytoxan® ou Neosar®) é um fármaco de oxazaosforina e os análogos incluem ifosfamida (IFO, Ifex), perfosfamida, trofosfamida (trofosfamida; Ixoten) e seus sais, solvatos, pró-fármacos e metabólitos farmaceuticamente aceitáveis (pedido de patente US 200702077 que é incorporado em sua totalidade). Ifosfamida (MITOXANA®) é um análogo estrutural da ciclofosfamida e seu mecanismo de ação é considerado idêntico ou substancialmente similar ao da ciclofosfamida. A perfosfamida (4-hidroperoxiciclofosfamida) e a trofosfamida também são agentes alquilantes, que estão estruturalmente relacionados com a ciclofosfamida. Por exemplo, a perfosfamida alquila o DNA, inibindo assim a replicação do DNA e a síntese de RNA e proteínas. Novos derivados de oxazafosforinas foram projetados e avaliados com uma tentativa de melhorar a seletividade e a resposta com toxicidade do hospedeiro reduzida (Liang J, Huang M, Duan W, Yu XQ, Zhou S. Design of new oxazaphosphorine anticancer drugs. Curr Pharm Des. 2007;13(9):963-78. Review). Estes incluem mafosfamida (NSC 345842), glufosfamida (D19575, beta-D-glucosilisofosforamida mostarda), S-(-)-bromofosfamida (CBM-11), NSC 612567 (aldofosfamida perhidrotiazina) e NSC 613060 (aldofosfamida tiazolidina).

[00568] A mafosfamida é um análogo da oxazafosforina que é um sal

do ácido 4-tioetanossulfônico quimicamente estável de 4-hidroxi-CPA. A glufosfamida é um derivado do IFO no qual a mostarda isofosforamida, o metabólito alquilante do IFO, está glicosidicamente ligada a uma molécula de beta-D-glicose. Análogos de ciclofosfamida adicionais são descritos na patente US 5.190.929 intitulada “Cyclophosphamide analogs useful as anti-tumor agents”, que é incorporada neste documento por referência em sua totalidade.

[00569] Embora o próprio CTX não seja tóxico, alguns de seus metabólitos são agentes alquilantes citotóxicos que induzem a reticulação de DNA e, em doses mais altas, quebras de fita. Muitas células são resistentes ao CTX porque expressam altos níveis da enzima desintoxicante aldeído desidrogenase (ALDH). O CTX tem como alvo a proliferação de linfócitos, pois os linfócitos (mas não as células-tronco hematopoiéticas) expressam apenas níveis baixos de ALDH, e as células em ciclo são mais sensíveis aos agentes de alquilação do DNA.

[00570] Baixas doses de CTX (< 200 mg/kg) podem ter efeitos imunoestimulantes, incluindo a estimulação de respostas imunes antitumorais em humanos e modelos de camundongo de câncer (Brode & Cooke Crit Rev. Immunol. 28: 109-126 (2008)). Essas doses baixas são subterapêuticas e não apresentam atividade antitumoral direta. Em contraste, altas doses de CTX inibem a resposta antitumoral. Vários mecanismos podem explicar o papel do CTX na potenciação da resposta imune antitumoral: (a) depleção de Treg CD4+CD25+FoxP3+ (e especificamente Treg em proliferação, que pode ser especialmente supressora), (b) depleção de linfócitos B; (c) indução de óxido nítrico (NO), resultando na supressão do crescimento das células tumorais; (d) mobilização e expansão de CD1 1b+Gr-1+ MDSC. Esses efeitos primários têm vários efeitos secundários; por exemplo, seguindo macrófagos de depleção de Treg, produzem mais IFN-γ e menos IL-10. O CTX também mostrou induzir a expressão de IFN tipo I e promover a proliferação

homeostática de linfócitos.

[00571] A depleção de Treg é mais frequentemente citada como o mecanismo pelo qual o CTX potencializa a resposta imune antitumoral. Essa conclusão é baseada em parte nos resultados de experimentos de transferência adotiva. No modelo de tumor AB1-HA, o tratamento com CTX no Dia 9 dá uma taxa de cura de 75%.

