(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0020098
(43) 공개일자 2021년02월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 31/337* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01) *A61K 31/555* (2006.01)
A61K 33/243 (2019.01) *A61K 38/17* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 11/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 14/495* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A61K 31/337 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7000898
(22) 출원일자(국제) 2019년06월12일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년01월12일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/036725
(87) 국제공개번호 WO 2019/241353
국제공개일자 2019년12월19일
(30) 우선권주장
62/684,385 2018년06월13일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
메르크 파텐트 게엠베하
독일 64293 다름스타트 프랑크푸르터 스트라세 250
(72) 발명자
두솔트, 이자벨
미국 02494 매사추세츠주 니덤 센트럴 애비뉴 620
그렌가, 이탈리아
미국 01803 매사추세츠주 벌링턴 킴볼 코트 9 아파트먼트 #809
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 김영

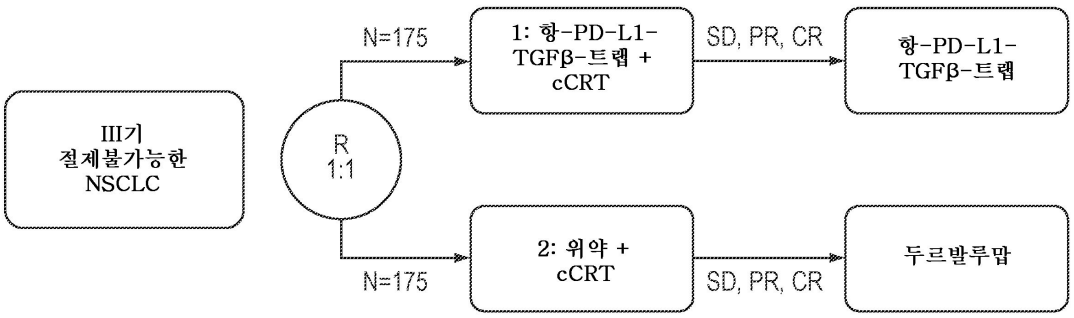
전체 청구항 수 : 총 109 항

(54) 발명의 명칭 **III기 NSCLC의 치료 및 치료와 연관된 병리학적 상태의 완화**

(57) 요 약

본 개시내용은 일반적으로 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)으로 진단된 치료 나이브 환자를 치료하고/거나 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 병리학적 상태를 완화시키는 방법에 사용하기 위한, 이중기능적 융합 단백질을 사용한 표적화된 TGF-β 억제를 위한 투여 레지멘에 관한 것이다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 31/519 (2013.01)
A61K 31/555 (2013.01)
A61K 33/243 (2019.01)
A61K 38/1793 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 11/00 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/495 (2013.01)
C07K 16/2827 (2013.01)

(72) 발명자
부그메이스터, 율리아
미국 01890 매사추세츠주 윈체스터 헤밍웨이 스트리트 90
칸델왈, 아카쉬
독일 64347 그리스하임 아우구스트 베벨 스트라쎄 61
크리스텐슨, 올라프
미국 02139 매사추세츠주 캠브릿지 아모리 스트리트 80
엘 바바프, 사메르
독일 60486 프랑크푸르트 암 마인 뢰미셔 링 5
란, 얀
미국 02478 매사추세츠주 벨몬트 뉴턴 스트리트 21

(30) 우선권주장
62/800,808 2019년02월04일 미국(US)
62/855,170 2019년05월31일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

III기 비소세포 폐암 (NSCLC)으로 진단되고, 병용 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 폐의 병리학적 장애가 발생할 위험이 있는 치료 나이브 환자에게 적어도 1200 mg의 용량의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 병용 cCRT와 함께 투여하는 제1 단계 및 환자에게 병용 cCRT의 부재 하에 적어도 1200 mg의 단백질을 투여하는 제2 단계를 포함하며,

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

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

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

상기 환자를 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 단계에서 cCRT와 연관된 폐의 병리학적 장애를 완화시키는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 병리학적 장애가 폐장염 및/또는 폐 섬유증인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키는 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1200 mg 내지 2400 mg인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1800 mg 내지 2400 mg인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1800 mg인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 2400 mg인 방법.

청구항 10

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

청구항 11

제10항에 있어서, 용량이 2주마다 1회 투여되는 1200 mg인 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 용량이 3주마다 1회 투여되는 2400 mg인 방법.

청구항 13

제10항에 있어서, 용량이 3주마다 1회 투여되는 2100 mg 또는 2400 mg인 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 편평 또는 비-편평 조직학을 나타내는 것인 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 PD-L1+ 발현을 나타내는 것인 방법.

청구항 16

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 PD-L1+ 발현을 나타내지 않는 것인 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 EGFR 감작화 돌연변이를 갖거나 또는 갖지 않는 것인 방법.

청구항 18

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 역형성 림프종 키나제 (ALK) 전위를 갖거나 또는 갖지 않는 것인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 ROS1 재배열을 갖거나 또는 갖지 않는 것인 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 치료가 환자의 질환 반응 또는 개선된 생존을 이루어내는 것인 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 질환 반응이 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 생존이 무진행 생존 (PFS)인 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법이 환자에게 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드, 및/또는 카르보플라틴/파클리탁셀을 투여하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법이 시스플라틴/페메트렉세드를 포함하고, III기 NSCLC가 비-편평 조직학을 나타내는 것인 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 시스플라틴이 약 50 mg/m^2 - 80 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 26

제23항 또는 제24항에 있어서, 페메트렉세드가 약 500 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 27

제23항에 있어서, 에토포시드가 약 50 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 28

제23항에 있어서, 파클리탁셀이 약 45 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 29

제23항에 있어서, 카르보플라틴이 30분에 걸쳐 AUC 2에 기초하여 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 방사선요법이 60-74 Gy의 선량을 포함하는 것인 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 방사선요법이 제1 단계 중의 6-7주 동안 제1일-제5일에 투여되는 것인 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질이 정맥내 투여에 의해 투여되는 것인 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 정맥내 투여가 단백질 포함 제제를 포함하는 사전충전 백, 사전충전 펜 또는 사전충전 시린지로 수행되는 것인 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 단계가 제1 단계의 완료 1-42일 후에 개시되는 것인 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 제2 단계를 12-24개월 동안 계속하는 것인 방법.

청구항 37

III기 비소세포 폐암 (NSCLC)으로 진단된 치료 나이브 환자에게 적어도 1200 mg의 용량의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 병용 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 함께 투여하는 제1 단계 및 상기 환자에게 적어도 1200 mg의 단백질을 병용 cCRT의 부재 하에 투여하는 제2 단계를 포함하며,

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

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

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

상기 환자에서 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 병리학적 장애를 완화시키는 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, 병리학적 장애가 폐장염 및/또는 폐 섬유증인 방법.

청구항 39

제37항 또는 제38항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 40

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1200 mg 내지 2400 mg인 방법.

청구항 41

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1800 mg 내지 2400 mg인 방법.

청구항 42

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1200 mg인 방법.

청구항 43

제37항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 2400 mg인 방법.

청구항 44

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여되는 것인 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 용량이 2주마다 1회 투여되는 1200 mg인 방법.

청구항 46

제44항에 있어서, 용량이 3주마다 1회 투여되는 2400 mg인 방법.

청구항 47

제44항에 있어서, 용량이 3주마다 1회 투여되는 2100 mg 또는 2400 mg인 방법.

청구항 48

제37항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 편평 또는 비-편평 조직학을 나타내는 것인 방법.

청구항 49

제37항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 PD-L1+ 발현을 나타내는 것인 방법.

청구항 50

제37항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 PD-L1+ 발현을 나타내지 않는 것인 방법.

청구항 51

제37항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 EGFR 감작화 돌연변이를 갖거나 또는 갖지 않는 것인 방법.

청구항 52

제37항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 역형성 림프종 키나제 (ALK) 전위를 갖거나 또는 갖지 않는 것인 방법.

청구항 53

제37항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 ROS1 재배열을 갖거나 또는 갖지 않는 것인 방법.

청구항 54

제37항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 치료가 환자의 III기 NSCLC의 질환 반응 또는 개선된 생존을 이루어내는 것인 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 질환 반응이 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환인 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 생존이 무진행 생존 (PFS)인 방법.

청구항 57

제37항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법이 환자에게 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드, 및/또는 카르보플라틴/파클리탁셀을 투여하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 58

제37항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법이 시스플라틴/페메트렉세드를 포함하고, III기 NSCLC가 비-편평 조직학을 나타내는 것인 방법.

청구항 59

제57항 또는 제58항에 있어서, 시스플라틴이 약 50 mg/m^2 - 80 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 60

제57항 또는 제58항에 있어서, 페메트렉세드가 약 500 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 61

제57항에 있어서, 에토포시드가 약 50 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 62

제57항에 있어서, 파클리탁셀이 약 45 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 63

제57항에 있어서, 카르보플라틴이 30분에 걸쳐 AUC 2에 기초하여 정맥내로 투여되는 것인 방법.

청구항 64

제37항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 방사선요법이 60 - 74 Gy의 선량을 포함하는 것인 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 방사선요법이 제1 단계 중의 6-7주 동안 제1일-제5일에 투여되는 것인 방법.

청구항 66

제37항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질이 정맥내 투여에 의해 투여되는 것인 방법.

청구항 67

제66항에 있어서, 정맥내 투여가 단백질 포함 제제를 포함하는 사전충전 백, 사전충전 펜 또는 사전충전 시린지

로 수행되는 것인 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 방법.

청구항 69

제37항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 단계가 제1 단계의 완료 1-42일 후에 개시되는 것인 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 제2 단계를 12-24개월 동안 계속하는 것인 방법.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, III기 비소세포 폐암 (NSCLC)이 절제불가능한 것인 방법.

청구항 72

제1항 내지 제22항 및 제37항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법이 백금-기반 화학요법인 방법.

청구항 73

III기 비소세포 폐암 (NSCLC)으로 진단되고, 병용 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 폐의 병리학적 장애가 발생할 위험이 있는 치료 나이브 환자를 치료하는 방법에 사용하기 위한 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질이며, 상기 방법은 환자에게 적어도 1200 mg의 용량의 단백질을 병용 cCRT와 함께 투여하는 제1 단계 및 환자에게 적어도 1200 mg의 단백질을 병용 cCRT의 부재 하에 투여하는 제2 단계를 포함하며,

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

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

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

항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 74

III기 비소세포 폐암 (NSCLC)으로 진단된 치료 나이브 환자에서 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 병리학적 장애를 완화시키는 방법에 사용하기 위한 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질이며, 상기 방법은 환자에게 적어도 1200 mg의 용량의 단백질을 병용 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 함께 투여하는 제1 단계 및 환자에게 적어도 1200 mg의 단백질을 병용 cCRT의 부재 하에 투여하는 제2 단계를 포함하며,

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

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

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

항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 75

제73항 또는 제74항에 있어서, 방법이 제1 단계에서 cCRT와 연관된 폐의 병리학적 장애를 완화시키는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 76

제75항에 있어서, 병리학적 장애가 폐장염 및/또는 폐 섬유증인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 77

제73항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 78

제73항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 79

제73항 내지 제78항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1200 mg 내지 2400 mg인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 80

제73항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1800 mg 내지 2400 mg인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 81

제73항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 1200 mg인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 82

제73항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 2400 mg인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 83

제73항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 용량이 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 84

제83항에 있어서, 용량이 2주마다 1회 투여되는 1200 mg인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 85

제83항에 있어서, 용량이 3주마다 1회 투여되는 2400 mg인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 86

제79항에 있어서, 용량이 3주마다 1회 투여되는 2100 mg 또는 2400 mg인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 87

제73항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 편평 또는 비-편평 조직학을 나타내는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 88

제73항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 PD-L1+ 발현을 나타내는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 89

제73항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, III기 NSCLC가 PD-L1+ 발현을 나타내지 않는 것인 항-PD-L1/TGFβ

트랩 단백질.

청구항 90

제73항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 EGFR 감작화 돌연변이를 갖거나 또는 갖지 않는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 91

제73항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 역형성 림프종 키나제 (ALK) 전위를 갖거나 또는 갖지 않는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 92

제73항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 ROS1 재배열을 갖거나 또는 갖지 않는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 93

제73항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 치료가 환자의 질환 반응 또는 개선된 생존을 이루어내는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 94

제93항에 있어서, 질환 반응이 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 95

제93항에 있어서, 생존이 무진행 생존 (PFS)인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 96

제73항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법이 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드, 및/또는 카르보플라틴/파클리탁셀을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 97

제73항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 화학요법이 시스플라틴/페메트렉세드를 포함하고, III기 NSCLC가 비-편평 조직학을 나타내는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 98

제96항 또는 제97항에 있어서, 시스플라틴이 약 50 mg/m^2 - 80 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 99

제96항 또는 제97항에 있어서, 페메트렉세드가 약 500 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 100

제96항에 있어서, 에토포시드가 약 50 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 101

제96항에 있어서, 파클리탁셀이 약 45 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 102

제96항에 있어서, 카르보플라틴이 30분에 걸쳐 AUC 2에 기초하여 정맥내로 투여되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩

단백질.

청구항 103

제73항 내지 제102항 중 어느 한 항에 있어서, 방사선요법이 60-74 Gy의 선량을 포함하는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 104

제103항에 있어서, 방사선요법이 제1 단계 중의 6-7주 동안 제1일-제5일에 투여되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 105

제73항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 정맥내 투여에 의해 투여되는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 106

제105항에 있어서, 정맥내 투여가 단백질 포함 제제를 포함하는 사전충전 백, 사전충전 펜 또는 사전충전 시린지로 수행되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 107

제106항에 있어서, 백이 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 108

제73항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 단계가 제1 단계의 완료 1-42일 후에 개시되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

청구항 109

제108항에 있어서, 제2 단계가 12-24개월 동안 계속되는 것인 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2018년 6월 13일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/684,385; 2019년 2월 4일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/800,808; 및 2019년 5월 31일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 62/855,170의 이익 및 우선권을 주장하며, 이들의 전체 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 함유하며, 이는 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 2019년 5월 31일에 생성된 상기 ASCII 카피는 EMD-010WO_SL_ST25.txt로 명명되고 그 크기가 75,888 바이트이다.

[0005] 개시내용의 분야

[0006] 본 개시내용은 일반적으로 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)으로 진단된 치료 나이브 대상체를 치료하고/거나 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 병리학적 상태를 완화하는 방법에 사용하기 위한, 이중기능적 융합 단백질을 사용한 표적화된 TGF-β 억제를 위한 투여 레지멘에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 배경기술

[0008] 화학요법 및 공동 방사선 요법 (cCRT)에 의한 국부 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC의 치료는 종종 NSCLC 환자

에서 질환 진행을 방지하지 못한다. 더욱이, 방사선 요법은 병리학적 상태, 예를 들어, 폐 섬유증의 원인이 된다. 폐의 방사선-유발된 섬유증은 치료의 개시 이후 처음 6개월 이내에 ≥20 Gy로 조사된 폐 조직에서 발생할 수 있다.

[0009] TGFβ는 폐 섬유증의 발생에 기여하는 주요 섬유화유발 분자이다. 본원에 참조로 포함되는, 미국 특허 출원 공개 번호 US 20150225483 A1은 항-프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1) 항체와 TGFβ 중화 "트랩"으로서의 종양 성장 인자 베타 수용체 유형 II (TGFβRII)의 가용성 세포외 도메인을 단일 분자로 조합한 이중기능적 융합 단백질을 기재한다. 구체적으로, 상기 단백질은 인간 TGFβRII의 세포외 도메인에 가요성 글리신-세린 링커를 통해 유전자 융합된, 항-PD-L1의 2개의 이뮤노글로불린 경쇄 및 항-PD-L1의 중쇄를 포함하는 2개의 중쇄로 이루어진 이종사량체이다 (도 1 참조). 이러한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자는 종양 미세환경에서 2가지의 주요 면역억제 메카니즘을 표적화하도록 설계된다. 미국 특허 출원 공개 번호 US 20150225483 A1은 환자의 체중을 기준으로 한 용량으로의 트랩 분자의 투여를 기재한다.

[0010] 본 개시내용은 III기 NSCLC로 진단된 치료 나이브 대상체를 치료하고/거나 공동 cCRT와 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)를 완화시키는 방법에 사용하기 위한, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자를 사용한 표적화된 TGF-β 억제를 위한 투약 레지멘을 제공한다.

발명의 내용

[0011] 개시내용의 요약

[0012] III기 NSCLC로 진단된 환자의 효과적인 치료를 위해, 그리고 섬유증으로 인한 급성 및 장기간 증후성 폐 손상에 대응하기 위해, 본 개시내용은 III기 NSCLC를 치료하고, 방사선-유발된 손상으로부터 가능한 한 많은 정상 폐 조직을 보존하고, 이에 의해 NSCLC 환자의 질환 예후 및 전체 생존을 개선시키는 치료 레지멘을 제공한다.

[0013] 한 측면에서, 본 개시내용은 2종의 면역 억제 경로: PD-L1 및 TGF-β를 동시에 표적화하고, 이에 의해 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서 III기 NSCLC를 치료하는, 병용 cCRT를 동반하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 제공한다.

[0014] 본 개시내용은 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서 III기 NSCLC를 치료하는, PD-L1 및 TGFβ를 표적화하는 이중기능적 단백질의 투여를 위한 개선된 투약 레지멘을 제공한다. 구체적으로, 다양한 투약 빈도로 투여되는 적어도 500 mg (예를 들어, 1200 mg, 1800 mg, 2400 mg)의 이중기능적 단백질의 투여를 수반하는 체중 비의존성 (BW-비의존성) 투약 레지멘 및 관련된 투여 형태가 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서 III기 NSCLC를 치료하기 위해 항종양 및 항암 치료제로서 사용될 수 있다. BW-비의존성 투약 레지멘은, 모든 III기 NSCLC 환자가 체중에 상관없이 종양 부위에서 적절한 약물 노출을 가질 것을 보장한다.

[0015] 본 개시내용의 이중기능적 단백질 (항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자)은 제1 및 제2 폴리펩티드를 포함한다. 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGFβ)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGFβRII) 또는 그의 단편을 포함한다. 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하며, 여기서 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위 (예를 들어, 본원에 기재된 임의의 항체 또는 항체 단편)를 형성한다. 본 개시내용의 이중기능적 단백질이 2개의 표적, 즉, (1) 대부분 막 결합되어 있는 PD-L1 및 (2) 혈액 및 간질 중에 가용성인 TGFβ에 결합하기 때문에, BW-비의존성 투약 레지멘은 종양 부위에서의 PD-L1을 억제하는 데 효과적일 뿐만 아니라 TGFβ를 억제하기에도 충분한 용량을 요구한다.

[0016] 한 측면에서, 본 개시내용은 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)으로 진단된 치료 나이브 대상체를 치료하고/거나 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 병리학적 상태를 완화하는 방법에 사용하기 위한, 이중기능적 융합 단백질을 사용한 표적화된 TGF-β 억제를 위한 투약 레지멘을 제공한다.

[0017] 한 측면에서, 본 개시내용은 편평 또는 비-편평 조직학을 나타내는 III기 NSCLC를 치료하고/거나 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 연관된 병리학적 상태를 완화하는 방법에 사용하기 위한, 이중기능적 융합 단백질을 사용

한 표적화된 TGF-β 억제를 위한 투약 레지멘을 제공한다. 특정 실시양태에서, III기 NSCLS는 절제불가능하다.

[0018] 한 측면에서, 본 개시내용은 환자에게 본 개시내용의 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 cCRT (예를 들어, 백금-기반 화학방사선)와 조합하여 투여한 다음, 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 투여함으로써, 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 공동 백금-기반 화학방사선과 조합하여 및 그 이후에 투여함으로써, 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다.

[0019] 특정 실시양태에서, cCRT는 방사선 (예를 들어, 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 방사선)과 공동으로 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드 또는 카르보플라틴/파클리탁셀로서 투여된다.