[00572] A transferência de Treg purificado no Dia 12 inibiu quase completamente a resposta CTX (van der Most *et al.* Cancer Immunol. Immunother. 58:1219-1228 (2009). Um resultado similar foi observado no modelo de tumor HHD2: a transferência adotiva de Treg CD4+CD25+ após o pré-tratamento com CTX eliminou a resposta terapêutica à vacina (Taieb, J. J. Immunol. 176:2722-2729 (2006)).

[00573] Inúmeros ensaios clínicos em humanos demonstraram que o CTX de baixa dosagem é um agente seguro, bem tolerado e eficaz para promover respostas imunes antitumorais (Bas, & Mastrangelo Cancer Immunol. Immunother. 47: 1-12 (1998)).

[00574] A dose ideal de CTX para potencializar uma resposta imune antitumoral é aquela que reduz as contagens gerais de células T, diminuindo os níveis de Treg abaixo da faixa normal, mas é subterapêutica (ver Machiels *et al.* Cancer Res. 61:3689-3697 (2001)).

[00575] Em ensaios clínicos em humanos em que a CTX foi usada como agente imunopotenciador, geralmente foi usada uma dose de 300 mg/m^2. Para um homem médio (6 pés (1,82 m), 170 libras (78 kg) com uma área de superfície corporal de 1,98 m^2), 300 mg/m^2 é 8 mg/kg, ou 624 mg de proteína total. Em modelos de camundongos de câncer, a eficácia foi observada em doses que variam de 15 a 150 mg/kg, que se refere a 0,45 a 4,5 mg de proteína total em um camundongo de 30 g (Machiels *et al.* Cancer Res. 61:3689-3697 (2001), Hengst et al Cancer Res. 41:2163-2167 (1981), Hengst Cancer Res. 40:2135-2141 (1980)).

[00576] Para mamíferos maiores, como um primata, como um ser humano, o paciente, tais doses de mg/m^2 podem ser usadas, mas as doses unitárias administradas ao longo de um intervalo de tempo finito também podem ser usadas. Essas doses unitárias podem ser administradas diariamente por um período de tempo finito, como até 3 dias, ou até 5 dias, ou até 7 dias, ou até 10 dias, ou até 15 dias ou até 20 dias ou até 25 dias, são todos especificamente contemplados pela invenção. O mesmo regime pode ser aplicado para os outros agentes potenciadores citados neste documento.

[00577] Em outras modalidades, o agente potenciador é um agente que reduz a atividade e/ou o número de linfócitos T reguladores (T-regs), como Sunitinibe (SUTENT®), anti-TGFβ ou Imatinibe (GLEEVAC®). O regime de tratamento citado também pode incluir a administração de um adjuvante.

[00578] Agentes potenciadores úteis também incluem inibidores de mitose, como paclitaxol, inibidores de aromatase (por exemplo, Letrozole) e inibidores de angiogênese (inibidores de VEGF, por exemplo, Avastin, VEGF-Trap) (ver, por exemplo, Li *et al.*, Vascular endothelial growth factor blockade reduces intratumoral regulatory T cells and enhances the efficacy of a GM-CSF-secreting cancer immunotherapy. Clin Cancer Res. 2006 Nov 15; 12(22):6808-16.), antraciclinas, oxaliplatina, doxorrubicina, antagonistas de TLR4 e antagonistas de IL-18.

B. Redução de respostas imunes

1. Agentes imunosupressores

[00579] Em algumas modalidades, a resposta imune ou doença/distúrbio inflamatório/autoimune é tratada pela administração ao indivíduo de um agente imunomodulador B7-H4 e um segundo agente que é um imunossupressor. Os agentes imunossupressores incluem, mas não estão limitados a anticorpos contra outros marcadores de superfície de linfócitos (por exemplo, CD40, integrina alfa-4) ou contra citocinas), proteínas de fusão (por exemplo, CTLA-4-Ig (Orencia®), TNFR-Ig (Enbrel®)), bloqueadores de

TNF-α, como Enbrel, Remicade, Cimzia e Humira, ciclofosfamida (CTX) (ou seja, Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune™), metotrexato (MTX) (ou seja, Rheumatrex®, Trexall®), belimumabe (ou seja, Benlysta®) ou outros fármacos imunossupressores (por exemplo, ciclosporina A, compostos semelhantes a FK506, compostos de rapamicina ou esteroides), antiproliferativos, agentes citotóxicos ou outros compostos que podem ajudar na imunossupressão.

[00580] O agente terapêutico pode ser uma proteína de fusão CTLA-4, como CTLA-4-Ig (abatacept). As proteínas de fusão CTLA-4-Ig competem com o receptor coestimulador, CD28, nas células T pela ligação a CD80/CD86 (B7-1/B7-2) nas células apresentadoras de antígeno e, portanto, funcionam para inibir a ativação das células T. Em outra modalidade, o agente terapêutico é uma proteína de fusão CTLA-4-Ig conhecida como belatacept. O belatacept contém duas substituições de aminoácidos (L104E e A29Y) que aumentam marcadamente sua avidez para CD86 *in vivo*. Em outra modalidade, o agente terapêutico é Maxy-4.

[00581] Em outra modalidade, o agente terapêutico é a ciclofosfamida (CTX).

[00582] Ciclofosfamida (nome genérico de Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune™), também conhecida como citofosfano, é um agente alquilante de mostarda nitrogenada do grupo das oxazoforinas. É usada para tratar vários tipos de câncer e algumas doenças autoimunes. A ciclofosfamida (CTX) é o principal fármaco usado para a glomerulonefrite proliferativa difusa em pacientes com lúpus renal.

[00583] O agente terapêutico pode ser administrado em uma quantidade eficaz para reduzir os níveis de sangue ou soro de autoanticorpos anti-DNA de fita dupla (DNA anti-ds) e/ou para reduzir a proteinúria em um paciente com necessidade do mesmo.

[00584] Em outra modalidade, o agente terapêutico aumenta a

quantidade de adenosina no soro, ver, por exemplo, WO 08/147482. Por exemplo, o segundo agente terapêutico pode ser CD73-Ig, CD73 recombinante ou outro agente (por exemplo, uma citocina ou anticorpo monoclonal ou molécula pequena) que aumenta a expressão de CD73, ver por exemplo WO 04/084933. Em outra modalidade, o agente terapêutico é Interferon-beta.

[00585] O agente terapêutico pode ser uma pequena molécula que inibe ou reduz a diferenciação, proliferação, atividade e/ou produção e/ou secreção de citocinas por Th1, Th17, Th22 e/ou outras células que secretam, ou fazem com que outras células secretem, moléculas, incluindo, mas não se limitando a, IL-1β, TNF-α, TGF-beta, IFN-γ, IL-18 IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21 e MMPs.

[00586] Em outra modalidade, o agente terapêutico é uma pequena molécula que interage com Tregs, aumenta a atividade de Treg, promove ou intensifica a secreção de IL-10 por Tregs, aumenta o número de Tregs, aumenta a capacidade supressora de Tregs ou combinações dos mesmos.

[00587] Em algumas modalidades, a composição aumenta a atividade ou produção de Treg. Agentes intensificadores de Treg exemplificativos incluem, mas não estão limitados a glicocorticoide fluticasona, salmeteroal, anticorpos para IL-12, IFN-γ e IL-4; vitamina D3 e dexametasona e combinações dos mesmos.

[00588] Em algumas modalidades, o agente terapêutico é um anticorpo, por exemplo, um anticorpo de bloqueio de funções contra uma molécula pró-inflamatória, como IL-6, IL-23, IL-22 ou IL-21.

[00589] Como usado aqui, o termo “composto de rapamicina” inclui o composto tricíclico neutro rapamicina, derivados de rapamicina, análogos de rapamicina e outros compostos macrólidos que se pensa terem o mesmo mecanismo de ação que a rapamicina (por exemplo, inibição da função de citocina). A linguagem “compostos de rapamicina” inclui compostos com

similaridade estrutural com a rapamicina, por exemplo, compostos com uma estrutura macrocíclica similar, que foram modificados para aumentar sua eficácia terapêutica. Compostos de rapamicina exemplificativos são conhecidos na técnica (Ver, por exemplo, W095122972, WO 95116691, WO 95104738, Patente U.S. nº 6.015.809; 5.989.591; Patente U.S. nº 5.567.709; 5.559.112; 5.530.006; 5.484.790; 5.385.908; 5.202.332; 5.162.333; 5.780.462; 5.120.727).