[0020] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 cCRT (예를 들어, 시스플라틴/페메트렉세드 및 방사선)와 조합하여 투여한 다음, 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 투여함으로써, 환자에서 비-편평 조직학을 갖는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 공동 시스플라틴/페메트렉세드 및 방사선 (예를 들어, 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 방사선)과 조합하여 및 그 이후에 투여함으로써, 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다.

[0021] 본 개시내용은 또한 TGFβ의 국부적인 고갈을 촉진하는 방법을 특색으로 한다. 방법은 상기 기재된 단백질을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 단백질은 용액 중의 TGFβ에 결합하고, 세포 표면 상의 PD-L1에 결합하며, 결합된 TGFβ를 세포 (예를 들어, 암 세포) 내로 운반한다.

[0022] 본 개시내용은 또한 종양 미세환경에서 세포를 상기 기재된 단백질에 노출시키는 것을 포함하는, 세포 (예를 들어, 암 세포 또는 면역 세포) 내 SMAD3 인산화를 억제하는 방법을 특색으로 한다.

[0023] 본 개시내용의 다른 실시양태 및 세부사항이 본원 하기에 제시된다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 $(Gly_4Ser)_4Gly$ (서열식별번호: 11) 링커를 통해 TGFβ 수용체 II의 2개의 세포외 도메인 (ECD)에 융합된 1개의 항-PD-L1 항체를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자의 개략적 도면이다.

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

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

도 4a는 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 대한 반응으로 생체내 TGFβ1의 고갈을 제시하는 그래프이다. 선 그래프는 범례에 나타내어진 바와 같이, 나이브, 이소형 대조군 및 3가지의 상이한 용량을 나타낸다. 도 4b는 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 대한 반응으로 생체내 TGFβ2의 고갈을 제시하는 그래프이다. 선 그래프는 범례에 나타내어진 바와 같이, 나이브, 이소형 대조군 및 3가지의 상이한 용량을 나타낸다. 도 4c는 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 대한 반응으로 생체내 TGFβ3의 고갈을 제시하는 그래프이다. 선 그래프는 범례에 나타내어진 바와 같이, 나이브, 이소형 대조군 및 3가지의 상이한 용량을 나타낸다. 도 4d는 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 의한 PD-L1의 점유율이 EMT-6 종양 시스템에서의 수용체 결합 모델을 지지한다는 것을 제시하는 그래프이다.

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

도 6a는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{avg} 분포의 박스-플롯이다. 도 6b는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 노출 AUC 분포의 박스-플롯이다. 도 6c는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 $C_{최저}$ 분포의 박스-플롯이다. 도 6d는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (1200 mg) 대 mg/kg (17.65 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다.

도 6e는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{avg} 분포의 박스-플롯이다. 도 6f는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대

mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 노출 AUC 분포의 박스-플롯이다. 도 6g는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 $C_{최저}$ 분포의 박스-플롯이다. 도 6h는 68kg 중앙 체중의 시뮬레이션 집단에서의 고정 (500 mg) 대 mg/kg (7.35 mg/kg) 기반 투약에 대한 전체 집단에서의 C_{max} 분포의 박스-플롯이다.

도 7a-7c는 마우스에서의 종양 정체와 연관된 용량 및 스케줄에서의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자의 예측 PK 및 PD-L1 수용체 점유율 ("RO")을 제시하는 그래프이다. 도 7a는 예측 혈장 농도 대 시간을 제시하는 그래프이다. 도 7b는 PBMC에서의 예측 PD-L1 RO 대 시간을 제시하는 그래프이다. 도 7c는 종양에서의 예측 PD-L1 RO 대 시간을 제시하는 그래프이다.

도 8은 대조군 마우스 (비처리), 및 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자, 방사선, 및 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자 및 방사선으로 처리된 마우스에서의 섬유증과 연관된 유전자 발현 서명의 박스 플롯을 나타낸다.

도 9는 마우스를 방사선, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자, 및 병용 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 방사선으로 처리한 후의 Cxcl12, Fap 및 Cdc6의 유전자 발현 서명 (RNA 서열분석 분석에 기초함)을 나타낸다. "대조군"은 처리되지 않은 채로 남아있는 마우스에서의 유전자 발현을 나타낸다.

도 10은 실시예 3에 기재된 치료 레지멘의 개략적 다이어그램이다. 안정 질환, 부분 반응 및 완전 반응은 각각 SD, PR 및 CR로 나타낸다.

도 11은 실시예 4에 기재된 치료 레지멘의 개략적 다이어그램이다. 안정 질환, 부분 반응 및 완전 반응은 각각 SD, PR 및 CR로 나타낸다.

도 12a-12c는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 트랩 대조군이 화학요법-유발된 섬유증을 감소시키지만 항-PD-L1은 그렇지 않는다는 것을 제시하는 막대 그래프이다. 도 12a는 항-PD-L1 항체가 이소형 대조군에 비해 콜라겐 함량에 영향을 미치지 않았지만, 트랩 대조군 및 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 둘 다 콜라겐 함량을 유의하게 감소시켰다는 것을 보여준다 (총 콜라겐 (퍼센트 피크로시리우스 레드 (PSR); PSR 염색은 파라핀-포매 조직 절편에서 콜라겐을 시각화하기 위해 통상적으로 사용되는 조직학적 기술임. PSR 염색된 콜라겐은 광학 현미경검사에서 적색으로 나타남); 각각 p = 0.0038 및 p = 0.0019). 도 12b는 항-PD-L1 항체가 이소형 대조군에 비해 퍼센트 αSMA에 영향을 미치지 않았지만, 트랩 대조군 및 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 둘 다 퍼센트 αSMA를 유의하게 감소시켰다는 것을 보여준다 (각각 p = 0.0003 및 p = 0.0013). 도 12c는 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 이소형 대조군 처리에 비해 pSmad2/3의 비를 감소시킨다는 것을 보여주는 막대 그래프이다 (p = 0.0006).

도 13a는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단독요법이 이소형 대조군에 비해 상피-중간엽 이행 (EMT) 서명 점수를 감소시켰고 (p < 0.0001), 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 방사선 요법의 조합이 이소형 대조군에 비해 EMT 서명 점수를 유의하게 하향조절하였다는 것 (p < 0.0001)을 보여주는 산점도이다. 도 13b는 섬유화유발 유전자 서명 점수가 또한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단독요법에 의해 감소되었지만, 방사선 요법에 의해서는 이소형 대조군에 비해 유의하게 증가하였음을 보여주는 산점도이다 (p < 0.0001). 또한, 방사선을 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합하는 것은 방사선 단독에 비해 섬유화유발 서명 점수를 감소시켰다.

도 14a는 방사선 요법과 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 ACTA2 발현을 유의하게 감소시켰음을 보여주는 박스-플롯을 도시한다. 4T1 모델에서 방사선 치료 단독은 ACTA2 발현에 대해 유의한 효과가 없었지만, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단독요법 및 방사선 요법과 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 ACTA2 발현을 유의하게 감소시켰다 (각각 p < 0.0001 및 p = 0.0236).

도 14b는 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 이소형 대조군에 비해 CTGF 발현을 유의하게 감소시켰고 (p = 0.0019), 예상된 바와 같이, 방사선 처리가 CTGF를 증가시켰으며, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 조합은 방사선 단독요법에 비해 방사선 처리의 효과를 유의하게 상쇄시켰음 (P = 0.0024)을 보여주는 박스-플롯을 도시한다.

도 14c는 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 이소형 대조군에 비해 FAP 발현을 유의하게 감소시켰고 (p < 0.0001), 방사선 요법에 의해 관찰된 FAP의 감소는 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 방사선의 조합에 의해 추가로 감소되었음 (P = 0.0054)을 보여주는 박스-플롯을 도시한다.

도 15는 종양당 다수의 관심 영역 (ROI)에 대해 결정되고 ROI 면적에 대해 정규화된 α-SMA+ 픽셀의 수를 보여주는 박스-플롯을 도시하고; 각각의 기호는 단일 종양에 대한 양성 픽셀의 비율을 나타낸다. P-값을 일원 ANOVA에 의해 결정하였다. 축척 막대, 250 μm.

도 16a-16d는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리가 마우스 종양에서 α-SMA 발현을 감소시킨다는 것을 보여주는 영상이다. 이소형 대조군 (도 16a)에 비해, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 α-SMA 발현을 유의하게 감소시켰으며 ($p < 0.0001$) (도 16b), 방사선 요법은 α-SMA 발현을 유의하게 증가시켰다 ($p = 0.0002$) (도 16c). 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 방사선 요법의 조합은 방사선 단독요법에 비해 α-SMA 발현을 유의하게 감소시켰고 ($p = 0.0001$) (도 16d), 이는 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 방사선-유발된 암-연관 섬유모세포 (CAF) 활성을 감소시킬 수 있다는 것을 시사한다.

도 17은 실시예 6에 기재된 치료 레지멘의 개략적 다이어그램이다. 안정 질환, 부분 반응 및 완전 반응은 각각 SD, PR 및 CR로 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 상세한 설명

[0026] "TGFβRII" 또는 "TGFβ 수용체 II"는 야생형 인간 TGFβ 수용체 유형 2 이소형 A 서열 (예를 들어, NCBI 참조 서열 (RefSeq) 수탁 번호 NP_001020018의 아미노산 서열 (서열식별번호: 8))을 갖는 폴리펩티드, 또는 야생형 인간 TGFβ 수용체 유형 2 이소형 B 서열 (예를 들어, NCBI RefSeq 수탁 번호 NP_003233의 아미노산 서열 (서열식별번호: 9))을 갖는 폴리펩티드, 또는 서열식별번호: 8 또는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열과 실질적으로 동일한 서열을 갖는 폴리펩티드를 의미한다. TGFβRII는 야생형 서열의 TGFβ-결합 활성의 적어도 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 25%, 35%, 50%, 75%, 90%, 95% 또는 99%를 보유할 수 있다. 발현된 TGFβRII의 폴리펩티드는 신호 서열이 결여되어 있다.

[0027] "TGFβ에 결합할 수 있는 TGFβRII의 단편"은 야생형 수용체 또는 상응하는 야생형 단편의 TGFβ-결합 활성의 적어도 일부 (예를 들어, 적어도 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 25%, 35%, 50%, 75%, 90%, 95% 또는 99%)를 보유하는, 적어도 20개 (예를 들어, 적어도 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 175 또는 200개)의 아미노산 길이의 NCBI RefSeq 수탁 번호 NP_001020018 (서열식별번호: 8) 또는 NCBI RefSeq 수탁 번호 NP_003233 (서열식별번호: 9), 또는 서열식별번호: 8 또는 서열식별번호: 9와 실질적으로 동일한 서열의 임의의 부분을 의미한다. 전형적으로, 이러한 단편은 가용성 단편이다. 예시적인 이러한 단편은 서열식별번호: 10의 서열을 갖는 TGFβRII 세포외 도메인이다.

[0028] "치료 나이브"는 질환으로 진단받은 이후로 그의 III기 NSCLC에 대해 선행 전신 치료를 받은 적이 없는 대상체 또는 환자를 지칭한다. 본 개시내용의 다양한 실시양태에서, 치료 나이브 환자는 항-PD-1, 항-PD-L1, 또는 항-세포독성 T-림프구-연관 항원-4 (CTLA-4) 항체 (이필리무맙 포함), 또는 T-세포 공-자극 또는 체크포인트 경로를 특이적으로 표적화하는 임의의 다른 항체 또는 약물로의 선행 요법을 받은 적이 없다. 본 개시내용의 다양한 실시양태에서, 치료 나이브 환자는 본 발명의 1차 (1L) 치료를 위해 선택된다.

[0029] "PD-L1 양성" 또는 "PD-L1+"는 예를 들어, 다코 IHC 22C3 PharmDx 검정에 의해, 또는 벤타나(VENTANA) PD-L1 (SP263) 검정에 의해 결정된 ≥ 1%의 PD-L1 양성 종양 세포를 나타낸다.

[0030] "PD-L1-높은" 또는 "높은 PD-L1"은 PD-L1 IHC 73-10 검정 (다코)에 의해 결정된 ≥ 80%의 PD-L1 양성 종양 세포, 또는 다코 IHC 22C3 PharmDx 검정에 의해 결정된 ≥ 50%의 종양 비율 스코어 (TPS) (TPS는 부분적이거나 완전한 막 염색 (예를 들어, PD-L1에 대한 염색)으로 생존 종양 세포의 백분율을 설명하는 IHC 22C3 PharmDx 검정과 관련된 기술분야의 용어임)를 지칭한다. IHC 73-10 및 IHC 22C3 검정은 둘 다 이들의 각각의 컷오프에서 유사한 환자 집단을 선택한다. 특정 실시양태에서, 22C3 PharmDx 검정과 높은 일치도를 갖는 벤타나 PD-L1 (SP263) 검정 (문헌 [Sughayer et al., Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol., (2018)] 참조)이 또한 PD-L1-높은 발현 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0031] "실질적으로 동일한"은 참조 아미노산 서열에 대해 적어도 50%, 바람직하게는 60%, 70%, 75%, 또는 80%, 보다 바람직하게는 85%, 90%, 또는 95%, 가장 바람직하게는 99%의 아미노산 서열 동일성을 나타내는 폴리펩티드를 의미한다. 비교 서열의 길이는 일반적으로 적어도 10개의 아미노산, 바람직하게는 적어도 15개의 인접 아미노산, 보다 바람직하게는 적어도 20, 25, 50, 75, 90, 100, 150, 200, 250, 300 또는 350개의 인접 아미노산, 가장 바람직하게는 전장 아미노산 서열일 것이다.

[0032] "환자"는 인간 또는 비-인간 동물 (예를 들어, 포유동물)을 의미한다. "환자", "대상체", "그를 필요로 하는 환자" 및 "그를 필요로 하는 대상체"는 본 개시내용에서 상호교환가능하게 사용되며, 본 개시내용에서 제공된 방법 및 조성물을 사용한 투여에 의해 치료될 수 있는 질환 또는 상태를 앓고 있거나 또는 이에 걸리기 쉬운 살

아있는 유기체를 지칭한다.

[0033] 본 개시내용에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료", 및 다른 문법적 등가물은 질환, 상태 또는 증상의 완화, 약화, 호전, 또는 방지, 추가의 증상의 방지, 증상의 기저 대사 원인의 호전 또는 방지, 질환 또는 상태의 억제, 예를 들어, 질환 또는 상태의 발생 정지, 질환 또는 상태의 경감, 질환 또는 상태의 퇴행 유발, 질환 또는 상태에 의해 유발된 상태의 경감, 또는 질환 또는 상태의 증상의 중단을 포함하며, 예방을 포함하도록 의도된다. 상기 용어는 치료적 이익 및/또는 예방적 이익을 달성하는 것을 추가로 포함한다. 치료적 이익은 치료될 기저 장애의 근절 또는 호전을 의미한다. 또한, 치료적 이익은, 환자가 여전히 기저 장애를 앓을 수도 있지만, 기저 장애와 연관된 생리학적 증상 중 1종 이상의 근절 또는 호전에 의해 환자에서 개선이 관찰되는 것으로 달성된다.

[0034] 본 개시내용의 치료 레지멘과 관련하여 용어 "강화"는 관련 기술분야에서 통상적으로 이해되는 바와 같이 사용된다. 예를 들어, 국립 암 연구소(National Cancer Institute)에 따르면, 용어 "강화 요법"은 하기와 같다: "초기 요법 후 암이 사라진 뒤에 제공되는 치료. 강화 요법은 체내에 남아 있을 수 있는 임의의 암 세포를 사멸시키기 위해 사용된다. 이는 방사선 요법, 줄기 세포 이식, 또는 암 세포를 사멸시키는 약물로의 치료를 포함할 수 있다. 또한, 증강(intensification) 요법 및 완화후 요법으로도 불린다". https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/consolidation-therapy, 최종 방문 2018년 6월 9일.

[0035] 용어 "무진행 생존" 또는 PFS는 무작위화 (치료 개시 6주 이상 후에 이루어질 수 있음)로부터 최초 문서화된 종양 진행 사건의 날짜 또는 질환 진행의 부재 하의 사망까지의 시간으로 정의된다. 용어 "전체 생존"은 무작위화로부터 임의의 원인으로 인한 사망까지의 시간으로 정의된다. 무진행 생존은 연구자에 의해, RECIST, 버전 1.1에 따라, 미리 규정된 감수성 분석으로서 평가된다.

[0036] 본 개시내용에 사용된 용어 "완화시키다", "완화시키는", 또는 "완화" 및 다른 문법적 등가물은 질환, 상태 또는 증상을 완화시키거나, 약화시키거나, 호전시키거나 또는 예방하는 것, 추가의 증상을 예방하는 것, 증상의 기저 대사 원인을 호전시키거나 또는 예방하는 것, 질환 또는 상태를 억제하는 것, 예를 들어, 질환 또는 상태의 발달을 정지시키는 것, 질환 또는 상태를 경감시키는 것, 질환 또는 상태의 퇴행을 유발하는 것, 질환 또는 상태에 의해 유발된 상태를 경감시키는 것, 또는 질환 또는 상태의 증상을 정지시키는 것을 포함하고, 예방을 포함하도록 의도된다.

[0037] "암"이란 III기 (IIIA기, IIIB기 및/또는 IIIC기) 비소세포 폐암 (NSCLC)이, 예를 들어 미국 국립 암 연구소에 의해 특징화된 일반적이고 통상적인 의미에 따라 사용되는 것을 의미한다. 따라서, 다양한 실시양태에서, 암은, 예를 들어 원발성 종양과 동일한 측 상의 림프절로 또는 원발성 종양과 대항하는 흉부 측 상의 림프절로 확산된 것이다.

[0038] 용어 "절제불가능한"은 수술을 통해 제거될 수 없는 암을 의미한다.

[0039] 용어 "위험", "위험이 있는" 및 "위험 인자"는 본원에서 관련 기술분야에서 통상적으로 이해되는 바와 같이 사용된다. 예를 들어, 위험 인자는 질환 또는 손상이 발생할 가능성을 증가시키는 개체의 임의의 속성, 특징 또는 노출이다. 특정 실시양태에서, 질환, 장애 또는 상태가 발생할 위험이 있는 사람은 그 질환, 장애 또는 상태의 발생 확률에 기여하거나 또는 이를 증진시키는 위험 인자에 사람이 노출된다는 것을 의미한다.

[0040] 본 개시내용의 상세한 설명 및 청구범위 전반에 걸쳐 단어 "포함하다" 및 상기 단어의 다른 형태, 예컨대 "포함하는" 및 "포함한다"는 비제한적으로 포함하는 것을 의미하며, 예를 들어, 다른 구성요소를 제외하도록 의도되지 않는다.

[0041] "공동-투여하다"란 본원에 기재된 조성물이 추가의 요법의 투여와 동시에, 그의 직전에, 또는 그의 직후에 투여되는 것을 의미한다. 본 개시내용의 단백질 및 조성물은 환자에게 단독으로 투여될 수 있거나 또는 제2, 제3 또는 제4 치료제(들)와 공동-투여될 수 있다. 공동-투여는 개별적으로 또는 조합하여 단백질 또는 조성물 (1종 초과의 치료제)의 동시적 또는 순차적 투여를 포함하도록 의도된다.

[0042] 단수 용어는 단수로 제한되도록 의도되지 않는다. 특정 실시양태에서, 단수 용어는 복수 형태를 지칭할 수도 있다. 본 개시내용 전반에 걸쳐 사용된 단수 형태는, 문맥이 달리 명백하게 지시하지 않는 한, 복수 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "조성물"이라는 언급은 단일 조성물뿐만 아니라, 복수의 이러한 조성물을 포함한다.

[0043] "재구성된" 제제는 동결건조 제제를 수성 담체 중에 용해시켜, 이중기능적 분자가 재구성된 제제 중에 용해되도록 하여 제조된 것이다. 재구성된 제제는 그를 필요로 하는 환자에게의 정맥내 투여 (IV)에 적합하다.

[0044] 용어 "약"은 제제의 제조 및 질환 또는 장애의 치료에서 작용제의 효능을 변화시키지 않는, 작용제의 농도 또는 양에서의 임의의 최소한의 변경을 지칭한다. 실시양태에서, 용어 "약"은 명시된 수치 값 또는 데이터 포인트의 ±15%를 포함할 수 있다.

[0045] 본 개시내용에서 범위는 "약"으로 수식된 하나의 특정한 값에서부터 및/또는 "약"으로 수식된 또 다른 특정한 값까지로 표현될 수 있다. 이러한 범위가 표현되는 경우에, 또 다른 측면은 하나의 특정한 값에서부터 및/또는 다른 특정한 값까지를 포함한다. 유사하게, 선행하는 "약"의 사용에 의해 값이 근사값으로서 표현되는 경우에, 특정한 값은 또 다른 측면을 형성하는 것으로 이해된다. 추가로, 각각의 범위의 종점은 다른 종점과 관련하여 및 다른 종점과 독립적으로 둘 다 유의한 것으로 이해된다. 또한, 본 개시내용에 개시된 다수의 값이 존재하며, 각각의 값이 또한 자체의 그 값뿐만 아니라 "약"으로 수식된 그 특정한 값으로 개시되는 것으로 이해된다. 또한, 본 출원 전반에 걸쳐, 데이터는 다수의 상이한 포맷으로 제공되며, 상기 데이터는 종점 및 시작점 및 데이터 포인트의 임의의 조합에 대한 범위를 나타내는 것으로 이해된다. 예를 들어, 특정한 데이터 포인트 "10" 및 특정한 데이터 포인트 "15"가 개시된다면, 10 내지 15뿐만 아니라 10 및 15 초과, 이상, 미만, 이하, 및 그와 동일한 것이 개시된 것으로 간주된다는 것이 이해된다. 또한, 2개의 특정한 단위 사이의 각각의 단위가 또한 개시된 것으로 이해된다. 예를 들어, 10 및 15가 개시된다면, 11, 12, 13, 및 14가 또한 개시된 것이다.

[0046] "등장성" 제제는 인간 혈액과 본질적으로 동일한 삼투압을 갖는 것이다. 등장성 제제는 일반적으로 약 250 내지 350 mOsmol/kgH_2O의 삼투압을 가질 것이다. 용어 "고장성"은 인간 혈액의 삼투압을 초과하는 삼투압을 갖는 제제를 기재하는 데 사용된다. 등장성은, 예를 들어 증기압 또는 빙결 유형 삼투압계를 사용하여 측정될 수 있다.

[0047] 용어 "완충제"는, 수용액에 첨가되는 경우에, 산 또는 알칼리 첨가시 또는 용매로의 희석시 pH 변동에 대해 용액을 보호할 수 있는 1종 이상의 성분을 지칭한다. 포스페이트 완충제 이외에도, 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제 등이 사용될 수 있으며, 이러한 경우에, 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대이온으로서 작용할 수 있다.

[0048] "산"은 수용액 중에서 수소 이온을 생성하는 물질이다. "제약상 허용되는 산"은, 이들이 제제화되는 농도 및 방식에서 비독성인 무기 및 유기 산을 포함한다.

[0049] "염기"는 수용액 중에서 히드록실 이온을 생성하는 물질이다. "제약상 허용되는 염기"는, 이들이 제제화되는 농도 및 방식에서 비-독성인 무기 및 유기 염기를 포함한다.

[0050] "동결건조보호제"는, 관심 단백질과 조합되는 경우에, 동결건조 및 후속 저장 시 단백질의 화학적 및/또는 물리적 불안정성을 방지 또는 감소시키는 분자이다.

[0051] "보존제"는 박테리아 작용을 감소시키며 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있는 작용제이다. 보존제의 첨가는, 예를 들어 다중-사용 (다중-용량) 제제의 생산을 용이하게 할 수 있다. 잠재적 보존제의 예는 옥타데실디메틸 벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤즈알코늄 클로라이드 (알킬 기가 장쇄 화합물인 알킬벤질디메틸암모늄 클로라이드의 혼합물), 및 벤제토늄 클로라이드를 포함한다. 다른 유형의 보존제는 방향족 알콜, 예컨대 페놀, 부틸 및 벤질 알콜, 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레조르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올 및 m-크레졸을 포함한다.

[0052] "계면활성제"는 소수성 부분 (예를 들어, 알킬 쇄) 및 친수성 부분 (예를 들어, 카르복실 및 카르복실레이트기) 둘 다를 함유하는 표면 활성 분자이다. 계면활성제가 본 발명의 제제에 첨가될 수 있다. 본 발명의 제제에서 사용하기에 적합한 계면활성제는 폴리소르베이트 (예를 들어 폴리소르베이트 20 또는 80); 폴록사머 (예를 들어 폴록사머 188); 소르비탄 에스테르 및 유도체; 트리톤; 소듐 라우렐 술페이트; 소듐 옥틸 글리코시드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-술포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸- 또는 세틸-베타인; 라우르아미도프로필-코카미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필베타인 (예를 들어, 라우로아미도프로필); 미리스트아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필-디메틸아민; 소듐 메틸 코코일- 또는 디소듐 메틸 올레일-타우레이트; 및 모나퀴트(MONAQUAT)™ 시리즈 (모나 인더스트리즈, 인크.(Mona Industries, Inc.), 뉴저지주 패터슨), 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 및 에틸렌 및 프로필렌 글리콜의 공중합체

(예를 들어, 플루로닉스(Pluronics), PF68 등)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0053] 체중-비의존성 투약 레지멘

[0054] 분자의 다양한 전임상 및 임상 평가 결과에 의해 확인된, 적어도 500 mg의 본원에 기재된 이중기능적 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자의 치료 나이브 환자로의 투여를 수반하는 체중-비의존성 투약 레지멘이 개발되었다. 2가지 연구가 분자의 안전성, 내약성 및 약동학을 조사하며, 치료된 환자의 혈액으로부터 수득된 말초 혈액 단핵 세포 상의 PD-L1 표적 점유율의 평가 및 TGFβ1, TGFβ2 및 TGFβ3의 농도의 측정을 포함하였다. 이들 평가는 총 350명의 대상체 (고형 종양의 1, 3, 10 및 20 mg/kg의 용량 증량 코호트 및 선택된 종양 유형의 3 mg/kg, 10 mg/kg, 500 mg 및 1200 mg의 확장 코호트)로부터의 데이터에 기반하였다.

[0055] PK/효능 모델 (마우스 모델)

[0056] 종양 모델에서의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자의 효능을 결정하기 위한 실험을 또한 수행하였다. EMT-6 이종이식편으로부터의 효능 결과를 사용하여 PK/효능 모델을 확립하였다. 마우스에서의 확립된 PK 모델을 사용하여 효능 실험 설정을 위한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 혈장 노출을 시뮬레이션하였다. 추정 파라미터가 표 1에 기록되어 있다. 추정 KC50 값은 55.3 μg/mL였으며, 이는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자의 최대 항종양 활성의 50%가 달성될 수 있는 평균 혈장 농도를 나타낸다.

[0057] 모델의 기본 진단법 플롯은 모델 설정오류를 드러내지 않았다. 모델 예측은 종양 부피 분포를 포착할 수 있다. 조건부 가중 잔차는 추세 없이 평균이 0이고 분산이 1인 정규 분포이다. 이어서, PK/효능 모델을 사용하여 상이한 용량에서의 인간 예측 농도-시간 프로파일을 사용한 종양 성장 억제 (TGI)를 시뮬레이션하였다.

[0058] 표 1: EMT-6 이종이식편 마우스에서의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자에 대한 마우스 PK/효능 모델 파라미터

파라미터	추정치	Std	CV%	%IIV
K_g (h^{-1})	0.068	0.0005	0.82	40
K_{tr} (h^{-1})	0.055	0.0024	4.4	76
KC_{50} (ng/mL)	55324.6	522.3	4.4	232
K_{max}	2	0.09	1	93
기준선 (mm^3)	88.3	0.87	1	47

[0059]

[0060] PD-L1 점유율에 기반한 반응 분석 (마우스 모델에서)

[0061] 효능 실험을 사용하여, 마우스에서의 반응을 분석하여 종양 퇴행 또는 종양 정체에 의해 분류하고, PK 및 PD-L1 수용체 점유율 (RO)을 통합형 PK/RO 모델에 기반하여 예측하였다. 상기 접근법은 종양에서의 95% 초과의 PD-L1 RO와 연관된 40 내지 100 μg/mL의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자 혈장 농도가 종양 퇴행에 도달하는 데 요구된다는 것을 입증하였다. 말초에서의 95% 초과의 PD-L1 RO와 연관된 10 내지 40 μg/mL의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자 혈장 농도가 종양 정체에 도달하는 데 요구된다.

[0062] 마우스에서의 반응 분석 및 예측 PK/RO는, 마우스에서의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자에 대한 PK/RO/효능을 요약한 도 7a-7c로 이어진다. 95%의 PD-L1 RO가 40 μg/mL의 혈장 농도에서 달성되며, 예상/추정 TGI는 단지 약 65%이다. 농도를 40 μg/mL를 초과하여 증가시키면 종양 성장 억제의 추가의 증가가 이루어진다. 95%의 종양 성장 억제가 약 100 μg/mL의 평균 혈장 농도에서 달성된다.

[0063] 하기 기재된 집단 PK 모델에 따르면, 약 100 μg/mL의 평균 농도를 유지하기 위해서는 2주마다 1회 투여되는 적어도 500 mg의 균일 용량이 요구되는 한편, 약 100 μg/mL의 $C_{최저}$를 유지하기 위해서는 2주마다 1회 투여되는 약 1200 mg의 균일 용량이 요구된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg 등)의 본 개시내용의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩)이 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자가 2주마다 1회 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자가 3주마다 1회 대상체에게 투여된다.

[0064] 실시양태에서, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400

mg 등)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg 등)의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 대상체에게 투여된다.

[0065] 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 2주마다 1회 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 3주마다 1회 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질 산물이 2주마다 1회 대상체에게 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질 산물이 3주마다 1회 대상체에게 투여된다.

[0066] 체중-비의존성 투약 레지멘의 확립

[0067] 노출에서의 보다 적은 변동성을 달성하고, 투약 오차를 줄이며, 용량 제조에 필요한 시간을 줄이고, mg/kg 투약과 비교하여 약물 낭비를 줄임으로써, 유리한 치료 결과를 가능하게 하는, 임상 및 전임상 데이터에 의해 확인된, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자의 투여를 위한 새로운 체중-비의존성 투약 레지멘이 창출되었다. 한 실시양태에 따르면, 환자의 체중에 상관없이 적어도 500 mg의 균일 용량이 투여될 수 있다. 또 다른 실시양태에 따르면, 환자의 체중에 상관없이 적어도 1200 mg의 균일 용량이 투여될 수 있다. 또 다른 실시양태에 따르면, 환자의 체중에 상관없이 적어도 1800 mg의 균일 용량이 투여될 수 있다. 특정 실시양태에 따르면, 환자의 체중에 상관없이 적어도 2400 mg의 균일 용량이 투여될 수 있다. 전형적으로, 이러한 용량은 반복적으로, 예컨대, 예를 들어 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여될 것이다. 예를 들어, 1200 mg의 균일 용량이 2주마다 1회 투여될 수 있거나, 또는 1800 mg의 균일 용량이 3주마다 1회 투여될 수 있거나, 또는 2400 mg의 균일 용량이 3주마다 1회 투여될 수 있다.

[0068] 인간에서의 약동학 (PK) 분석 샘플링

[0069] 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 최적 균일 용량을 결정하기 위한 약동학적 분석의 예는 하기 기재된 실험에 의해 제공된다.

[0070] 약동학 (PK) 데이터 분석을 위한 혈청 샘플을 제1 용량의 시작 전에 및 제1 용량 후 하기 시점에 수집하였다: 제1일에 주입 직후 및 주입의 시작 후 4시간; 제2일에 제1일 주입 종료 후 적어도 24시간; 및 제8일 및 제15일. 선택된 후속 투약 경우에는 제15일, 제29일, 제43일에 투약전, 주입 종료 및 주입 종료 후 2 내지 8시간에 샘플을 수집하였다. 그 후의 시점 제57일, 제71일 및 제85일에는, 투약전 샘플을 수집하거나 또는 수집해야 하며, 이어서 12주까지는 6주마다 1회 PK 샘플링하고, 그 뒤에는 12주마다 1회 PK 샘플링하였다. 확장상에는 간헐적 PK 샘플링을 수행하였다.

[0071] 상기 기재된 PK 데이터를 사용하여 집단 PK 모델을 생성하고 가능한 투약 레지멘의 시뮬레이션을 수행하였다. 문헌 [Gastonguay, M., Full Covariate Models as an Alternative to Methods Relying on Statistical Significance for Inferences 약 Covariate Effects: A Review of Methodology and 42 Case Studies, (2011) p. 20, Abstract 2229]에 기재된, 완전 접근법(full approach) 모델로서 공지된 모델링 방법을 시뮬레이션으로부터 수득된 집단 모델 데이터에 적용하여 하기 특색을 갖는 파라미터를 수득하였다: 선형 제거를 갖는 2-구획 PK 모델, CL, V1 및 V2에 대한 IIV, 조합된 상가적 및 비례 잔류 오차, CL 및 V1에 대한 완전 공변량 모델. 하기 기준선 공변량을 최종 모델에 포함시켰다: 연령, 체중, 성별, 인종, 알부민, CRP, 혈소판 계수, eGFR, 간 손상, ECOG 스코어, 종양 크기, 종양 유형 및 생물제제로의 선행 치료. 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩)의 전형적인 약동학 파라미터 추정치에 대해 하기 추정치를 수득하였다: 클리어런스 (CL) 0.0177 L/h (6.2%), 중심 분포 부피 (V1) 3.64 L (8.81%), 말초 분포 부피 (V2) 0.513 L (25.1%), 및 구획간 클리어런스 (Q) 0.00219 L/h (17.8%). 환자간 변동성은 CL의 경우에는 22%, V1의 경우에는 20%, V2의 경우에는 135%였다. 체중은 CL 및 V1 둘 다에 관한 관련 공변량이었다. 균일 투약 접근법을 지지하기 위해, 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩)의 노출 변동성에 대한 투약 전략의 영향을 탐구하였다. 구체

적으로, 2주마다 1회 1200 mg의 균일 투약 접근법 대 2주마다 1회 17.65 mg/kg (68kg 대상체에 대한 2주마다 1회 1200 mg에 상응함) 또는 2주마다 1회 15 mg/kg (80 kg 대상체에 대한 1200 mg에 상응함)의 BW-조정된 투약 접근법을 사용한 노출 분포를 비교하기 위한 시뮬레이션을 수행하였다. 2주마다 1회 500 mg의 균일 투약 접근법 대 2주마다 1회 7.35 mg/kg의 BW-조정된 투약 접근법 (68kg 대상체에 대한 2주마다 1회 500 mg에 상응함)을 사용한 노출 분포를 비교하기 위한 추가의 시뮬레이션을 수행하였다. 추가로, 3주마다 1회 하기 균일 용량을 평가하기 위한 시뮬레이션을 수행하였다: 1200 mg, 1400 mg, 1600 mg, 1800 mg, 2000 mg, 2200 mg, 2400 mg, 2600 mg, 2800 mg, 3000 mg.

[0072] 하기 시뮬레이션 방법론을 사용하였다: 파라미터 추정치의 N=200 세트를 파라미터 추정치의 다변량 정규 분포로부터, 최종 PK 모델 분산-공분산 행렬을 사용하여 도출하였다. 각각의 파라미터 추정치에 대해, 200개의 IIV 추정치를 $OMEGA 다변량 정규 분포로부터 도출하여, 총 40000개 (200 x 200)의 대상을 초래하였다. 최초 데이터세트 (N=380)를 대체에 의해 재샘플링하여 매칭된 공변량의 40000개 세트를 생성하고, 정상-상태 노출 메트릭스 (AUC, C_{avg}, $C_{최저}$ 및 C_{max})를 각각의 투약 레지멘에 대해 생성하였다.

[0073] 시뮬레이션은 넓은 BW 스펙트럼에 걸쳐, 노출에서의 변동성이 고정 투약에 비해 BW-기반 투약에서 약간 더 높다는 것을 제시하였다. 68kg의 체중 중앙값에 대해 17.65 mg/kg 및 1200 mg 균일 용량 또는 7.35 mg/kg 및 500 mg 균일 용량에서의 노출 분포의 예가 각각 도 6a 및 6e에 제시되어 있다. 시뮬레이션은 또한 환자 집단에 걸친 체중 사분위수에서의 노출 분포에서 정반대의 추세를 보여주었다: 저체중 환자는 고정 투약으로 보다 높은 노출을 갖는 반면, 고체중 환자는 BW-조정 투약으로 보다 높은 노출을 갖는다.

[0074] 인간에서의 효과적인 용량/투약 레지멘의 확립: 2차 비소세포 폐암 (2L NSCLC)에서의 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 2주마다 1회 (q2w) 투약에 따른 예비 용량-반응

[0075] 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 치료 효능의 예는 하기 기재된 임상 연구에 의해 확립된다.

[0076] 1차 표준 치료 (선행 면역요법 없음) 후에 진행된, PD-L1에 대해 비선택된 진행성 NSCLC를 갖는 환자를 무작위화하여 질환 진행, 허용되지 않는 독성 또는 시험 철회까지, 본 개시내용의 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 2주마다 1회 (q2w) 500 mg 또는 1200 mg (코호트 당 n=40)으로 제공하였다. 1차 목적은 고형 종양의 반응 평가 기준 버전 1.1 (RECIST v1.1)에 따라 최상의 전체 반응 (BOR)을 평가하는 것이었다. 다른 목적은 용량 탐구 및 안전성/내약성 평가를 포함하였다. 종양 세포 PD-L1 발현 수준 (Ab 클론 73-10 (다코) [>80% = >50%, Ab 클론 22C3 (다코)의 경우])은 PD-L1 <1%, ≥1% (PD-L1+), 또는 ≥80% (PD-L1-높은)로 특징화되었다. 종양 세포 PD-L1 발현은 75명의 환자에서 평가 가능하였다.

[0077] 분석 시의 데이터 컷오프 시점에, 80명의 환자는 11.9주의 중앙값 (범위, 2-66.1) 동안 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 제공받았고, 추적 중앙값은 51.1주였다. 10명의 환자가 계속 치료받고 있다. 연구자-평가된 확증 전체 반응률 (ORR)은 23.8% (500 mg ORR, 20.0%; 1200 mg ORR, 27.5%)였으며, 용량 수준 둘 다에 걸쳐 18명의 부분 반응 (PR)이 확인되었고, 1200 mg에서 1명의 완전 반응 (CR)이 확인되었다. 표 2에 제시된 바와 같이, PD-L1 발현 수준에 걸쳐 임상 활성을 관찰하였다: 1200 mg에서 ORR은 PD-L1+의 경우 37.0% 및 PD-L1-높은 환자의 경우 85.7%였다. 가장 흔한 치료-관련 유해 사건 (TRAE)은 소양증 (20.0%), 반점구진성 발진 (18.8%), 및 감소된 식욕 (12.5%)이었다. 23명의 환자 (28.8%)에서 등급 3 TRAE가 발생하고, 2명 환자에서 등급 4 TRAE가 발생하였다. TRAE로 인해 8명의 환자 (500 mg, n=2; 1200 mg, n=6)가 치료를 중단하였다. 치료-관련 사망은 발생하지 않았다.