[00590] A linguagem “compostos semelhantes a FK506” inclui FK506 e derivados e análogos de FK506, por exemplo, compostos com similaridade estrutural com FK506, por exemplo, compostos com uma estrutura macrocíclica similar que foram modificados para aumentar sua eficácia terapêutica. Exemplos de compostos semelhantes a FK5064 incluem, por exemplo, aqueles descritos em WO 00101385. Em algumas modalidades, a linguagem “composto de rapamicina”, conforme usada aqui, não inclui compostos do tipo FK506.

2. Anti-inflamatórios

[00591] Outros agentes terapêuticos adequados incluem, mas não estão limitados a agentes anti-inflamatórios. O agente anti-inflamatório pode ser não esteroide, esteroide ou uma combinação dos mesmos. Uma modalidade provê composições orais contendo cerca de 1% (p/p) a cerca de 5% (p/p), tipicamente cerca de 2,5% (p/p) de um agente anti-inflamatório. Exemplos representativos de agentes anti-inflamatórios não esteroides incluem, sem limitação, oxicans, tais como piroxicam, isoxicam, tenoxicam, sudoxicam; salicilatos, tais como aspirina, disalcid, benorilato, trilisato, safapryn, solprin, diflunisal e fendosal; derivados do ácido acético, tais como diclofenaco, fenclofenaco, indometacina, sulindaco, tolmetina, isoxepaco, furofenaco, tiopinaco, zidometacina, acematacina, fentiazaco, zomepiraco, clindanaco, oxepinaco, felbinaco e cetorolaco; fenamatos, tais como ácidos mefenâmico, meclofenâmico, flufenâmico, niflúmico e tolfenâmico; derivados de ácido

propiônico, tais como ibuprofeno, naproxeno, benoxaprofeno, flurbiprofeno, cetoprofeno, fenoprofeno, fenbufeno, indopropfeno, pirprofeno, carprofeno, oxaprozina, pranoprofeno, miroprofeno, tioxaprofeno, suprofeno, alminoprofeno e tiaprofeno; pirazóis, tais como fenilbutazona, oxifenbutazona, feprazona, azapropazona e trimetazona. Também podem ser utilizadas misturas desses agentes anti-inflamatórios não esteroides.

[00592] Exemplos representativos de fármacos anti-inflamatórios esteroides incluem, sem limitação, corticosteroides, tais como hidrocortisona, hidroxil-triancinolona, alfa-metil dexametasona, dexametasona-fosfato, dipropionatos de beclometasona, valerato de clobetasol, desonida, desoximetasona, acetato de desoxicorticosterona, dexametasona, diclorisona, diacetato de diflorasona, valerato de diflucortolona, fluadrenolona, acetonida de fluclorolona, fludrocortisona, pivalato de flumetasona, acetonida de fluosinolona, fluocinonida, butilésteres de flucortina, fluocortolona, acetato de fluprednideno (fluprednilideno), flurandrenolona, halcinonida, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, metilprednisolona, acetonida de triancinolona, cortisona, cortodoxona, flucetonida, fludrocortisona, diacetato de difluorosona, fluradrenolona, fludrocortisona, diacetato de diflurosona, acetonida de fluradrenolona, medrisona, ancinafel, ancinafida, betametasona e o saldo de seus ésteres, cloroprednisona, acetato de clorprednisona, clocortelona, clescinolona, diclorisona, diflurprednato, flucloronida, flunisolida, fluorometalona, fluperolona, fluprednisolona, valerato de hidrocortisona, ciclopentilpropionato de hidrocortisona, hidrocortamato, meprednisona, parametasona, prednisolona, dipropionato de beclometasona, triancinolona e misturas dos mesmos.