[0078] 표 2: 2주마다 1회 500 mg 또는 1200 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로 치료된 2L NSCLC 환자에서의 관찰된 반응률

ORR	**500 mg**	**1200 mg**	**총계**
전체, n, %	8/40, 20.0	11/40, 27.5	19/80, 23.8
PD-L1+ (≥1%) pts, n, %	6/31, 19.4	11/27, 40.7	17/58, 29.3
PD-L1-높은 (≥80%) pts, n, %	2/6, 33.3	6/7, 85.7	8/13, 62.0

[0079]

[0080] 이들 결과는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단독요법이 잘 허용되었고, 1200 mg에서 PD-L1+ 및 PD-L1-높은 환자에서 각각 37.0% 및 85.7%의 ORR을 가져, PD-L1 하위군에 걸쳐 효능을 나타내었다는 것을 입증한다. 보다 높은 PD-L1 종

양 세포 발현에서의 유의하게 개선된 반응률을 고려하면 (예를 들어, 1200 mg으로 치료된 환자), 2L 치료로서 관찰된 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 이러한 유망한 활성은 치료 나이브 PD-L1-높은 또는 PD-L1-비의존성 NSCLC 환자에서의 1차 (1L) 요법으로서 옮겨가거나 상향시킬 것으로 예상된다.

[0081] 다양한 투약 빈도를 갖는 투약 레지멘의 확립

[0082] 덜 빈번한 투여를 가능하게 하고/거나 병용 의약과의 투약 스케줄의 조정을 가능하게 하는, 다양한 투약 빈도를 갖는 데이터 레지멘을 생성하였다. 구체적으로, 상기 기재된 예비 집단 PK 모델링 및 시뮬레이션 방법론을 사용하여, 다양한 투약 레지멘에 대한 노출을 시뮬레이션하고 노출에 기반하여 레지멘을 비교하였다.

[0083] 이들 시뮬레이션에 따르면, 전형적인 대상체에 대해 약 100 μg/mL의 평균 농도를 유지하기 위해 2주마다 1회 투여되는 적어도 500 mg의 균일 용량이 요구되는 한편, 약 100 μg/mL의 $C_{최저}$를 유지하기 위해 2주마다 1회 투여되는 약 1200 mg의 균일 용량이 요구된다.

[0084] C_{avg}에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 1200 mg은 3주마다 1회의 1800 mg과 등가인 한편, $C_{최저}$에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 1200 mg은 3주마다 1회의 2800 mg과 등가이다. 또한 C_{avg}에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 500 mg은 3주마다 1회의 750 mg과 등가이고; $C_{최저}$에 대한 시뮬레이션에 따르면, 2주마다 1회의 500 mg은 3주마다 1회의 1,167 mg과 등가이다.

[0085] 암 표적으로서의 TGFβ

[0086] 본 개시내용은 특정 종양 세포 또는 면역 세포의 외부 표면 상에서 발견되는 세포성 면역 체크포인트 수용체를 표적화하는 항체 모이어티에 테더링된 가용성 시토카인 수용체 (TGFβRII)를 사용하여 TGFβ를 포착함으로써 종양 미세환경에서의 TGFβ의 국부적인 감소를 가능하게 한다. 면역 체크포인트 단백질에 대한 본 개시내용의 항체 모이어티의 예는 항-PD-L1이다. 본원에서 때때로 "항체-시토카인 트랩"으로 지칭되는 본 개시내용의 이중기능적 분자는 항-수용체 항체 및 시토카인 트랩이 물리적으로 연결되기 때문에 정확하게 효과적이다. (예를 들어, 항체 및 수용체를 별개의 분자로서 투여하는 것에 비한) 결과적인 장점은, 부분적으로, 시토카인이 자가분비 및 주변분비 기능을 통해 국부 환경에서 우세하게 기능하기 때문이다. 항체 모이어티는 국부 면역억제성 자가분비 또는 주변분비 효과를 중화함으로써 가장 효과적일 수 있는 종양 미세환경으로 시토카인 트랩을 향하게 한다. 또한, 항체의 표적이 항체 결합 시 내재화되는 경우에, 시토카인/시토카인 수용체 복합체의 클리어런스를 위한 효과적인 메카니즘이 제공된다. 항체-매개 표적 내재화가 PD-L1에 대해 제시되었고, 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 항-PD-L1과 유사한 내재화 속도를 갖는 것으로 제시되었다. 이는 첫째로, 항-TGFβ 항체가 완전히 중화되지 않았을 수도 있고; 둘째로, 항체가 시토카인의 반감기를 연장하는 담체로서 작용할 수 있기 때문에 항-TGFβ 항체를 사용하는 것에 비해 뚜렷한 이점이다.

[0087] 실제로, 하기 기재된 바와 같이, 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로의 치료는 종양 세포 상의 PD-L1과 면역 세포 상의 PD-1 사이의 상호작용 및 종양 미세환경에서의 TGFβ의 중화의 동시 차단으로 인해 상승작용적 항종양 효과를 도출한다. 이론에 얽매이지는 않지만, 이는 아마도 2가지의 주요 면역 회피 메카니즘을 동시에 차단하는 것과, 추가적으로 단일 분자 개체에 의한 종양 미세환경에서의 TGFβ의 고갈로부터 얻어지는 상승작용적 효과 때문일 것이다. 이러한 고갈은 (1) 종양 세포의 항-PD-L1 표적화; (2) TGFβ 트랩에 의한 종양 미세환경에서의 TGFβ 자가분비/주변분비의 결합; 및 (3) 결합된 TGFβ의 PD-L1 수용체-매개 세포내이입을 통한 파괴에 의해 달성된다. 또한, Fc (IgG의 결정화 단편)의 C-말단에 융합된 TGFβRII는 Fc의 N-말단에 TGFβRII가 위치한 TGFβRII-Fc보다 수배 더 강력하였다.

[0088] TGFβ는 암의 분자상 지킬과 하이드로서의 그의 모순적인 역할로 인해 암 면역요법에서 다소 모호한 표적이었다 (Bierie et al., Nat. Rev. Cancer, 2006; 6:506-20). 일부 다른 시토카인과 같이, TGFβ 활성은 발생 단계 및 상황 의존적이다. 실제로, TGFβ는 종양 촉진자 또는 종양 억제자로서 작용하여, 종양 개시, 진행 및 전이에 영향을 미칠 수 있다. TGFβ의 이러한 이중 역할의 기저 메카니즘은 여전히 불명확하다 (Yang et al., Trends Immunol. 2010; 31:220-227). Smad-의존성 신호전달이 TGFβ 신호전달의 성장 억제를 매개하는 한편, Smad 비의존성 경로는 그의 종양-촉진 효과에 기여하는 것으로 상정되어 있지만, Smad-의존성 경로가 종양 진행에 수반된다는 것을 나타내는 데이터도 또한 존재한다 (Yang et al., Cancer Res. 2008; 68:9107-11).

[0089] TGFβ 리간드 및 수용체 둘 다는 치료 표적으로서 집중적으로 연구되고 있다. 3가지 리간드 이소형, TGFβ1, 2 및 3이 존재하고, 이들은 모두 동종이량체로서 존재한다. 또한 3가지 TGFβ 수용체 (TGFβR)가 존재하고, 이들은 TGFβR 유형 I, II 및 III로 불린다 (Lopez-Casillas et al., J. Cell Biol. 1994; 124:557-68). TGFβRI

는 신호전달 쇄이고, 리간드에 결합할 수 없다. TGFβRII는 높은 친화도로 리간드 TGFβ1 및 3에 결합하지만, TGFβ2에는 결합하지 않는다. TGFβRII/TGFβ 복합체는 TGFβRI를 동원하여, 신호전달 복합체를 형성한다 (Won et al., Cancer Res. 1999; 59:1273-7). TGFβRIII는 TGFβ가 그의 신호전달 수용체에 결합하는 것의 양성 조절자이고, 모든 3가지 TGFβ 이소형에 높은 친화도로 결합한다. 세포 표면 상에서, TGFβ/TGFβRIII 복합체는 TGFβRII에 결합하고, 이어서 TGFβRI를 동원하고, 이는 TGFβRIII를 대체하여 신호전달 복합체를 형성한다.

[0090] 3가지 상이한 TGFβ 이소형 모두가 동일한 수용체를 통해 신호를 전달하지만, 이들은 생체 내에서 차등 발현 패턴 및 비-중첩 기능을 갖는 것으로 공지되어 있다. 3가지 상이한 TGF-β 이소형 녹아웃 마우스는 별개의 표현형을 갖고, 이는 수많은 비-보상 기능을 나타낸다 (Bujak et al., Cardiovasc. Res. 2007; 74:184-95). TGFβ1 널 마우스는 조혈 및 혈관생성 결함을 갖고, TGFβ3 널 마우스는 폐 발생 및 결함있는 구개발생을 나타내는 한편, TGFβ2 널 마우스는 다양한 발달 이상을 나타내고, 가장 현저한 것은 다중 심장 변형이다 (Bartram et al., Circulation 2001; 103:2745-52; Yamagishi et al., Anat. Rec. 2012; 295:257-67). 또한, TGFβ는 허혈 및 재관류 손상 후의 심근 손상의 복구에서 주요 역할을 하는 것에 연루된다. 성인 심장에서, 심근세포는 TGFβ를 분비하고, 이는 자가분비로서 작용하여 자발적인 박동수를 유지시킨다. 중요하게는, 심근세포에 의해 분비되는 TGFβ의 70-85%는 TGFβ2이다 (Roberts et al., J. Clin. Invest. 1992; 90:2056-62). TGFβRI 키나제 억제제로의 치료에 의해 제기된 심장독성 우려에도 불구하고, 본 출원인은 원숭이에서의 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 있어서, 심장독성을 포함한 독성의 결여를 관찰하였다.

[0091] TGFβ를 중화하는 치료 접근법은 가용성 수용체 트랩으로서의 TGFβ 수용체의 세포외 도메인 및 중화 항체를 사용하는 것을 포함한다. 수용체 트랩 접근법에서, 가용성 TGFβRIII는 모든 3가지 TGFβ 리간드에 결합하기 때문에 확실한 선택으로 보일 수 있다. 그러나, 762개의 아미노산 잔기의 세포외 도메인을 갖는 280-330 kD 글리코사미노글리칸 (GAG)-당단백질로서 자연 발생하는 TGFβRIII는 생물요법제 개발을 위한 매우 복합적인 단백질이다. GAG가 없는 가용성 TGFβRIII이 곤충 세포에서 생산될 수 있고, 이는 강력한 TGFβ 중화제인 것으로 제시되었다 (Vilchis-Landeros et al., Biochem. J., (2001), 355:215). TGFβRIII의 2개의 개별 결합 도메인 (엔도글린-관련 및 우로모듈린-관련)은 독립적으로 발현될 수 있지만, 이들은 가용성 TGFβRIII의 친화도보다 20 내지 100배 더 낮은 친화도 및 훨씬 감소된 중화 활성을 갖는 것으로 제시되었다 (Mendoza et al., Biochemistry 2009; 48:11755-65). 다른 한편으로는, TGFβRII의 세포외 도메인은 단지 136개의 아미노산 잔기 길이이고, 25-35 kD의 글리코실화 단백질로서 생산될 수 있다. 추가로 재조합 가용성 TGFβRII는 200 pM의 K_D로 TGFβ1에 결합하는 것으로 제시되었고, 이는 세포 상의 전장 TGFβRII에 대한 50 pM의 K_D와 꽤 유사하다 (Lin et al., J. Biol. Chem. 1995; 270:2747-54). 가용성 TGFβRII-Fc가 항암제로서 시험되었고, 종양 모델에서 이는 확립된 뮤린 악성 중피종 성장을 억제하는 것으로 제시되었다 (Suzuki et al., Clin. Cancer Res., 2004; 10:5907-18). TGFβRII는 TGFβ2에 결합하지 않고, TGFβRIII는 TGFβRII보다 더 낮은 친화도로 TGFβ1 및 3에 결합하기 때문에, TGFβRIII의 엔도글린 도메인과 TGFβRII의 세포외 도메인의 융합 단백질이 박테리아에서 생산되었고, 이는 TGFβRII 또는 RIII보다 더 효과적으로 세포 기반 검정에서 TGFβ1 및 2의 신호전달을 억제하는 것으로 제시되었다 (Verona et al., Protein Engg. Des. Sel. 2008; 21:463-73).

[0092] TGFβ 리간드의 모든 3가지 이소형을 중화하는 또 다른 접근법은 범-중화 항-TGFβ 항체, 또는 수용체가 TGFβ 1, 2 및 3에 결합하는 것을 차단하는 항-수용체 항체를 스크리닝하는 것이다. TGFβ의 모든 이소형에 대해 특이적인 인간 항체인 GC1008이 진행성 악성 흑색종 또는 신세포 암종을 갖는 환자에서 I상/II상 연구 중이다 (Morris et al., J. Clin. Oncol. 2008; 26:9028 (Meeting abstract)). 치료가 안전하고 잘 허용되는 것으로 확인되었지만, 제한된 임상 효능만이 관찰되었고, 따라서 면역학적 효과의 추가의 특징화 없이 항-TGFβ 요법의 중요성을 해석하기는 어려웠다 (Flavell et al., Nat. Rev. Immunol. 2010; 10:554-67). 또한 임상에서 시험된 TGFβ-이소형-특이적 항체가 존재하였다. TGFβ1에 특이적인 항체인 메텔리무맙은 녹내장 수술에 대한 과도한 수술후 반흔형성을 방지하기 위한 치료로서 2상 임상 시험에서 시험되었고; TGFβ2에 특이적인 항체인 레르델리무맙은 3상 연구에서 눈 수술 후, 안전하지만 반흔형성을 개선시키는 데 비효과적인 것으로 확인되었다 (Khaw et al., Ophthalmology 2007; 114:1822-1830). 또한 수용체가 모든 3가지 TGFβ 이소형에 결합하는 것을 차단하는 항-TGFβRII 항체, 예컨대 항-인간 TGFβRII 항체 TR1 및 항-마우스 TGFβRII 항체 MT1은 마우스 모델에서 원발성 종양 성장 및 전이에 대해 일부 치료 효능을 나타내었다 (Zhong et al., Clin. Cancer Res. 2010; 16:1191-205). 그러나, 항체 TR1 (LY3022859)의 최근 I상 연구에서, 25 mg (균일 용량) 이상으로의 용량 증량은, 예방적 치료에도 불구하고, 제어되지 않는 시토카인 방출로 인해 불안전한 것으로 간주되었다 (Tolcher et al., Cancer Chemother. Pharmacol. 2017; 79:673-680). 지금까지, 종종 꽤 독성인 TGFβ 신호전달의 소분자 억제제를 포함한, TGFβ 표적화 항암 치료에 대한 연구의 대부분은 거의 전임상 단계이고, 수득된

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

[0093] 본 개시내용의 항체-TGFβ 트랩은 TGFβ에 결합할 수 있는 인간 TGFβ 수용체 II (TGFβRII)의 적어도 일부분을 함유하는 이중기능적 단백질이다. 특정 실시양태에서, TGFβ 트랩 폴리펩티드는 TGFβ에 결합할 수 있는 인간 TGFβ 수용체 유형 2 이소형 A (서열식별번호: 8)의 가용성 부분이다. 특정 실시양태에서, TGFβ 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 8의 아미노산 73-184를 적어도 함유한다. 특정 실시양태에서, TGFβ 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 8의 아미노산 24-184를 함유한다. 특정 실시양태에서, TGFβ 트랩 폴리펩티드는 TGFβ에 결합할 수 있는 인간 TGFβ 수용체 유형 2 이소형 B (서열식별번호: 9)의 가용성 부분이다. 특정 실시양태에서, TGFβ 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 9의 아미노산 48-159를 적어도 함유한다. 특정 실시양태에서, TGFβ 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 9의 아미노산 24-159를 함유한다. 특정 실시양태에서, TGFβ 트랩 폴리펩티드는 서열식별번호: 9의 아미노산 24-105를 함유한다.

[0094] 작용 메카니즘

[0095] 치료 항체에 의한 탈-억제를 위해 T 세포 억제 체크포인트를 표적화하는 접근법은 집중 연구 분야이다 (검토를 위해, 문헌 [Pardoll, Nat. Rev. Cancer 2012; 12:253-264] 참조). 하나의 접근법에서, 항체 모이어티 또는 그의 항원 결합 단편은 T 세포 상의 T 세포 억제 체크포인트 수용체 단백질, 예컨대, 예를 들어, CTLA-4, PD-1, BTLA, LAG-3, TIM-3 또는 LAIR1을 표적화한다. 또 다른 접근법에서, 항체 모이어티는 항원 제시 세포 및 종양 세포 (이들은 자신의 면역 회피를 위해 상기 반대-수용체 중 일부를 끌어들임) 상의 반대-수용체, 예컨대, 예를 들어 PD-L1 (B7-H1), B7-DC, HVEM, TIM-4, B7-H3 또는 B7-H4를 표적화한다.

[0096] 본 개시내용은 자신의 항체 모이어티 또는 그의 항원 결합 단편을 통해 탈-억제를 위해 T 세포 억제 체크포인트를 표적화하는 항체 TGFβ 트랩을 고려한다. 이를 위해, 본 출원인은 TGFβ 트랩을, 다양한 T 세포 억제 체크포인트 수용체 단백질을 표적화하는 항체, 예컨대 항-PD-1, 항-PD-L1, 항-TIM-3 및 항-LAG3과 조합하는 것의 항종양 효능을 시험하였다.

[0097] 프로그램화된 사멸 1 (PD-1)/PD-L1 축은 종양 면역 회피를 위한 중요한 메카니즘이다. 항원을 만성적으로 감지하는 이펙터 T 세포는 PD-1 발현에 의해 표시되는 소진된 표현형을 띠며, 이러한 상태 하에 종양 세포가 PD-L1을 상향조절함으로써 관여한다. 추가적으로, 종양 미세환경에서, 골수 세포, 대식세포, 실질 세포 및 T 세포는 PD-L1을 상향조절한다. 상기 축의 차단이 이들 T 세포에서의 이펙터 기능을 회복시킨다. 항-PD-L1/TGFβ 트랩은, 종양 미세환경에서 아폽토시스 호중구, 골수-유래 억제 세포, T 세포 및 종양을 포함한 세포에 의해 생산된 억제성 시토카인인, TGFβ (1, 2 및 3 이소형)에도 또한 결합한다. 가용성 TGFβRII에 의한 TGFβ의 억제는 CD8+ T 세포 항종양 효과의 증가와 연관된 방식으로 악성 중피종을 감소시켰다. 활성화된 CD4+ T 세포 및 Treg 세포에 의해 생산되는 TGFβ1의 부재는 종양 성장을 억제하며 마우스를 자발성 암으로부터 보호하는 것으로 나타났다. 따라서, TGFβ는 종양 면역 회피에 있어서 중요해 보인다.

[0098] TGFβ는 정상 상피 세포에 대해 성장 억제 효과를 가져, 상피 세포 항상성의 조절인자로서 기능하며, 이는 초기 발암 동안 종양 억제인자로서 작용한다. 종양이 악성종양으로 진행됨에 따라, 종양에 대한 TGFβ의 성장 억제 효과는 1종 이상의 TGFβ 경로 신호전달 구성요소에서의 돌연변이를 통해 또는 종양원성 재프로그램화를 통해 소실된다. TGFβ 억제에 대한 감수성이 소실되면, 종양은 계속해서 높은 수준의 TGFβ를 생산하며, 이는 종양 성장을 촉진하는 작용을 한다. TGFβ 시토카인은 다양한 암 유형에서 과다발현되며, 이는 종양 병기와 상관관계가 있다. 종양 미세환경에서 종양 세포 자체, 미성숙 골수 세포, 조절 T 세포 및 기질 섬유모세포를 포함한 많은 유형의 세포가 TGFβ를 생산하고; 이들 세포는 집합적으로 세포외 기질에 TGFβ의 거대 저장소를 생성한다. TGFβ 신호전달은 전이를 촉진하고, 혈관신생을 자극하고, 선천성 및 적응성 항종양 면역을 억제함으로써 종양 진행에 기여한다. 전반적으로 면역억제 인자로서, TGFβ는 활성화된 세포독성 T 세포 및 NK 세포의 이펙터 기능을 직접적으로 하향-조절하며, 나이브 CD4+ T 세포의 면역억제 조절 T 세포 (Treg) 표현형으로의 분화를 강력하게 유도한다. 추가로, TGFβ는 대식세포 및 호중구를, 면역억제 시토카인의 생산과 연관된 상처-치유 표현형으로 분극화시킨다. 치료 전략으로서, TGFβ 활성의 중화는 효과적인 항종양 면역을 회복시키고, 전이를 차단하고, 혈관신생을 억제함으로써 종양 성장을 제어하는 잠재력을 갖는다.