VII. Kits

[00593] Os agentes imunomoduladores B7-H4 descritos podem ser acondicionados em um recipiente hermeticamente fechado, como uma ampola ou sachê, indicando a quantidade. O agente pode ser fornecido como um pó

liofilizado esterilizado a seco ou concentrado sem água em um recipiente hermeticamente fechado e pode ser reconstituído, por exemplo, com água ou solução salina para a concentração apropriada para administração a um indivíduo. Por exemplo, o agente pode ser fornecido como um pó liofilizado estéril seco em um recipiente hermeticamente fechado a uma dosagem unitária de pelo menos 5 mg, ou pelo menos 10 mg, pelo menos 15 mg, pelo menos 25 mg, pelo menos 35 mg, pelo menos 45 mg, pelo menos 50 mg ou pelo menos 75 mg. O agente liofilizado pode ser armazenado entre 2 e 8°C em seu recipiente original e é tipicamente administrado em 12 horas, ou em 6 horas, ou em 5 horas, ou em 3 horas, ou em 1 hora após a reconstituição.

[00594] Em uma modalidade alternativa, o agente pode ser fornecido na forma líquida em um recipiente hermeticamente fechado indicando a quantidade e concentração. Em algumas modalidades, a forma líquida do agente pode ser fornecida em um recipiente hermeticamente fechado incluindo pelo menos 1 mg/ml, ou pelo menos 2,5 mg/ml, pelo menos 5 mg/ml, pelo menos 8 mg/ml, pelo menos 10 mg/ml, pelo menos 15 mg/ml, pelo menos 25 mg/ml, pelo menos 50 mg/ml, pelo menos 100 mg/ml, pelo menos 150 mg/ml, pelo menos 200 mg/ml do agente.

[00595] Pacotes e kits farmacêuticos incluindo um ou mais recipientes cheios com o agente também são providos. Além disso, um ou mais outros agentes profiláticos ou terapêuticos úteis para o tratamento de uma doença também podem ser incluídos no pacote ou kit farmacêutico. O pacote ou kit farmacêutico também pode incluir um ou mais recipientes cheios com um ou mais dos ingredientes das composições farmacêuticas descritas. Opcionalmente associado a tais recipientes pode estar um aviso na forma prescrita por um órgão governamental que regulamenta a fabricação, uso ou venda de produtos farmacêuticos ou biológicos, cujo aviso reflete a aprovação do órgão de fabricação, uso ou venda para administração humana.

[00596] Kits projetados para os métodos descritos acima também são

providos. As modalidades incluem tipicamente um ou mais agentes imunomoduladores B7-H4. Em modalidades particulares, um kit também inclui um ou mais outros agentes profiláticos ou terapêuticos úteis para o tratamento de câncer, em um ou mais recipientes. Em outras modalidades, um kit também inclui um ou mais agentes anti-inflamatórios úteis para o tratamento de doenças inflamatórias e autoimunes, em um ou mais recipientes.

[00597] Salvo definição em contrário, todos os termos técnicos e científicos aqui usados têm os mesmos significados como comumente entendidos por um versado na técnica à qual pertence a invenção descrita. As publicações citadas aqui e os materiais para os quais são citados são especificamente incorporados por referência.

[00598] Os versados na técnica reconhecerão, ou serão capazes de verificar usando apenas uma experimentação de rotina, muitos equivalentes às modalidades específicas da invenção aqui descritas. Tais equivalentes pretendem ser abrangidos pelas reivindicações a seguir.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de um agente imunomodulador que reduz a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos selecionada a partir do grupo que consiste em:

(i) um polipeptídeo ou proteína de fusão B7-H4 solúvel,

(ii) uma função que bloqueia o anticorpo anti-B7-H4,

(iii) um anticorpo que esgota as células positivas para B7-H4, e

(iv) combinações dos mesmos;

para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso.

2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente imunomodulador é uma proteína de fusão B7-H4.

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende um domínio extracelular de B7-H4 para sua variante funcional ligada a um domínio de imunoglobulina.

4. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 ou um fragmento da mesma.

5. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente imunomodulador é uma proteína de fusão B7-H4.

6. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende um domínio extracelular de B7-H4 ou sua variante funcional ligada a um domínio de imunoglobulina.

7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que a proteína de fusão B7-H4 compreende a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 ou um fragmento da mesma.

8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o agente imunomodulador é uma proteína B7-H4 solúvel ou um fragmento ou variante funcional da mesma.

9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que a proteína B7-H4 consiste em um domínio extracelular de B7-H4 ou um fragmento ou variante funcional do mesmo.

10. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizada pelo fato de que a resposta imune é uma resposta imune primária a um antígeno ou a um aumento da função das células efetoras, como aumento da proliferação específica de antígeno das células T, intensificação da produção de citocinas pelas células T, estímulo da diferenciação, ou uma combinação dos mesmos.

11. Método para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso, caracterizado pelo fato de que compreende

administrar ao indivíduo a composição farmacêutica como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 10.

12. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem câncer.

13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que o câncer é distinguido pela expressão aumentada de B7-H4.

14. Método de acordo com a reivindicação 12 ou 13, caracterizado pelo fato de que o câncer é um câncer de ovário, pulmão ou gastrointestinal.

15. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem uma doença infecciosa.

16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 15, caracterizado pelo fato de que se administra ao indivíduo a composição farmacêutica simultaneamente com uma vacina ou um componente da mesma.

17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 16, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente administrar ao indivíduo um segundo agente terapêutico.

18. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade eficaz de um agente imunomodulador que aumenta a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos selecionada a partir do grupo que consiste em: uma função que ativa o anticorpo anti-B7-H4, para diminuir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso.

19. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 18, caracterizada pelo fato de que a resposta imune é uma resposta imune primária a um antígeno ou a um aumento da função das células efetoras, como aumento da proliferação específica de antígeno das células T, intensificação da produção de citocinas pelas células T, estímulo da diferenciação, ou uma combinação dos mesmos.

20. Método para reduzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao indivíduo a composição farmacêutica como definida na reivindicação 18.

21. Método de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem inflamação.

22. Método de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem um distúrbio autoimune.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que o distúrbio autoimune é artrite reumatoide.

24. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 23, caracterizado pelo fato de que o indivíduo ou uma doença ou condição caracterizou expressão reduzida de B7-H4.

25. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 23, caracterizado pelo fato de que compreende adicionalmente administrar ao indivíduo um segundo agente terapêutico.

26. Composição ou método de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado pelo fato de que a B7-H4 é expressa em uma célula tumoral.

27. Molécula, caracterizada pelo fato de que compreende um fragmento de ligação ao antígeno de um anticorpo anti-B7-H4 humana, em que a molécula se liga imunoespecificamente à B7-H4 humana.

28. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula se liga imunoespecificamente à B7-H4 humana: (I) arranjada na superfície de uma célula; (II) arranjada na superfície de uma célula viva a uma concentração endógena; (III) arranjada na superfície de uma célula viva, e modula a ligação entre B7-H4 e seu receptor celular; (IV) arranjada na superfície de uma célula viva, e inibe a supressão imunológica por macrófagos associados a um tumor; (V) arranjada na superfície de uma célula viva, e modula uma atividade de um macrófago associado a um tumor; (VI) arranjada na superfície de uma célula tumoral viva e inibe a supressão mediada por tumor; ou (VII) arranjada na superfície de uma célula tumoral viva e causa lise celular específica do tumor.

29. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é capaz de ser internalizada na dita célula e de mediar a morte da dita célula.

30. Molécula de acordo com a reivindicação 28, caracterizada pelo fato de que a dita célula viva é uma célula tumoral, uma célula infectada por patógeno ou um macrófago.

31. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é marcada de forma detectável ou compreende uma toxina conjugada, fármaco, receptor, enzima, ligante do receptor.

32. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é um anticorpo anti-B7H4 e em que o anticorpo é: (I) um anticorpo monoclonal, um anticorpo quimérico ou um anticorpo humanizado; ou (II) um anticorpo biespecífico, triespecífico ou multiespecífico.

33. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a dita molécula é um anticorpo IgG1 ou IgG4.

34. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula tem atividade ADCC e é capaz de atividade direta de morte de tumores ou TAM e/ou inibição da supressão mediada por TAM ou tumor.

35. Molécula de acordo com a reivindicação 27, caracterizada pelo fato de que a molécula é um anticorpo biespecífico, triespecífico ou multiespecífico que é capaz de se ligar a B7-H4 e uma molécula diferente na mesma célula.

36. Composição farmacêutica para o tratamento de câncer ou doença infecciosa, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz ou profilaticamente eficaz da molécula como definida na reivindicação 27, e um carreador ou excipiente fisiologicamente aceitável, em que a dita molécula antagoniza uma supressão mediada por B7-H4 para modular uma resposta imune.