[0099] 폐의 방사선-유발된 섬유증은 치료의 개시 이후 처음 6개월 이내에 ≥20 Gy로 조사된 폐 조직에서 발생할 수 있다. TGFβ는 폐 섬유증의 발생에 기여하는 주요 섬유화유발 분자이다. 따라서, cCRT로의 국부 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC의 치료 동안 TGFβ를 표적화하는 것은 cCRT의 유해한 효과를 상쇄시키는 데 도움이 될 수 있다.

[0100] 많은 폐 섬유증 사례는 발병 시에 무증상이고, 최소 변화를 갖는 폐 조직에서의 초기 섬유화 변경은 폐에서의 염증성 변화와 구별하기 어려울 수 있다. 증후성 사례는 종종 초기 급성 염증 후에 발현되는 높은 수준의 순환 혈소판-유래 및 염기성 섬유모세포 성장 인자, 섬유모세포 증식 및 이동, TGFβ의 방출, 및 혈관 및 폐포 구획을 포함한 조사된 폐의 임의의 조직학적 공간에서의 콜라겐 침착을 특징으로 하는 만성 염증을 수반한다. 이러한 폐의 만성 염증은 환기-관류 미스매치를 초래하고, 1차 증상으로서 폐 기능 (또는 심지어 기능적 상태)의 악화를 초래할 수 있다. 마른 기침 및 호흡곤란을 포함한 다른 증상은 급성-방사선 폐장염과 유사할 수 있지만, 이들 증상은 일반적으로 성질상 보다 만성적이다. 병리생리학적 시간 경과로 인해, 증상은 방사선 요법 후 수개월까지 관찰되지 않고, 요법 후 수년 동안 계속 진행될 수 있다.

[0101] 따라서, III기 NSCLC로 진단된 환자의 병용 화학요법 및 방사선 요법으로의 치료 동안, 급성 및 장기간 증후성 폐 손상을 피하기 위해, 그리고 효과적인 암 요법을 위해, 치료 개시 시에 방사선-유발된 손상으로부터 가능한 한 많은 정상 폐를 보존하는 것이 유리할 것이다.

[0102] 본 개시내용은 III기 NSCLC로 진단된 치료 나이브 대상체를 치료하고/거나 공동 cCRT와 연관된 병리학적 상태, 예를 들어, 폐 섬유증을 완화시키는 방법에 사용하기 위한, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자를 사용한 표적화된 TGF-β 억제를 위한 투여 레지멘을 제공한다. 치료될 III기 NSCLC는 기준선 PD-L1 발현 수준에 비의존성이다. 폐 섬유증의 기준선으로부터의 변화는 고해상도 CT 스캔 및 폐 기능 검사로 측정된다.

[0103] PD-1 및 TGFβ 동시 차단은 염증유발 시토카인을 회복시킬 수 있다. 항-PD-L1/TGFβ 트랩은, 예를 들어, 완전 인간 IgG1 항-PD-L1 항체의 각각의 중쇄의 C 말단에 글리신/세린 링커를 통해 공유 연결된 인간 TGFβ 수용체 TGFβRII의 세포외 도메인을 포함한다. 반응은 분명하지만, 효과 크기 증가의 여지가 있는 항-PD-1/PD-L1 부류에 대해 새로 드러난 상황을 고려하면, 보완적 면역 조정 단계의 공동-표적화가 종양 반응을 개선시킬 것이라고 추정된다. 유사한 TGF-표적화제로서, TGFβ1, 2 및 3을 표적화하는 모노클로날 항체인 프레솔리무맙은 흑색종을 갖는 대상체에 대한 I상 시험에서 종양 반응의 초기 증거를 제시하였다.

[0104] 본 개시내용은 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (트랩 대조군 "항-PDL-1(mut)/ TGFβ 트랩")의 TGFβRII 부분이 항종양 활성을 도출한다는 것을 입증하는 실험을 제공한다. 예를 들어, Detroit 562 인간 인두 암종 모델에서의 피하 이식 이후, 항-PDL1(mut)/ TGFβ 트랩은 25μg, 76μg 또는 228μg이 투여되는 경우에 종양 부피의 용량-의존성 감소를 도출하였다 (도 5).

[0105] 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 PD-L1 및 TGFβ 둘 다에 동시에 결합된다는 것을 입증하는 실험을 제공한다 (도 2).

[0106] 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질 (예를 들어 항-PD-L1/TGFβ 트랩)이 시험관내에서 PD-L1 및 TGFβ 의존성 신호전달을 억제한다는 것을 입증하는 실험을 제공한다. 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 초항원 자극 이후 IL-2 유도 검정에 의해 측정된 바와 같이 PD-L1-매개 면역 억제의 차단을 통해 시험관내에서 T 세포 이펙터 기능을 증진시켰다는 것을 입증하는 실험을 제공한다 (도 3). 대략 100 ng/ml에서, 본 개시내용의 단백질은 시험관내에서 IL-2 수준의 현저한 증가를 유도하였다 (도 3).

[0107] 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질 (예를 들어 항-PD-L1/TGFβ 트랩)이 생체내에서 혈액으로부터의 TGFβ의 고갈을 유발한다는 것을 입증하는 실험을 제공한다. JH 마우스에 동소 이식된 EMT-6 유방암 세포의 55 μg 또는 164 μg 또는 492 μg의 본 개시내용의 단백질로의 치료는 TGFβ1 (도 4a), TGFβ2 (도 4b) 및 TGFβ3 (도 4c)의 효율적이고 특이적인 고갈을 이루었다. 게다가, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 PD-L1 표적을 점유했다는 것을 입증하는 실험을 제공하며, 이는 본 개시내용의 단백질이 EMT-6 종양 시스템에서의 수용체 결합 모델에 적합하다는 개념을 지지한다 (도 4d).

[0108] 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질이 PD-L1 및 TGFβ에 효율적으로, 특이적으로 및 동시에 결합하였고, 다양한 마우스 모델에서 강력한 항종양 활성을 보유하였고, 종양 성장 및 전이를 억제하였을 뿐만 아니라, 생존을 연장시키고 (예를 들어, 최대 6개월, 12개월, 18개월, 22개월, 28개월, 32개월, 38개월, 44개월, 50개월, 56개월, 62개월, 68개월, 74개월, 80개월, 86개월, 92개월, 98개월, 104개월, 또는 110개월 이하의 생존) 장기 보호 항종양 면역을 부여하였다는 것을 입증하는 실험을 제공한다. 특정 실시양태에서, 연장된 생존은 적어도 108개월이다.

[0109] 항-PD-L1 항체

[0110] 본 개시내용의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자는 관련 기술분야에 기재된, 임의의 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원-결

합 단편을 포함할 수 있다. 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 29E2A3 항체 (바이오레전드(Biolegend), 카탈로그 번호 329701)는 상업적으로 입수가능하다. 항체는 모노클로날 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체일 수 있다. 항체 단편은 Fab, F(ab')2, scFv 및 Fv 단편을 포함하고, 이는 하기의 추가의 세부사항에 기재되어 있다.

[0111] 예시적인 항체는 PCT 공개 WO 2013/079174에 기재되어 있다. 이들 항체는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 포함한 중쇄 가변 영역 폴리펩티드를 포함할 수 있고, 여기서

[0112] (a) HVR-H1 서열은 $X_1YX_2MX_3$ (서열식별번호: 21)이고;

[0113] (b) HVR-H2 서열은 SIYPSGGX_4TFYADX_5VKG (서열식별번호: 22)이고;

[0114] (c) HVR-H3 서열은 IKLGTVTTVX_6Y (서열식별번호: 23)이고;

[0115] 추가로 여기서: X_1은 K, R, T, Q, G, A, W, M, I 또는 S이고; X_2는 V, R, K, L, M 또는 I이고; X_3은 H, T, N, Q, A, V, Y, W, F 또는 M이고; X_4는 F 또는 I이고; X_5는 S 또는 T이고; X_6은 E 또는 D이다.

[0116] 한 실시양태에서, X_1은 M, I 또는 S이고; X_2는 R, K, L, M 또는 I이고; X_3은 F 또는 M이고; X_4는 F 또는 I이고; X_5는 S 또는 T이고; X_6은 E 또는 D이다.

[0117] 또 다른 실시양태에서 X_1은 M, I 또는 S이고; X_2는 L, M 또는 I이고; X_3은 F 또는 M이고; X_4는 I이고; X_5는 S 또는 T이고; X_6은 D이다.

[0118] 또 다른 실시양태에서, X_1은 S이고; X_2는 I이고; X_3은 M이고; X_4는 I이고; X_5는 T이고; X_6은 D이다.

[0119] 또 다른 측면에서, 폴리펩티드는 하기 식에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 중쇄 프레임워크 서열을 추가로 포함한다: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4).

[0120] 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열 또는 인간 배선 프레임워크 서열로부터 유래된다.

[0121] 추가 측면에서, 프레임워크 서열 중 적어도 1개는 하기이다:

[0122] HC-FR1은 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (서열식별번호: 24)이고;

[0123] HC-FR2는 WVRQAPGKGLEWVS (서열식별번호: 25)이고;

[0124] HC-FR3은 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열식별번호: 26)이고;

[0125] HC-FR4는 WGQGTLVTVSS (서열식별번호: 27)이다.

[0126] 추가 측면에서, 중쇄 폴리펩티드는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함한 가변 영역 경쇄와 추가로 조합되고, 여기서:

[0127] (a) HVR-L1 서열은 TGTX$_7$X$_8$DVGX$_9$YNYVS (서열식별번호: 28)이고;

[0128] (b) HVR-L2 서열은 $X_{10}VX_{11}X_{12}$RPS (서열식별번호: 29)이고;

[0129] (c) HVR-L3 서열은 SSX$_{13}$TX$_{14}$X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$RV (서열식별번호: 30)이고;

[0130] 추가로 여기서: X_7은 N 또는 S이고; X_8은 T, R 또는 S이고; X_9는 A 또는 G이고; X_{10}은 E 또는 D이고; X_{11}은 I, N 또는 S이고; X_{12}는 D, H 또는 N이고; X_{13}은 F 또는 Y이고; X_{14}는 N 또는 S이고; X_{15}는 R, T 또는 S이고; X_{16}은 G 또는 S이고; X_{17}은 I 또는 T이다.

[0131] 또 다른 실시양태에서, X_7은 N 또는 S이고; X_8은 T, R 또는 S이고; X_9는 A 또는 G이고; X_{10}은 E 또는 D이고; X_{11}은 N 또는 S이고; X_{12}는 N이고; X_{13}은 F 또는 Y이고; X_{14}는 S이고; X_{15}는 S이고; X_{16}은 G 또는 S이고; X_{17}은 T이다.

[0132] 또 다른 실시양태에서, X_7은 S이고; X_8은 S이고; X_9는 G이고; X_{10}은 D이고; X_{11}은 S이고; X_{12}는 N이고; X_{13}은

Y이고; X_{14}는 S이고; X_{15}는 S이고; X_{16}은 S이고; X_{17}은 T이다.

[0133] 추가 측면에서, 경쇄는 하기 식에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 경쇄 프레임워크 서열을 추가로 포함한다: (LC-FR1MHVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4).

[0134] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열 또는 인간 배선 프레임워크 서열로부터 유래된다.

[0135] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 람다 경쇄 서열이다.

[0136] 추가 측면에서, 프레임워크 서열 중 적어도 1개는 하기이다:

[0137] LC-FR1은 QSALTQPASVSGSPGQSITISC (서열식별번호: 31)이고;

[0138] LC-FR2는 WYQQHPGKAPKLMIY (서열식별번호: 32)이고;

[0139] LC-FR3은 GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC (서열식별번호: 33)이고;

[0140] LC-FR4는 FGTGTKVTVL (서열식별번호: 34)이다.

[0141] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서:

[0142] (a) 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 포함하고, 여기서 추가로: (i) HVR-H1 서열은 $X_1YX_2MX_3$ (서열식별번호: 21)이고; (ii) HVR-H2 서열은 SIYPSGGX_4TFYADX_5VKG (서열식별번호: 22)이고; (iii) HVR-H3 서열은 IKLGTVTTVX_6Y (서열식별번호: 23)이고;

[0143] (b) 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함하고, 여기서 추가로: (iv) HVR-L1 서열은 TGTX_7X_8DVGX_9YNYVS (서열식별번호: 28)이고; (v) HVR-L2 서열은 X_{10}V$X_{11}X_{12}$RPS (서열식별번호: 29)이고; (vi) HVR-L3 서열은 SSX_{13}T$X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}$RV (서열식별번호: 30)이고; 여기서: X_1은 K, R, T, Q, G, A, W, M, I 또는 S이고; X_2는 V, R, K, L, M 또는 I이고; X_3은 H, T, N, Q, A, V, Y, W, F 또는 M이고; X_4는 F 또는 I이고; X_5는 S 또는 T이고; X_6은 E 또는 D이고; X_7은 N 또는 S이고; X_8은 T, R 또는 S이고; X_9는 A 또는 G이고; X_{10}은 E 또는 D이고; X_{11}은 I, N 또는 S이고; X_{12}는 D, H 또는 N이고; X_{13}은 F 또는 Y이고; X_{14}는 N 또는 S이고; X_{15}는 R, T 또는 S이고; X_{16}은 G 또는 S이고; X_{17}은 I 또는 T이다.

[0144] 한 실시양태에서, X_1은 M, I 또는 S이고; X_2는 R, K, L, M 또는 I이고; X_3은 F 또는 M이고; X_4는 F 또는 I이고; X_5는 S 또는 T이고; X_6은 E 또는 D이고; X_7은 N 또는 S이고; X_8은 T, R 또는 S이고; X_9는 A 또는 G이고; X_{10}은 E 또는 D이고; X_{11}은 N 또는 S이고; X_{12}는 N이고; X_{13}은 F 또는 Y이고; X_{14}는 S이고; X_{15}는 S이고; X_{16}은 G 또는 S이고; X_{17}은 T이다.

[0145] 또 다른 실시양태에서, X_1은 M, I 또는 S이고; X_2는 L, M 또는 I이고; X_3은 F 또는 M이고; X_4는 I이고; X_5는 S 또는 T이고; X_6은 D이고; X_7은 N 또는 S이고; X_8은 T, R 또는 S이고; X_9는 A 또는 G이고; X_{10}은 E 또는 D이고; X_{11}은 N 또는 S이고; X_{12}는 N이고; X_{13}은 F 또는 Y이고; X_{14}는 S이고; X_{15}는 S이고; X_{16}은 G 또는 S이고; X_{17}은 T이다.

[0146] 또 다른 실시양태에서, X_1은 S이고; X_2는 I이고; X_3은 M이고; X_4는 I이고; X_5는 T이고; X_6은 D이고; X_7은 S이고; X_8은 S이고; X_9는 G이고; X_{10}은 D이고; X_{11}은 S이고; X_{12}는 N이고; X_{13}은 Y이고; X_{14}는 S이고; X_{15}는 S이고; X_{16}은 S이고; X_{17}은 T이다.

[0147] 추가 측면에서, 중쇄 가변 영역은 하기와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상의 프레임워크 서열을 포함하고: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), 경쇄 가변 영역은 하기와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상의 프레임워크 서열을 포함한다: (LC-FR1 MHVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4).

[0148] 추가 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 컨센서스 프레임워크 서열 또는 인간 배선 서열로부터 유래된다.

[0149] 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기이다:

[0150] HC-FR1은 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (서열식별번호: 24)이고;

[0151] HC-FR2는 WVRQAPGKGLEWVS (서열식별번호: 25)이고;

[0152] HC-FR3은 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열식별번호: 26)이고;

[0153] HC-FR4는 WGQGTLVTVSS (서열식별번호: 27)이다.

[0154] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 람다 경쇄 서열이다.

[0155] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기이다:

[0156] LC-FR1은 QSALTQPASVSGSPGQSITISC (서열식별번호: 31)이고;

[0157] LC-FR2는 WYQQHPGKAPKLMIY (서열식별번호: 32)이고;

[0158] LC-FR3은 GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC (서열식별번호: 33)이고;

[0159] LC-FR4는 FGTGTKVTVL (서열식별번호: 34)이다.

[0160] 추가 측면에서, 중쇄 가변 영역 폴리펩티드, 항체 또는 항체 단편은 적어도 C_H1 도메인을 추가로 포함한다.

[0161] 보다 구체적 측면에서, 중쇄 가변 영역 폴리펩티드, 항체 또는 항체 단편은 C_H1, C_H2 및 C_H3 도메인을 추가로 포함한다.

[0162] 추가 측면에서, 가변 영역 경쇄, 항체 또는 항체 단편은 C_L 도메인을 추가로 포함한다.

[0163] 추가 측면에서, 항체는 C_H1, C_H2, C_H3, 및 C_L 도메인을 추가로 포함한다.

[0164] 추가의 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 뮤린 불변 영역을 추가로 포함한다.

[0165] 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0166] 추가의 구체적 측면에서, 인간 또는 뮤린 불변 영역은 IgG1이다.

[0167] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 특색으로 하며, 여기서:

[0168] (a) 중쇄는 SYIMM (서열식별번호: 35), SIYPSGGITFYADTVKG (서열식별번호: 36), 및 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3을 포함하고,

[0169] (b) 경쇄는 TGTSSDVGGYNYVS (서열식별번호: 38), DVSNRPS (서열식별번호: 39), 및 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함한다.

[0170] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%이다.

[0171] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 특색으로 하며, 여기서:

[0172] (a) 중쇄는 MYMMM (서열식별번호: 41), SIYPSGGITFYADSVKG (서열식별번호: 42), 및 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3을 포함하고,

[0173] (b) 경쇄는 TGTSSDVGAYNYVS (서열식별번호: 43), DVSNRPS (서열식별번호: 39), 및 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40)에 대해 각각 적어도 80%의 전체 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3을 포함한다.

[0174] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%이다.

[0175] 추가 측면에서, 본 개시내용에 따른 항체 또는 항체 단편에서, HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3의 서열과 비교하여, 적어도 하기와 같이 밑줄로 강조된 아미노산은 변화없이 유지되고:

[0176] (a) HVR-H1에서 SYIMM (서열식별번호: 35),

[0177] (b) HVR-H2에서 SIYPSGGITFYADTVKG (서열식별번호: 36),

[0178] (c) HVR-H3에서 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37);

[0179] 추가로 여기서, HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3의 서열과 비교하여, 적어도 하기와 같이 밑줄로 강조된 아미노산은 변화없이 유지된다:

[0180] (a) HVR-L1 TGTSSDVGGYNYVS (서열식별번호: 38)

[0181] (b) HVR-L2 DVSNRPS (서열식별번호: 39)

[0182] (c) HVR-L3 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40).

[0183] 또 다른 측면에서, 중쇄 가변 영역은 하기와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상의 프레임워크 서열을 포함하고: (HC-FR1)-(HVR-H1)-(HC-FR2)-(HVR-H2)-(HC-FR3)-(HVR-H3)-(HC-FR4), 경쇄 가변 영역은 하기와 같이 HVR 사이에 병치된 1개 이상의 프레임워크 서열을 포함한다: (LC-FR1)-(HVR-L1)-(LC-FR2)-(HVR-L2)-(LC-FR3)-(HVR-L3)-(LC-FR4).

[0184] 또 다른 측면에서, 프레임워크 서열은 인간 배선 서열로부터 유래된다.

[0185] 추가 측면에서, 중쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기이다:

[0186] HC-FR1은 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (서열식별번호: 24)이고;

[0187] HC-FR2는 WVRQAPGKGLEWVS (서열식별번호: 25)이고;

[0188] HC-FR3은 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열식별번호: 26)이고;

[0189] HC-FR4는 WGQGTLVTVSS (서열식별번호: 27)이다.

[0190] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열은 람다 경쇄 서열로부터 유래된다.

[0191] 추가 측면에서, 경쇄 프레임워크 서열 중 1개 이상은 하기이다:

[0192] LC-FR1은 QSALTQPASVSGSPGQSITISC (서열식별번호: 31)이고;

[0193] LC-FR2는 WYQQHPGKAPKLMIY (서열식별번호: 32)이고;

[0194] LC-FR3은 GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC (서열식별번호: 33)이고;

[0195] LC-FR4는 FGTGTKVTVL (서열식별번호: 34)이다.

[0196] 추가의 구체적 측면에서, 항체는 인간 또는 뮤린 불변 영역을 추가로 포함한다.

[0197] 추가 측면에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3, IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0198] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 특색으로 하며, 여기서:

[0199] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0200] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMVWRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADWKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS (서열식별번호: 44),

[0201] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0202] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSN
RPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL (서열식별번호: 45).

[0203] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별

번호: 44에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 44에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 44를 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 45를 포함한다.

[0204] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체를 제공하며, 여기서:

[0205] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0206] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYMMMWVRQAPGKGLEVWSSIYPSGGITFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARIKLG TVTTVDYWG QGTLVTVSS (서열식별번호: 46),

[0207] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0208] QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNR PSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL (서열식별번호: 47).

[0209] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 46에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 46을 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 47을 포함한다.

[0210] 또 다른 실시양태에서, 항체는 인간, 마우스 또는 시노몰구스 원숭이 PD-L1에 결합한다. 구체적 측면에서, 항체는 인간, 마우스 또는 시노몰구스 원숭이 PD-L1과 각각의 인간, 마우스 또는 시노몰구스 원숭이 PD-1 수용체 사이의 상호작용을 차단할 수 있다.

[0211] 또 다른 실시양태에서, 항체는 인간 PD-L1에 $5x10^{-9}$ M 이하의 KD, 바람직하게는 $2x10^{-9}$ M 이하의 KD, 보다 더 바람직하게는 $1x10^{-9}$ M 이하의 KD로 결합한다.

[0212] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 인간 PD-L1의 잔기 Y56 및 D61을 포함하는 기능적 에피토프에 결합하는 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다.

[0213] 구체적 측면에서, 기능적 에피토프는 인간 PD-L1의 E58, E60, Q66, R113, 및 M115를 추가로 포함한다.

[0214] 보다 구체적 측면에서, 항체는 인간 PD-L1의 잔기 54-66 및 112-122를 포함하는 입체형태적 에피토프에 결합한다.

[0215] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 PD-L1에의 결합에 대해 본원에 기재된 바와 같은 본 개시내용에 따른 항체와 교차-경쟁하는 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 관한 것이다.

[0216] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 임의의 상기 기재된 항-PD-L1 항체를, 적어도 1종의 제약상 허용되는 담체와 조합하여 포함하는 단백질 및 폴리펩티드를 특색으로 한다.

[0217] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 바와 같은 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 서열, 또는 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산을 특색으로 한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 항-PD-L1 항체의 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 서열을 코딩하는 단리된 핵산을 제공하며, 여기서:

[0218] (a) 중쇄는 SYIMM (서열식별번호: 35), SIYPSGGITFYADTVKG (서열식별번호: 36), 및 IKLGTVTTVDY (서열식별번호: 37)에 대해 각각 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2, 및 HVR-H3 서열을 포함하거나, 또는

[0219] (b) 경쇄는 TGTSSDVGGYNYVS (서열식별번호: 38), DVSNRPS (서열식별번호: 39), 및 SSYTSSSTRV (서열식별번호: 40)에 대해 각각 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3 서열을 포함한다.

[0220] 구체적 측면에서, 서열 동일성은 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%이다.

[0221] 추가 측면에서, 중쇄에 대한 핵산 서열은 하기이고:

```
atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgctag ctccagcgag       60
gtgcagctgc tggaatccgg cggaggactg gtgcagcctg gcggctccct gagactgtct      120
tgcgccgcct ccggcttcac cttctccagc tacatcatga tgtgggtgcg acaggccccc      180
ggcaagggcc tggaatgggt gtcctccatc tacccctccg gcggcatcac cttctacgcc      240
gacaccgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg      300
cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcccg gatcaagctg      360
ggcaccgtga ccaccgtgga ctactggggc cagggcaccc tggtgacagt gtcctccgcc      420
tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc      480
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg      540
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga      600
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac      660
atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa      720
tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg      780
tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag      840
gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac      900
gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc      960
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag     1020
tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa     1080
gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcacg ggatgagctg     1140
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc     1200
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg     1260
gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag     1320
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag     1380
aagagcctct ccctgtcccc gggtaaa                                         1407
```

[0222] (SEQ ID NO: 48)

[0223] 경쇄에 대한 핵산 서열은 하기이다:

```
atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cttaagccag       60
tccgccctga cccagcctgc ctccgtgtct ggctcccctg gccagtccat caccatcagc      120
tgcaccggca cctccagcga cgtgggcggc tacaactacg tgtcctggta tcagcagcac      180
cccggcaagg cccccaagct gatgatctac gacgtgtcca accggccctc cggcgtgtcc      240
aacagattct ccggctccaa gtccggcaac accgcctccc tgaccatcag cggactgcag      300
gcagaggacg aggccgacta ctactgctcc tcctacacct cctccagcac cagagtgttc      360
ggcaccggca caaaagtgac cgtgctgggc cagcccaagg ccaacccaac cgtgacactg      420
ttccccccat cctccgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggtctg cctgatctca      480
gatttctatc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggctg atggctcccc agtgaaggcc      540
ggcgtggaaa ccaccaagcc ctccaagcag tccaacaaca aatacgccgc ctcctcctac      600
ctgtccctga cccccgagca gtggaagtcc caccggtcct acagctgcca ggtcacacac      660
gagggctcca ccgtggaaaa gaccgtcgcc cccaccgagt gctca                      705
```

[0224]

[0225] (SEQ ID NO: 49).

[0226] 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 사용될 수 있는 추가의 예시적인 항-PD-L1 항체는 미국 특허 출원 공개 US 2010/0203056에 기재되어 있다. 본 개시내용의 한 실시양태에서, 항체 모이어티는 YW243.55S70이다. 본 개시내용의 또 다른 실시양태에서, 항체 모이어티는 MPDL3289A이다.

[0227] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

[0228] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0229] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWP GGFDYWGQGTLVTVSS (서열식별번호: 12),

[0230] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0231] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGT KVEIKR (서열식별번호: 13).

[0232] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 12에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 12를 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13을 포함한다.

[0233] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

[0234] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0235] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWP GGFDYWGQGTLVTVSA (서열식별번호: 14),

[0236] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0237] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGT KVEIKR (서열식별번호: 13).

[0238] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식

별번호: 13에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 14에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 14를 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 13을 포함한다.

[0239] 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 사용될 수 있는 추가의 예시적인 항-PD-L1 항체는 미국 특허 출원 공개 US 2018/0334504에 기재되어 있다.

[0240] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

[0241] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0242] QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISNDYWTWIRQHPGKGLEYIGYISYTGSTYYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGGWLAPFDYWGRGTLVTVSS (서열식별번호: 55),

[0243] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0244] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFYHSNQKHSLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYGYPYTFGGGTKVEIK (서열식별번호: 56).

[0245] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 55에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 55를 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 56을 포함한다.

[0246] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

[0247] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0248] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGRIGPNSGFTSYNEKFKNRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGSSYDYFDYWGQGTTVTVSS (서열식별번호: 57),

[0249] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0250] DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSFEDPLTFGQGTKLEIK (서열식별번호: 58).

[0251] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열

식별번호: 58에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 57에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 57을 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 58을 포함한다.

[0252] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

[0253] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0254] QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISNDYWTWIRQHPGKGLEYIGYISYTGSTYYNPSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGGWL
APFDYWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (서열식별번호: 59),

[0255] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0256] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFYHSNQKHSLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYGYPY
TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGLSSPVTKSFNRGEC (서열식별번호: 60).

[0257] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 98% 서열 동일성

을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 59에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 59를 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 60을 포함한다.

[0258] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체 모이어티를 특색으로 하며, 여기서:

[0259] (a) 중쇄 서열은 하기 중쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖고:

[0260] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGRIGPNSGFTSYNEKFKNRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGSS
YDYFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR
LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGA (서열식별번호: 61),

[0261] (b) 경쇄 서열은 하기 경쇄 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다:

[0262] DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSFEDPLTF
GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC (서열식별번호: 62).

[0263] 다양한 실시양태에서, 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 86% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 87% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 88% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 89% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 91% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 92% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 93% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 94% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 96% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 97% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 98% 서열 동일성을 갖거나; 중쇄 서열은 서열식별번호: 61에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖거나; 또는 중쇄 서열은 서열식별번호: 61을 포함하고 경쇄 서열은 서열식별번호: 62를 포함한다.

[0264] 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 사용될 수 있는 추가의 예시적인 항-PD-L1 항체는 미국 특허 공개 US 7,943,743에 기재되어 있다.

[0265] 본 개시내용의 한 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MDX-1105이다.

[0266] 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MEDI-4736이다.

[0267] 불변 영역

[0268] 본 개시내용의 단백질 및 펩티드는 이뮤노글로불린의 불변 영역, 또는 불변 영역의 단편, 유사체, 변이체, 돌연변이체 또는 유도체를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 인간 이뮤노글로불린 중쇄, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 또는 다른 부류로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 C_H2 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 C_H2 및 C_H3 도메인을 포함하거나, 또는 힌지-C_H2-C_H3을 포함한다. 대안적으로, 불변 영역은 힌지 영역, C_H2 도메인 및/또는 C_H3 도메인의 모두 또는 일부를 포함할 수 있다.

[0269] 한 실시양태에서, 불변 영역은 Fc 수용체에 대한 친화도를 감소시키거나 또는 Fc 이펙터 기능을 감소시키는 돌연변이를 함유한다. 예를 들어, 불변 영역은 IgG 중쇄의 불변 영역 내의 글리코실화 부위를 제거하는 돌연변이를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1의 Leu234, Leu235, Gly236, Gly237, Asn297, 또는 Pro331 (아미노산은 EU 명명법에 따라 넘버링됨)에 상응하는 아미노산 위치에서 돌연변이, 결실 또는 삽입을 함유한다. 특정한 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1의 Asn297에 상응하는 아미노산 위치에서 돌연변이를 함유한다. 대안적 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1의 Leu281, Leu282, Gly283, Gly284, Asn344, 또는 Pro378에 상응하는 아미노산 위치에서 돌연변이, 결실 또는 삽입을 함유한다.

[0270] 일부 실시양태에서, 불변 영역은 인간 IgG2 또는 IgG4 중쇄로부터 유래된 C_H2 도메인을 함유한다. 바람직하게는, C_H2 도메인은 C_H2 도메인 내의 글리코실화 부위를 제거하는 돌연변이를 함유한다. 한 실시양태에서, 돌연변이는 IgG2 또는 IgG4 중쇄의 C_H2 도메인 내의 Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열 내의 아스파라긴을 변경시킨다. 바람직하게는, 돌연변이는 아스파라긴을 글루타민으로 변화시킨다. 대안적으로, 돌연변이는 Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열 내의 페닐알라닌 및 아스파라긴 둘 다를 변경시킨다. 한 실시양태에서, Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열은 Gln-Ala-Gln-Ser (서열식별번호: 16) 아미노산 서열로 대체된다. Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열 내의 아스파라긴은 IgG1의 Asn297에 상응한다.

[0271] 또 다른 실시양태에서, 불변 영역은 C_H2 도메인, 및 힌지 영역의 적어도 일부분을 포함한다. 힌지 영역은 이뮤노글로불린 중쇄, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 다른 부류로부터 유래될 수 있다. 바람직하게는, 힌지 영역은 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 다른 적합한 부류로부터 유래된다. 보다 바람직하게는, 힌지 영역은 인간 IgG1 중쇄로부터 유래된다. 한 실시양태에서, IgG1 힌지 영역의 Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys (서열식별번호: 17) 아미노산 서열 내의 시스테인이 변경된다. 특정 실시양태에서, Pro-Lys-Ser-Cys-Asp-Lys (서열식별번호: 17) 아미노산 서열은 Pro-Lys-Ser-Ser-Asp-Lys (서열식별번호: 18) 아미노산 서열로 대체된다. 특정 실시양태에서, 불변 영역은 제1 항체 이소형으로부터 유래된 C_H2 도메인 및 제2 항체 이소형으로부터 유래된 힌지 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, C_H2 도메인은 인간 IgG2 또는 IgG4 중쇄로부터 유래되는 한편, 힌지 영역은 변경된 인간 IgG1 중쇄로부터 유래된다.

[0272] Fc 부분과 비-Fc 부분의 접합부 근처의 아미노산의 변경은 Fc 융합 단백질의 혈청 반감기를 극적으로 증가시킬 수 있다 (PCT 공개 WO 0158957, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함됨). 따라서, 본 개시내용의 단백질 또는 폴리펩티드의 접합부 영역은, 이뮤노글로불린 중쇄 및 에리트로포이에틴의 자연-발생 서열 대비, 바람직하게는 접합부 지점으로부터 약 10개 아미노산 이내에 존재하는 변경을 함유할 수 있다. 이들 아미노산 변화는 소수성의 증가를 유발할 수 있다. 한 실시양태에서, 불변 영역은 C-말단 리신 잔기가 대체된 IgG 서열로부터 유래된다. 바람직하게는, 혈청 반감기를 추가로 증가시키기 위해 IgG 서열의 C-말단 리신은 비-리신 아미노산, 예컨대 알라닌 또는 류신으로 대체된다. 또 다른 실시양태에서, 불변 영역은 잠재적인 접합부 T-세포 에피토프를 제거하기 위해 불변 영역의 C-말단 근처의 Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 아미노산 서열이 변경된 IgG 서열로부터 유래된다. 예를 들어, 한 실시양태에서, Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 아미노산 서열은 Ala-Thr-Ala-Thr (서열식별번호: 20) 아미노산 서열로 대체된다. 다른 실시양태에서, Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 절편 내의 아미노산은 다른 아미노산 예컨대 글리신 또는 프롤린으로 대체된다. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 또는 다른 이뮤노글로불린 부류 분자의 C-말단 근처의 Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 절편의 아미노산 치환을 생성하는 상세한 방법이 미국 특허 공개 번호 20030166877에 기재되어 있고, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0273] 본 개시내용을 위한 적합한 힌지 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 및 다른 이뮤노글로불린 부류로부터 유래될 수 있다. IgG1 힌지 영역은 3개의 시스테인을 갖고, 이 중 2개는 이뮤노글로불린의 2개의 중쇄 사이의 디술피드 결합에 수반된다. 이들 동일한 시스테인은 Fc 부분 사이에 효율적이고 일관적인 디술피드 결합 형성을 가능하게 한다. 따라서, 본 개시내용의 힌지 영역은 IgG1, 예를 들어 인간 IgG1로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, 인간 IgG1 힌지 영역 내의 제1 시스테인은 또 다른 아미노산, 바람직하게는 세린으로 돌연변이된다. IgG2 이소형 힌지 영역은 4개의 디술피드 결합을 갖고, 이는 재조합 시스템에서 분비 동안 올리고머화 및 가능하게는 부정확한 디술피드 결합을 촉진하는 경향이 있다. 적합한 힌지 영역이 IgG2 힌지로부터 유래될 수 있고; 바람직하게는 처음 2개의 시스테인이 각각 또 다른 아미노산으로 돌연변이된다. IgG4의 힌지 영역은 쇄간 디술피드 결합을 비효율적으로 형성하는 것으로 공지되어 있다. 그러나, 본 개시내용을 위한 적합한 힌지 영역이, 바람

직하게는 중쇄-유래 모이어티 사이의 디술피드 결합의 정확한 형성을 증진시키는 돌연변이를 함유하는 IgG4 힌지 영역으로부터 유래될 수 있다 (Angal S, et al. (1993) Mol. Immunol., 30:105-8).

[0274] 본 개시내용에 따르면, 불변 영역은 상이한 항체 이소형으로부터 유래된 C_H2 및/또는 C_H3 도메인 및 힌지 영역을 함유할 수 있으며, 예를 들어, 하이브리드 불변 영역일 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 불변 영역은 IgG2 또는 IgG4로부터 유래된 C_H2 및/또는 C_H3 도메인 및 IgG1로부터 유래된 돌연변이체 힌지 영역을 함유한다. 대안적으로, 또 다른 IgG 하위부류로부터의 돌연변이체 힌지 영역이 하이브리드 불변 영역에 사용된다. 예를 들어, 2개의 중쇄 사이의 효율적인 디술피드 결합을 가능하게 하는 IgG4 힌지의 돌연변이체 형태가 사용될 수 있다. 또한 처음 2개의 시스테인이 각각 또 다른 아미노산으로 돌연변이된 IgG2 힌지로부터 돌연변이체 힌지가 유래될 수 있다. 이러한 하이브리드 불변 영역의 어셈블리는 미국 특허 공개 번호 20030044423에 기재되어 있고, 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0275] 본 개시내용에 따르면, 불변 영역은 본원에 기재된 1개 이상의 돌연변이를 함유할 수 있다. Fc 부분에서의 돌연변이의 조합은 이중기능적 분자의 연장된 혈청 반감기 및 증가된 생체내 효력에 대해 상가적 또는 상승작용적 효과를 가질 수 있다. 따라서, 하나의 예시적 실시양태에서, 불변 영역은 (i) Leu-Ser-Leu-Ser (서열식별번호: 19) 아미노산 서열이 Ala-Thr-Ala-Thr (서열식별번호: 20) 아미노산 서열로 대체된 IgG 서열로부터 유래된 영역; (ii) 리신 대신 C-말단 알라닌 잔기; (iii) 상이한 항체 이소형으로부터 유래된 C_H2 도메인 및 힌지 영역, 예를 들어, IgG2 C_H2 도메인 및 변경된 IgG1 힌지 영역; 및 (iv) IgG2-유래 C_H2 도메인 내의 글리코실화 부위를 제거하는 돌연변이, 예를 들어, IgG2-유래 C_H2 도메인 내의 Gln-Phe-Asn-Ser (서열식별번호: 15) 아미노산 서열 대신 Gln-Ala-Gln-Ser (서열식별번호: 16) 아미노산 서열을 함유할 수 있다.

[0276] 항체 단편

[0277] 본 개시내용의 단백질 및 폴리펩티드는 또한 항체의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다. 예시적인 항체 단편은 scFv, Fv, Fab, $F(ab')_2$, 및 단일 도메인 VHH 단편 예컨대 낙타류 기원의 단편을 포함한다.

[0278] 단일쇄 항체 (scFv)로도 공지되어 있는 단일쇄 항체 단편은 전형적으로 항원 또는 수용체에 결합하는 재조합 폴리펩티드이고; 이들 단편은 1개 이상의 상호연결 링커의 존재 또는 부재 하에 항체 가변 경쇄 서열 (V_L)의 적어도 1개의 단편에 테더링된 항체 가변 중쇄 아미노산 서열 (V_H)의 적어도 1개의 단편을 함유한다. 이러한 링커는 V_L 및 V_H 도메인이 연결되면 V_L 및 V_H 도메인의 적절한 3차원 폴딩이 발생하는 것을 확실하게 하여 단일쇄 항체 단편이 유래되는 전체 항체의 표적 분자 결합-특이성을 유지하도록 선택된 짧은 가요성 펩티드일 수 있다. 일반적으로, V_L 및 V_H 서열의 카르복실 말단이 이러한 펩티드 링커에 의해 상보적 V_L 및 V_H 서열의 아미노산 말단에 공유 연결된다. 분자 클로닝, 항체 파지 디스플레이 라이브러리 또는 유사한 기술에 의해 단일쇄 항체 단편이 생성될 수 있다. 이들 단백질은 진핵 세포 또는 박테리아를 포함한 원핵 세포에서 생산될 수 있다.