37. Método para intensificar ou induzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso, caracterizado pelo fato de que compreende: administrar uma quantidade eficaz da composição farmacêutica como definida na reivindicação 36.

38. Anticorpo monoclonal ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:3.

39. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que codifica uma cadeia leve de acordo com a SEQ ID NO:3.

40. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:7.

41. Anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:8.

42. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que codifica uma cadeia pesada de acordo com a SEQ ID NO:8.

43. Ácido nucleico, caracterizado pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 12.

44. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5 e 6.

45. Anticorpo anti-B7H4 ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11.

46. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 5, e 6 e uma cadeia pesada contendo CDRs de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 10 e 11.

47. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve com pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:3 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:8.

48. Anticorpo monoclonal anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que tem uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13.

49. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15 e 16.

50. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:29.

51. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 30.

52. Anticorpo monoclonal anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 30.

53. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:29.

54. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:46.

55. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 16 e 47.

56. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:49.

57. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 50.

58. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 47, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 11 e 50.

59. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:46 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:49.

60. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:52.

61. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54 e 55.

62. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:65.

63. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 e 68.

64. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 53, 54, e 55, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 67 e 68.

65. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:52 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 65.

66. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:85.

67. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86 e 87.

68. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:89.

69. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

70. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 4, 86, e 87 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 90 e 91.

71. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:85 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:89.

72. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 93.

73. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 94, 95 e 96.

74. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 98.

75. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

76. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 94, 95, e 96, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 99 e 100.

77. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de

identidade de sequência com a SEQ ID NO:93 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 98.

78. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 102.

79. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104 e 105.

80. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 107.

81. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

82. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 103, 104, e 105, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 108 e 109.

83. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 102 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 107.

84. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 111.

85. Cadeia leve de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 95, 112 e 113.

86. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 115.

87. Cadeia pesada de anticorpo, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 116, 117 e 118.

88. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 95, 112, e 113, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 116, 117 e 118.

89. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 111 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 115.

90. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 120.

91. Cadeia leve de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 54, 55 e 121.

92. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO:123.

93. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que compreende CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

94. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 54, 55, e 121, e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 66, 124 e 125.

95. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 120 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 123.

96. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 128.

97. Cadeia pesada de anticorpo anti-B7H4, caracterizada pelo fato de que contém CDRs com sequências de aminoácidos de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129 e 130.

98. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende CDRs da cadeia leve de acordo com as SEQ ID Nos: 14, 15, e 16 e CDRs da cadeia pesada de acordo com as SEQ ID Nos: 9, 129 e 130.

99. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 13 e uma cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com a SEQ ID NO: 128.

100. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NO:3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, ou 120.

101. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NO:8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, ou 128.

102. Anticorpo anti-B7H4, ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 3, 13, 46, 52, 85, 93, 102, 111, ou 120, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID Nos: 8, 29, 49, 65, 89, 98, 107, 115, 123, ou 128.

103. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende três CDRs de cadeia leve com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID Nos: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, ou 121.

104. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende três CDRs de cadeia pesada com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID Nos: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, ou 130.

105. Anticorpo anti-B7H4, ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende três CDRs de cadeia leve com sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 47, 53, 54, 55, 86, 87, 94, 95, 96, 103, 104, 105, 112, 113, e 121, e três CDRs de cadeia pesada com

sequências de aminoácidos que são selecionadas do grupo que consiste em SEQ ID NOs: 9, 10, 11, 30, 50, 66, 67, 68, 90, 91, 99, 100, 108, 109, 116, 117, 118, 124, 125, 129, e 130.

106. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende seis regiões determinantes de complementaridade (CDRs), em que as CDRs compreendem as três CDRs de cadeia leve de um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 107, 114, 115, ou 123, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO:4, 5, 6, 14, 15, 16, 49, 55, 56, 57, 88, 89, 96, 97, 97, 105, 106, 107, 114, 115, ou 123, e as três CDRs de cadeia pesada de um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, ou 132, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 9, 10, 11, 31, 52, 68, 69, 70, 92, 93, 101, 102, 118, 119, 120, 126, 127, 131, ou 132, e em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

107. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs: 19, 20, 21, 22, ou 23, e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:34, 35, 36, ou 37.

108. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia

leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 38, 39, 40, ou 41.

109. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 24, 25, 26, 27, ou 28, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 42, 43, 44, ou 45.

110. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende um domínio variável de cadeia leve que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs:58, 59, 60, ou 61 e um domínio variável de cadeia pesada que tem pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% ou 100% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOs: 70, 71, 72, 73, ou 74.

111. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 75, 76, 77, 78, ou 79.

112. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 62, 63, ou 64, e uma cadeia pesada com uma sequência de

aminoácidos de acordo com qualquer uma das SEQ ID NOs: 80, 81, 82, 83, ou 84.

113. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 38, 39, 40, ou 41, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

114. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, ou 28,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 42, 43, 44, ou 45, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 42,

43, 44, ou 45, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

115. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63 ou 64,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, ou 79, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

116. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende duas cadeias leves e duas cadeias pesadas,

em que as duas cadeias leves compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 62, 63, ou 64, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 62, 63 ou 64,

e as duas cadeias pesadas compreendem um polipeptídeo selecionado do grupo que consiste em SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84, ou uma variante do mesmo compreendendo pelo menos 50%, 60%, 70%, 80%,

85%, 90%, 95%, 99%, ou mais de identidade de sequência com as SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, ou 84, e

em que o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo se liga a B7-H4.

117. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

118. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

119. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

120. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

121. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

122. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

123. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

124. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:24 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

125. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

126. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

127. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a

SEQ ID NO:40.

128. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

129. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

130. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

131. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

132. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:25 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

133. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26

e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

134. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

135. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

136. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

137. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

138. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

139. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia

leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

140. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:26 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

141. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

142. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

143. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

144. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

145. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao

antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

146. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

147. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

148. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:27 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:45.

149. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:38.

150. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:39.

151. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:40.

152. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:41.

153. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:42.

154. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:43.

155. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:44.

156. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:28 e uma cadeia pesada que tem uma sequência de aminoácidos de acordo com a

SEQ ID NO:45.

157. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 75.

158. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:76.

159. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:77.

160. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:78.

161. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:79.

162. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e

uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 80.

163. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:81.

164. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 82.

165. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 83.

166. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 62 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 84.

167. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 75.

168. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia

leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:76.

169. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:77.

170. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:78.

171. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:79.

172. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 80.

173. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:81.

174. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao

antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 82.

175. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 83.

176. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 63 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 84.

177. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 75.

178. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:76.

179. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:77.

180. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:78.

181. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:79.

182. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 80.

183. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO:81.

184. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 82.

185. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ

ID NO: 83.

186. Anticorpo anti-B7H4 ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende uma cadeia leve com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 64 e uma cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos de acordo com a SEQ ID NO: 84.

RESUMO

COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MÉTODOS PARA AUMENTAR, PARA REDUZIR, PARA INTENSIFICAR OU INDUZIR UMA RESPOSTA IMUNE EM UM INDIVÍDUO, MOLÉCULA, ANTICORPO MONOCLONAL OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ÁCIDO NUCLEICO, ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, ANTICORPO ANTI-B7H4 OU FRAGMENTO DE LIGAÇÃO AO ANTÍGENO DO MESMO, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO ANTI-B7H4, E, CADEIAS LEVE E PESADA DE ANTICORPO

São providas composições e métodos de uso das mesmas para modular B7-H4. Por exemplo, são providos agentes imunomoduladores que reduzem a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Tais agentes podem ser usados para aumentar uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso. Também são providos agentes imunomoduladores que aumentam a expressão de B7-H4, ligação ao ligante, reticulação, sinalização negativa ou uma combinação dos mesmos. Tais agentes podem ser usados para reduzir uma resposta imune em um indivíduo que necessite disso.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1

Campo 2

Outras Informações:

- Nome do Arquivo: 14789173.txt
- Data de Geração do Código: 23/09/2020
- Hora de Geração do Código: 11:15:21
- Código de Controle:
  - Campo 1: 616D84B748EA59C3
  - Campo 2: 4843AA7476617656