[0279] 단일쇄 항체 단편은 본 명세서에 기재된 전체 항체의 가변 영역 또는 CDR 중 적어도 1개를 갖는 아미노산 서열을 함유하지만, 그러한 항체의 불변 도메인 중 일부 또는 모두는 결여되어 있다. 이들 불변 도메인은 항원 결합에 필요하지 않지만, 전체 항체의 구조의 주요 부분을 구성한다. 따라서 단일쇄 항체 단편은 불변 도메인의 일부 또는 모두를 함유하는 항체를 사용하는 것과 연관된 문제 중 일부를 극복할 수 있다. 예를 들어, 단일쇄 항체 단편은 생물학적 분자와 중쇄 불변 영역 사이의 바람직하지 않은 상호작용, 또는 다른 원치 않는 생물학적 활성이 없는 경향이 있다. 추가적으로, 단일쇄 항체 단편은 전체 항체보다 상당히 더 작고, 따라서 전체 항체보다 더 큰 모세관 투과성을 가져, 단일쇄 항체 단편이 표적 항원-결합 부위에 보다 효율적으로 국재화하고 결합하게 할 수 있다. 또한, 항체 단편은 원핵 세포에서 비교적 대규모로 생산될 수 있어서, 그의 생산을 용이하게 할 수 있다. 또한, 단일쇄 항체 단편의 비교적 작은 크기는 그것이 수용자에서 면역 반응을 유발할 가능성을 전체 항체보다 더 낮게 한다.

[0280] 전체 항체의 것과 동일하거나 대등한 결합 특징을 갖는 항체 단편이 또한 존재할 수 있다. 이러한 단편은 Fab 단편 또는 $F(ab')_2$ 단편 중 하나 또는 둘 다를 함유할 수 있다. 항체 단편은 전체 항체의 모든 6개의 CDR을 함유할 수 있지만, 이러한 영역 모두보다 적은, 예컨대 3, 4 또는 5개의 CDR을 함유하는 단편이 또한 기능적이다.

[0281] 제약 조성물

[0282] 본 개시내용은 또한 치료 유효량의 본원에 기재된 단백질을 함유하는 제약 조성물을 특색으로 한다. 조성물은

다양한 약물 전달 시스템에서 사용을 위해 제제화될 수 있다. 1종 이상의 생리학상 허용되는 부형제 또는 담체가 또한 적절한 제제를 위해 조성물 내에 포함될 수 있다. 본 개시내용에서 사용하기에 적합한 제제는 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985]에서 확인된다. 약물 전달 방법의 간략한 검토를 위해, 예를 들어, 문헌 [Langer (Science 249:1527-1533, 1990)]을 참조한다.

[0283] 한 측면에서, 본 개시내용은 500 mg - 2400 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 정맥내 약물 전달 제제를 제공하고, 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGFβ)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGFβRII) 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고, 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성한다.

[0284] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 단백질 산물은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 단백질 산물은 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함한다.

[0285] 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 정맥내 약물 전달 제제는 약 500 mg 내지 약 2400 mg 용량 (예를 들어, 약 500 mg 내지 약 2300 mg, 약 500 mg 내지 약 2200 mg, 약 500 mg 내지 약 2100 mg, 약 500 mg 내지 약 2000 mg, 약 500 mg 내지 약 1900 mg, 약 500 mg 내지 약 1800 mg, 약 500 mg 내지 약 1700 mg, 약 500 mg 내지 약 1600 mg, 약 500 mg 내지 약 1500 mg, 약 500 mg 내지 약 1400 mg, 약 500 mg 내지 약 1300 mg, 약 500 mg 내지 약 1200 mg, 약 500 mg 내지 약 1100 mg, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약 500 mg 내지 약 900 mg, 약 500 mg 내지 약 800 mg, 약 500 mg 내지 약 700 mg, 약 500 mg 내지 약 600 mg, 약 600 mg 내지 약 2400 mg, 약 700 mg 내지 약 2400 mg, 약 800 mg 내지 약 2400 mg, 약 900 mg 내지 약 2400 mg, 약 1000 mg 내지 약 2400 mg, 약 1100 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 500 내지 약 2000 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 500 mg 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 본 개시내용의 단백질 산물을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 500 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 1200 mg 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 본 개시내용의 단백질 산물을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 1800 mg 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 본 개시내용의 단백질 산물을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 1800 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 1800 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을

포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 약 2400 mg 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 본 개시내용의 단백질 산물을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 2400 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 정맥내 약물 전달 제제는 2400 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을 포함할 수 있다.

[0286] 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 정맥내 약물 전달 제제는 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 본 개시내용의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 정맥내 약물 전달 제제는 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물을 포함할 수 있다.

[0287] 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 정맥내 약물 전달 제제는 약 525 mg, 약 550 mg, 약 575 mg, 약 600 mg, 약 625 mg, 약 650 mg, 약 675 mg, 약 700 mg, 약 725 mg, 약 750 mg, 약 775 mg, 약 800 mg, 약 825 mg, 약 850 mg, 약 875 mg, 약 900 mg, 약 925 mg, 약 950 mg, 약 975 mg, 약 1000 mg, 약 1025 mg, 약 1050 mg, 약 1075 mg, 약 1100 mg, 약 1125 mg, 약 1150 mg, 약 1175 mg, 약 1200 mg, 약 1225 mg, 약 1250 mg, 약 1275 mg, 약 1300 mg, 약 1325 mg, 약 1350 mg, 약 1375 mg, 약 1400 mg, 약 1425 mg, 약 1450 mg, 약 1475 mg, 약 1500 mg, 약 1525 mg, 약 1550 mg, 약 1575 mg, 약 1600 mg, 약 1625 mg, 약 1650 mg, 약 1675 mg, 약 1700 mg, 약 1725 mg, 약 1750 mg, 약 1775 mg, 약 1800 mg, 약 1825 mg, 약 1850 mg, 약 1875 mg, 약 1900 mg, 약 1925 mg, 약 1950 mg, 약 1975 mg, 약 2000 mg, 약 2025 mg, 약 2050 mg, 약 2075 mg, 약 2100 mg, 약 2125 mg, 약 2150 mg, 약 2175 mg, 약 2200 mg, 약 2225 mg, 약 2250 mg, 약 2275 mg, 약 2300 mg, 약 2325 mg, 약 2350 mg, 약 2375 mg, 또는 약 2400 mg의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포

함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩)을 포함할 수 있다.

[0288] 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 본 개시내용의 정맥내 약물 전달 제제는 백, 펜 또는 시린지에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 백은 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 동결건조 제제 또는 액체 제제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 냉동-건조 (동결건조)될 수 있고 약 12-60개의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 냉동-건조될 수 있고 냉동-건조된 제제의 약 45 mg이 1개의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 약 40 mg - 약 100 mg의 냉동-건조된 제제가 1개의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 12, 27 또는 45개의 바이알로부터의 냉동 건조 제제를 합하여 정맥내 약물 제제 내 치료 용량의 단백질을 수득한다. 특정 실시양태에서, 제제는 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물의 액체 제제일 수 있고; 약 250 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알 (예를 들어, 약 250 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1900 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1800 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1700 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1600 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1500 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1400 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1300 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1200 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1100 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 1000 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 900 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 800 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 700 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 600 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 500 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 400 mg/바이알, 약 250 mg/바이알 내지 약 300 mg/바이알, 약 300 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 400 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 500 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 600 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 700 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 800 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 900 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1000 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1100 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1200 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1300 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1400 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1500 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1600 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1700 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알, 약 1800 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알 또는 약 1900 mg/바이알 내지 약 2000 mg/바이알)로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있고, 약 600 mg/바이알로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있고, 약 1200 mg/바이알로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있고, 약 1800 mg/바이알로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있고, 약 2400 mg/바이알로 저장될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 액체 제제일 수 있고, 약 250 mg/바이알로 저장될 수 있다.

[0289] 본 개시내용은 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 제제를 형성하는, 완충 용액 중에 치료 유효량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩)을 포함하는 액체 수성 제약 제제를 제공한다.

[0290] 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 이들 조성물은 통상적인 멸균 기술에 의해 멸균될 수 있거나, 또는 멸균 여과될 수 있다. 생성된 수용액은 그대로 사용되도록 패키징될 수 있거나, 동결건조될 수 있고, 동결건조된 제제는 투여 전에 멸균 수성 담체와 조합된다. 제제의 pH는 전형적으로 3 내지 11, 보다 바람직하게는 5 내지 9 또는 6 내지 8, 가장 바람직하게는 7 내지 8, 예컨대 7 내지 7.5일 것이다. 생성된 고체 형태의 조성물은 다수의 단일 용량 단위로 패키징될 수 있으며, 이들 각각은 고정 양의 상기 언급된 작용제 또는 작용제들을 함유한다. 고체 형태의 조성물은 또한 가변적인 양으로 용기에 패키징될 수 있다.

[0291] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것))을, 만니톨, 시트르산 1수화물, 시트르산나트륨, 인산이나트륨 2수화물, 인산이수소나트륨 2수화물, 염화나트륨, 폴리소르베이트 80, 물, 및 수산화나트륨과 조합하여 포함하는, 연장된 보관 수명을 갖는, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 제제를 제공한다.

[0292] 특정 실시양태에서, pH-완충 용액 중 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열

식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물)을 포함하는, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 수성 제제가 제조된다. 본 발명의 완충제는 약 4 내지 약 8, 예를 들어, 약 4 내지 약 8, 약 4.5 내지 약 8, 약 5 내지 약 8, 약 5.5 내지 약 8, 약 6 내지 약 8, 약 6.5 내지 약 8, 약 7 내지 약 8, 약 7.5 내지 약 8, 약 4 내지 약 7.5, 약 4.5 내지 약 7.5, 약 5 내지 약 7.5, 약 5.5 내지 약 7.5, 약 6 내지 약 7.5, 약 6.5 내지 약 7.5, 약 4 내지 약 7, 약 4.5 내지 약 7, 약 5 내지 약 7, 약 5.5 내지 약 7, 약 6 내지 약 7, 약 4 내지 약 6.5, 약 4.5 내지 약 6.5, 약 5 내지 약 6.5, 약 5.5 내지 약 6.5, 약 4 내지 약 6.0, 약 4.5 내지 약 6.0, 약 5 내지 약 6, 또는 약 4.8 내지 약 5.5 범위의 pH를 가질 수 있거나, 또는 약 5.0 내지 약 5.2의 pH를 가질 수 있다. 상기 열거된 pH의 중간 범위가 또한 본 개시내용의 일부이도록 의도된다. 예를 들어, 상한치 및/또는 하한치로서 임의의 상기 열거된 값의 조합을 사용하는 값의 범위가 포함되도록 의도된다. 상기 범위 내에서 pH를 제어할 완충제의 예는 아세테이트 (예를 들어 아세트산나트륨), 숙시네이트 (예컨대 숙신산나트륨), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트 및 다른 유기 산 완충제를 포함한다.

[0293] 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 제제는 약 4 내지 약 8 범위의 pH를 유지하기 위해 시트레이트 및 포스페이트를 함유하는 완충제 시스템을 포함한다. 특정 실시양태에서, pH 범위는 약 4.5 내지 약 6.0, 또는 약 pH 4.8 내지 약 5.5일 수 있거나, 또는 약 5.0 내지 약 5.2의 pH 범위일 수 있다. 특정 실시양태에서, 완충제 시스템은 시트르산 1수화물, 시트르산나트륨, 인산이나트륨 2수화물 및/또는 인산이수소나트륨 2수화물을 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충제 시스템은 약 1.3 mg/ml의 시트르산 (예를 들어, 1.305 mg/ml), 약 0.3 mg/ml의 시트르산나트륨 (예를 들어, 0.305 mg/ml), 약 1.5 mg/ml의 인산이나트륨 2수화물 (예를 들어, 1.53 mg/ml), 약 0.9 mg/ml의 인산이수소나트륨 2수화물 (예를 들어, 0.86), 및 약 6.2 mg/ml의 염화나트륨 (예를 들어, 6.165 mg/ml)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충제 시스템은 약 1-1.5 mg/ml의 시트르산, 약 0.25 내지 약 0.5 mg/ml의 시트르산나트륨, 약 1.25 내지 약 1.75 mg/ml의 인산이나트륨 2수화물, 약 0.7 내지 약 1.1 mg/ml의 인산이수소나트륨 2수화물, 및 6.0 내지 6.4 mg/ml의 염화나트륨을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제제의 pH는 수산화나트륨으로 조정된다.

[0294] 장성개질제로서 작용하며 항체를 안정화시킬 수 있는 폴리올이 또한 제제에 포함될 수 있다. 폴리올은 제제의 목적하는 등장성과 관련하여 달라질 수 있는 양으로 제제에 첨가된다. 특정 실시양태에서, 수성 제제는 등장성일 수 있다. 첨가되는 폴리올의 양은 또한 폴리올의 분자량과 관련하여 변경될 수 있다. 예를 들어, 모노사카라이드 (예를 들어 만니톨)는 디사카라이드 (예컨대 트레할로스)에 비해 보다 적은 양으로 첨가될 수 있다. 특정 실시양태에서, 장성 작용제로서 제제에 사용될 수 있는 폴리올은 만니톨이다. 특정 실시양태에서, 만니톨 농도는 약 5 내지 약 20 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 만니톨의 농도는 약 7.5 내지 약 15 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 만니톨의 농도는 약 10 - 약 14 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 만니톨의 농도는 약 12 mg/ml일 수 있다. 특정 실시양태에서, 폴리올 소르비톨이 제제에 포함될 수 있다.

[0295] 세제 또는 계면활성제가 또한 제제에 첨가될 수 있다. 예시적인 세제는 비이온성 세제 예컨대 폴리소르베이트 (예를 들어 폴리소르베이트 20, 80 등) 또는 폴록사머 (예를 들어, 폴록사머 188)를 포함한다. 첨가되는 세제의 양은 제제화된 항체의 응집을 감소시키고/거나 제제 중 미립자의 형성을 최소화하고/거나 흡착을 감소시키도록 하는 양이다. 특정 실시양태에서, 제제는 폴리소르베이트인 계면활성제를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 세제로서 폴리소르베이트 80 또는 트윈 80을 함유할 수 있다. 트윈 80은 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄모노올레에이트를 기재하기 위해 사용되는 용어이다 (문헌 [Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4th edi., 1996] 참조). 특정 실시양태에서, 제제는 약 0.1 mg/mL 내지 약 10 mg/mL, 또는 약 0.5 mg/mL 내지 약 5 mg/mL의 폴리소르베이트 80을 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약 0.1% 폴리소르베이트 80이 제제에 첨가될 수 있다.

[0296] 동결건조 제제

[0297] 본 개시내용의 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 동결건조 제제는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자 및 동결건조보호제를 포함한다. 동결건조보호제는 당, 예를 들어, 디사카라이드일 수 있다. 특정 실시양태에서, 동결건조보호제는 수크로스 또는 말토스일 수 있다. 동결건조 제제는 또한 완충제, 계면활성제, 벌킹제 및/또는 보존제 중 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0298] 동결건조 약물 제품의 안정화에 유용한 수크로스 또는 말토스의 양은 적어도 1:2의 단백질 대 수크로스 또는 말토스의 중량비일 수 있다. 특정 실시양태에서, 단백질 대 수크로스 또는 말토스의 중량비는 1:2 내지 1:5일 수 있다.

[0299] 특정 실시양태에서, 제제의 pH는, 동결건조 전에, 제약상 허용되는 산 및/또는 염기의 첨가에 의해 설정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용되는 산은 염산일 수 있다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용되는 염기는 수산화나트륨일 수 있다.

[0300] 동결건조 전에, 본 개시내용의 단백질을 함유하는 용액의 pH는 약 6 내지 약 8에서 조정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 동결건조 약물 제품의 pH 범위는 약 7 내지 약 8일 수 있다.

[0301] 특정 실시양태에서, 염 또는 완충제 성분은 약 10 mM - 약 200 mM의 양으로 첨가될 수 있다. 염 및/또는 완충제는 제약상 허용되는 것이며, "염기 형성" 금속 또는 아민과 함께 다양한 공지된 산 (무기 및 유기)으로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 완충제는 포스페이트 완충제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 완충제는 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제일 수 있으며, 이러한 경우에 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대 이온으로서 작용할 수 있다.

[0302] 특정 실시양태에서, "벌킹제"가 첨가될 수 있다. "벌킹제"는 동결건조된 혼합물에 질량을 더하며, 동결건조된 케이크의 물리적 구조에 기여하는 (예를 들어, 개방 세공 구조를 유지하는, 본질적으로 균일한 동결건조된 케이크의 제조를 가능하게 함) 화합물이다. 예시적인 벌킹제는 만니톨, 글리신, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비톨을 포함한다. 본 발명의 동결건조 제제는 이러한 벌킹제를 함유할 수 있다.

[0303] 보존제가 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어 다중-사용 (다중-용량) 제제의 생산을 용이하게 할 수 있다.

[0304] 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 동결건조 약물 제품은 수성 담체와 함께 구성될 수 있다. 본원에서 관심 수성 담체는 제약상 허용되며 (예를 들어, 인간에게 투여하기에 안전하고 비-독성임), 동결건조 후, 액체 제제의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 희석제는 멸균 주사용수 (SWFI), 정박테리아 주사용수 (BWFI), pH 완충 용액 (예를 들어 포스페이트-완충 염수), 멸균 염수 용액, 링거액 또는 덱스트로스 용액을 포함한다.

[0305] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 동결건조 약물 제품은 멸균 주사용수, USP (SWFI) 또는 0.9% 염화나트륨 주사액, USP로 재구성된다. 재구성 동안, 동결건조 분말은 용액으로 용해된다.

[0306] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 동결건조된 단백질 산물은 약 4.5 mL 주사용수로 구성되고 0.9% 염수 용액 (염화나트륨 용액)으로 희석된다.

[0307] 액체 제제

[0308] 실시양태에서, 본 개시내용의 단백질 산물은 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 액체 제제로서 제제화된다. 액체 제제는 고무 마개로 밀폐되고 알루미늄 크림프 밀봉 마개로 밀봉된 USP / Ph Eur 유형 I 50R 바이알 내에 10 mg/mL 농도로 제시될 수 있다. 마개는 USP 및 Ph Eur에 따르는 엘라스토머로 만들어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 60 mL의 추출가능한 부피를 가능하게 하기 위해 약 61.2 mL의 단백질 산물 용액이 바이알에 충전될 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 0.9% 염수 용액으로 희석될 수 있다. 특정 실시양태에서, 바이알은 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400

mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물))을 대상체에게 전달하기 위한 60 mL의 추출가능한 부피를 가능하게 하기 위해, 약 20 mg/mL 내지 약 50 mg/mL (예를 들어, 약 20 mg/mL, 약 25 mg/mL, 약 30 mg/mL, 약 35 mg/mL, 약 40 mg/mL, 약 45 mg/mL 또는 약 50 mg/mL)의 단백질 산물 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것)) 용액 약 61.2 mL를 함유할 수 있다.

[0309] 특정 실시양태에서, 바이알은 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 단백질 산물을 치료 나이브 대상체에게 전달하기 위한 60 mL의 추출가능한 부피를 가능하게 하기 위해, 약 20 mg/mL 내지 약 50 mg/mL (예를 들어, 약 20 mg/mL, 약 25 mg/mL, 약 30 mg/mL, 약 35 mg/mL, 약 40 mg/mL, 약 45 mg/mL 또는 약 50 mg/mL)의 단백질 산물 용액 (서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물)) 약 61.2 mL를 함유할 수 있다.

[0310] 특정 실시양태에서, 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 본 개시내용의 액체 제제는 안정화 수준으로 당과 조합하여 10 mg/ml 농도 용액으로서 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 수성 담체 중에 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서, 안정화제는 정맥내 투여에 바람직하지 않거나 또는 적합하지 않은 점도를 초래할 수 있는 양 이하로 첨가될 수 있다. 특정 실시양태에서, 당은 디사카라이드, 예를 들어, 수크로스일 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 또한 완충제, 계면활성제, 및 보존제 중 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0311] 특정 실시양태에서, 액체 제제의 pH는 제약상 허용되는 산 및/또는 염기의 첨가에 의해 설정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용되는 산은 염산일 수 있다. 특정 실시양태에서, 염기는 수산화나트륨일 수 있다.

[0312] 응집 이외에도, 탈아미드화는 발효, 수거/세포 정제, 정제, 약물 물질/약물 제품 저장 동안 및 샘플 분석 동안 발생할 수 있는, 펩티드 및 단백질의 흔한 산물 변이체이다. 탈아미드화는 가수분해를 겪을 수 있는 숙신이미드 중간체를 형성하는 단백질로부터의 NH_3의 손실이다. 숙신이미드 중간체는 모 펩티드의 17 u 질량 감소를 초래한다. 후속 가수분해는 18 u 질량 증가를 초래한다. 숙신이미드 중간체의 단리는 수성 조건 하에서의 불안정성으로 인해 어렵다. 이에 따라, 탈아미드화는 전형적으로 1 u 질량 증가로서 검출가능하다. 아스파라긴의 탈아미드화는 아스파르트산 또는 이소아스파르트산을 초래한다. 탈아미드화의 속도에 영향을 미치는 파라미터는 pH, 온도, 용매 유전 상수, 이온 강도, 1차 서열, 국부 폴리펩티드 입체형태 및 3차 구조를 포함한다. 펩티드 쇄 내 Asn에 인접한 아미노산 잔기는 탈아미드화 속도에 영향을 미친다. 단백질 서열 내 Asn 다음의 Gly 및 Ser은 탈아미드화에 보다 높은 감수성을 초래한다.

[0313] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제

하는 방법에 사용하기 위한 액체 제제는 단백질 산물의 탈아미드화를 방지하기 위한 pH 및 습도의 조건 하에 보존될 수 있다.

[0314] 본원에서 관심 수성 담체는 제약상 허용되며 (인간에게 투여하기에 안전하고 비-독성임), 액체 제제의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 담체는 멸균 주사용수 (SWFI), 정박테리아 주사용수 (BWFI), pH 완충 용액 (예를 들어 포스페이트-완충 염수), 멸균 염수 용액, 링거액 또는 덱스트로스 용액을 포함한다.

[0315] 보존제가 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어 다중-사용 (다중-용량) 제제의 생산을 용이하게 할 수 있다.

[0316] 정맥내 (IV) 제제는 특정한 경우에, 예컨대 환자가 IV 경로를 통해 모든 약물을 제공받고 있는 이식 후 입원 상태일 때 바람직한 투여 경로일 수 있다. 특정 실시양태에서, 액체 제제는 투여 전에 0.9% 염화나트륨 용액으로 희석된다. 특정 실시양태에서, 주사를 위한 희석된 약물 제품은 등장성이며 정맥내 주입에 의한 투여에 적합하다.

[0317] 특정 실시양태에서, 염 또는 완충제 성분은 10 mM - 200 mM의 양으로 첨가될 수 있다. 염 및/또는 완충제는 제약상 허용되는 것이며, "염기 형성" 금속 또는 아민과 함께 다양한 공지된 산 (무기 및 유기)으로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 완충제는 포스페이트 완충제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 완충제는 글리시네이트, 카르보네이트, 시트레이트 완충제일 수 있으며, 이러한 경우에 나트륨, 칼륨 또는 암모늄 이온이 반대 이온으로서 작용할 수 있다.

[0318] 보존제가 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어 다중-사용 (다중-용량) 제제의 생산을 용이하게 할 수 있다.

[0319] 본원에서 관심 수성 담체는 제약상 허용되며 (인간에게 투여하기에 안전하고 비-독성임), 액체 제제의 제조에 유용한 것이다. 예시적인 담체는 멸균 주사용수 (SWFI), 정박테리아 주사용수 (BWFI), pH 완충 용액 (예를 들어 포스페이트-완충 염수), 멸균 염수 용액, 링거액 또는 덱스트로스 용액을 포함한다.

[0320] 보존제가 박테리아 작용을 감소시키기 위해 본원의 제제에 임의로 첨가될 수 있다. 보존제의 첨가는, 예를 들어 다중-사용 (다중-용량) 제제의 생산을 용이하게 할 수 있다.

[0321] 암을 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법

[0322] 한 측면에서, 본 개시내용은 III기 NSCLC의 치료 또는 종양 성장의 억제를 필요로 하는 치료 나이브 대상체에게 적어도 500 mg의 용량의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 투여하는 것을 포함하는, 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, 상기 대상체에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGFβ)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGFβRII) 또는 그의 단편을 포함한다. 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고, 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성한다.

[0323] 한 측면에서, 본 개시내용은 환자에게 cCRT (예를 들어, 백금-기반 화학방사선)와 조합하여 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 투여한 다음, 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 투여함으로써, 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 공동 백금-기반 화학방사선 (cCRT)과 조합하여 및 그 이후에 투여함으로써, 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다.

[0324] 특정 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 시스플라틴/페메트렉세드 및 방사선 요법 (cCRT)으로 치료되는 환자는 비-편평 조직학을 나타내는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC로 진단된 환자이다.

[0325] 특정 실시양태에서, cCRT는 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 60-66 Gy (예를 들어, 60 Gy) 총 선량의 방사선과 공동으로 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드 또는 카르보플라틴/파클리탁셀로서 투여된다. 특정 실시양태에서, cCRT는 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 60-66 Gy (예를 들어, 60 Gy) 총 선량의 방사선과 공동으로 시스플라틴/에토포시드로서 투여된다. 특정 실시양태에서, cCRT는 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 60-66 Gy (예를 들어, 60 Gy) 총 선량의 방사선과 공동으로 카르보플라틴/파클리탁셀로서 투여된다. 특정 실시양태에서, cCRT는 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 60-66 Gy (예를 들어,

60 Gy) 총 선량의 방사선과 공동으로 시스플라틴/페메트렉세드로서 투여된다.

[0326] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법은 치료 나이브 대상체에게 제1 폴리펩티드가 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고 제2 폴리펩티드가 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 것인 2개의 펩티드를 포함하는 단백질을 투여하는 것을 수반한다. 특정 실시양태에서, 단백질은 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자이다.

[0327] 한 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 따라 치료된 치료 나이브 대상체는 본 개시내용의 이중기능적 단백질 (항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자)로의 선행 요법을 받은 적이 없다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료될 치료 나이브 암 환자는 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 감작화 (활성화) 돌연변이, 역형성 림프종 키나제 (ALK) 전위, 및/또는 ROS1 돌연변이를 갖거나 또는 갖지 않는다.

[0328] 특정 실시양태에서, 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 본 개시내용의 방법은 치료 나이브 대상체에게 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물))을 약 1200 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 2900 mg, 약 1200 mg 내지 약 2800 mg, 약 1200 mg 내지 약 2700 mg, 약 1200 mg 내지 약 2600 mg, 약 1200 mg 내지 약 2500 mg, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 약 2900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 약 2500 mg, 약 2600 mg, 약 2700 mg, 약 2800 mg, 약 2900 mg, 또는 약 3000 mg)의 용량으로 투여하는 것을 수반한다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자가 치료 나이브 III기 NSCLC 대상체 (예를 들어, 절제불가능한 III기 NSCLC 대상체)에게 2주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 분자가 치료 나이브 III기 NSCLC 대상체 (예를 들어, 절제불가능한 III기 NSCLC 대상체)에게 3주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1200 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 치료 나이브 대상체에게 2주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 치료 나이브 III기 NSCLC 대상체 (예를 들어, 절제불가능한 III기 NSCLC 대상체)에게 3주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 1800 mg의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 치료 나이브 III기 NSCLC 대상체 (예를 들어, 절제불가능한 III기 NSCLC 대상체)에게 3주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 2400 mg의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 대상체에게 3주마다 1회 투여된다. 특정 실시양태에서, 약 2400 mg의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물이 대상체에게 3주마다 1회 투여된다.

[0329] 특정 실시양태에서, 치료 나이브 III기 NSCLC 대상체 (예를 들어, 절제불가능한 III기 NSCLC 대상체)에게 투여되는 용량은 약 500 mg, 약 525 mg, 약 550 mg, 약 575 mg, 약 600 mg, 약 625 mg, 약 650 mg, 약 675 mg, 약 700 mg, 약 725 mg, 약 750 mg, 약 775 mg, 약 800 mg, 약 825 mg, 약 850 mg, 약 875 mg, 약 900 mg, 약 925 mg, 약 950 mg, 약 975 mg, 약 1000 mg, 약 1025 mg, 약 1050 mg, 약 1075 mg, 약 1100 mg, 약 1125 mg, 약 1150 mg, 약 1175 mg, 약 1200 mg, 약 1225 mg, 약 1250 mg, 약 1275 mg, 약 1300 mg, 약 1325 mg, 약 1350 mg, 약 1375 mg, 약 1400 mg, 약 1425 mg, 약 1450 mg, 약 1475 mg, 약 1500 mg, 약 1525 mg, 약 1550 mg, 약

1575 mg, 약 1600 mg, 약 1625 mg, 약 1650 mg, 약 1675 mg, 약 1700 mg, 약 1725 mg, 약 1750 mg, 약 1775 mg, 약 1800 mg, 약 1825 mg, 약 1850 mg, 1875 mg, 약 1900 mg, 약 1925 mg, 약 1950 mg, 약 1975 mg, 약 2000 mg, 약 2025 mg, 약 2050 mg, 약 2075 mg, 2100 mg, 약 2125 mg, 약 2150 mg, 약 2175 mg, 약 2200 mg, 약 2225 mg, 약 2250 mg, 약 2275 mg, 약 2300 mg, 약 2325 mg, 약 2350 mg, 약 2375 mg, 또는 약 2400 mg일 수 있다.

[0330] 특정 실시양태에서, 치료 나이브 III기 NSCLC 대상체 (예를 들어, 절제불가능한 III기 NSCLC 대상체)에게 투여되는 용량은 2주마다 1회 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 치료 나이브 III기 NSCLC 대상체 (예를 들어, 절제불가능한 III기 NSCLC 대상체)에게 투여되는 용량은 3주마다 1회 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 단백질은 정맥내 투여에 의해, 예를 들어, 사전충전된 백, 사전충전된 펜 또는 사전충전된 시린지로 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 단백질은 250 ml 염수 백으로부터 정맥내로 투여되고, 정맥내 주입은 약 1시간 (예를 들어, 50 내지 80분) 동안 이루어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 백은 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결된다.

[0331] 일부 실시양태에서, III기 NSCLC는 편평 또는 비-편평 조직학을 나타낸다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 방법은 편평 III기 NSCLC를 치료한다. 일부 실시양태에서, 방법은 비-편평 III기 NSCLC를 치료한다.

[0332] 특정 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 적어도 500 mg (예를 들어, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 또는 그 초과)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 적어도 500 mg (예를 들어, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 또는 그 초과)의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 특정 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 2400 mg의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0333] 특정 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 약 1200 mg - 약 2400 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0334] 특정 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 약 1200 mg - 약 2400 mg (예를 들어, 약 1200 mg 내지 약 2400 mg, 약 1200 mg 내지 약 2300 mg, 약 1200 mg 내지 약 2200 mg, 약 1200 mg 내지 약 2100 mg, 약 1200 mg 내지 약 2000 mg, 약 1200 mg 내지 약 1900 mg, 약 1200 mg 내지 약 1800 mg, 약 1200 mg 내지 약 1700 mg, 약 1200 mg 내지 약 1600 mg, 약 1200 mg 내지 약 1500 mg, 약 1200 mg 내지 약 1400 mg, 약 1200 mg 내지 약 1300 mg, 약 1300 mg 내지 약 2400 mg, 약 1400 mg 내지 약 2400 mg, 약 1500 mg 내지 약 2400 mg, 약 1600 mg 내지 약 2400 mg, 약 1700 mg 내지 약 2400 mg, 약 1800 mg 내지 약 2400 mg, 약 1900 mg 내지 약 2400 mg, 약 2000 mg 내지 약 2400 mg, 약 2100 mg 내지 약 2400 mg, 약 2200 mg 내지 약 2400 mg, 또는 약 2300 mg 내지 약 2400 mg)의 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하

는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0335] 일부 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1200 mg의 용량으로 2주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1800 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 2400 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 2400 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0336] 특정 실시양태에서, 치료될 III기 NSCLC는 PD-L1 양성이다. 특정 실시양태에서, 치료될 III기 NSCLC는 PD-L1 음성이다. 예시적 실시양태에서, 치료될 III기 NSCLC는 높은 PD-L1 발현 (예를 들어, "높은 PD-L1")을 나타낸다. 예시적 실시양태에서, 치료될 III기 NSCLC는 PD-L1 발현을 나타내지 않는다. 예시적 실시양태에서, 치료될 III기 NSCLC를 갖는 환자는 PD-L1 양성 III기 NSCLC로 진단된 환자이다. 예시적 실시양태에서, 치료될 III기 NSCLC를 갖는 환자는 PD-L1 음성 III기 NSCLC로 진단된 환자이다.

[0337] 예를 들어, 암 또는 종양에서 바이오마커, 예컨대 PD-L1을 검출하는 방법은 관련 기술분야에서 상용적이며 본원에서 고려된다. 비제한적 예는 면역조직화학, 면역형광 및 형광 활성화 세포 분류 (FACS)를 포함한다. 특정 실시양태에서, III기 NSCLC에서의 PD-L1 발현 수준은 항-PD-L1 항체를 사용하여 검출된다. 조직 샘플은 포르말린-고정 파라핀-포매 III기 NSCLC 조직일 수 있다.

[0338] 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖는 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 적어도 500 mg의 용량으로 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖는 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1200 mg의 용량으로 2주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖는 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1800 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖는 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) 치료 나이브 대상체 또는 환자는 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 2400 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0339] 특정 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 시스플라틴/페메트렉세드 및 방사선 요법 (cCRT)으로 치료되는 환자는 PD-L1을 발현하는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC로 진단된 환자이다. 특정 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 시스플라틴/페메트렉세드 및 방사선 요법 (cCRT)으로 치료되는 환자는 PD-L1을 발현하지 않는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC로 진단된 환자이다. 특정 실시양태에서, 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC로 진단된 환자는 PD-L1 발현에 상관없이 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임), 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 화학요법 (예를 들어, 시스플라틴/페메트렉세드) 및 방사선 요법 (cCRT)으로 치료된다.

[0340] 일부 실시양태에서, 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)로 진단된 환자는 PD-L1 발현에 상관없이 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임), 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 화학요법 (예를 들어, 시스플라틴과 에토포시드의 조합, 또는 카르보플라틴과 파클리탁셀의 조합) 및 방사선 요법 (cCRT)으로, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 적어도 500 mg의 용량으로 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)로 진단된 환자는 PD-L1 발현에 상관없이 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임), 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 화학요법 (예를 들어, 시스플라틴과 에토포시드의 조합, 또는 카르보플라틴과 파클리탁셀의 조합) 및 방사선 요법 (cCRT)으로, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1200 mg의 용량으로 2주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)로 진단된 환자는 PD-L1 발현에 상관없이 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임), 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 화학요법 (예를 들어, 시스플라틴과 에토포시드의 조합, 또는 카르보플라틴과 파클리탁셀의 조합) 및 방사선 요법 (cCRT)으로, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1800 mg 또는 2400 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0341] 일부 실시양태에서, 비-편평 조직학을 갖는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC로 진단된 환자는 PD-L1 발현에 상관없이 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임), 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 화학요법 (예를 들어, 시스플라틴과 페메트렉세드의 조합) 및 방사선 요법 (cCRT)으로, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 적어도 500 mg의 용량으로 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, 비-편평 조직학을 갖는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC로 진단된 환자는 PD-L1 발현에 상관없이 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임), 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 화학요법 (예를 들어, 시스플라틴과 페메트렉세드의 조합) 및 방사선 요법 (cCRT)으로, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1200 mg의 용량으로 2주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, 비-편평 조직학을 갖는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC로 진단된 환자는 PD-L1 발현에 상관없이 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임), 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합된 화학요법 (예를 들어, 시스플라틴과 페메트렉세드의 조합) 및 방사선 요법 (cCRT)으로, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1800 mg 또는 2400 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0342] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 적어도 500 mg (예를 들어, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 또는 그 초과)의 용량으로, 공동 백금-기반 화학방사선 (cCRT)과 조합하여 및 그 이후에 투여함으로써 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1200 mg의 용량으로, 공동 백금-기반 화학방사선 (cCRT)과 조합하여 및 그 이후에 투여함으로써 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1800 mg의 용량으로, 공동 백금-기반 화학방사선 (cCRT)과 조합하여 및 그 이후에 투여함으로써 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 환자에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 2400 mg의 용량으로, 공동 백금-기반 화학방사선 (cCRT)과 조합하여 및 그 이후에 투여함으로써 환자에서 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 치료하는 방법을 제공한다.

[0343] 일부 실시양태에서, 치료될 치료 나이브 대상체 또는 환자는 EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, 및 ROS1 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, 및 ROS1 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 적어도 500 mg (예를 들어, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900 mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 또는 그 초과)의 용량으로 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, 및 ROS1 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1200 mg의 용량으로 2주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, 및 ROS1 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1800 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, 및 ROS1 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 2400 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0344] 일부 실시양태에서, 치료될 치료 나이브 대상체 또는 환자는 EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, ROS1 돌연변이, 및 BRAF V600E 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖지 않는다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, ROS1 돌연변이, 및 BRAF V600E 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖지 않는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 적어도 500 mg (예를 들어, 약 500 mg, 약 600 mg, 약 700 mg, 약 800 mg, 약 900 mg, 약 1000 mg, 약 1100 mg, 약 1200 mg, 약 1300 mg, 약 1400 mg, 약 1500 mg, 약 1600 mg, 약 1700 mg, 약 1800 mg, 약 1900

mg, 약 2000 mg, 약 2100 mg, 약 2200 mg, 약 2300 mg, 약 2400 mg, 또는 그 초과)의 용량으로 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, ROS1 돌연변이, 및 BRAF V600E 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖지 않는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1200 mg의 용량으로 2주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, ROS1 돌연변이, 및 BRAF V600E 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖지 않는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 1800 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다. 일부 실시양태에서, PD-L1-높은 III기 NSCLC를 갖거나 또는 PD-L1 발현에 상관없이 III기 NSCLC를 갖고 (III기 NSCLC는 PD-L1 양성 또는 PD-L1 음성임) (예를 들어, 편평 또는 비-편평 NSCLC) EGFR 감작화 돌연변이, ALK 전위, ROS1 돌연변이, 및 BRAF V600E 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖지 않는 치료 나이브 대상체 또는 환자는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 약 2400 mg의 용량으로 3주마다 1회 정맥내로 투여함으로써 치료된다.

[0345] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 치료 방법은 대상체 또는 환자의 질환 반응 또는 개선된 생존 (예를 들어, 최대 6개월, 12개월, 18개월, 22개월, 28개월, 32개월, 38개월, 44개월, 50개월, 56개월, 62개월, 68개월, 74개월, 80개월, 86개월, 92개월, 98개월, 104개월, 또는 110개월 이하의 생존)을 이루어낸다. 특정 실시양태에서, 개선된 생존은 적어도 108개월이다. 일부 실시양태에서 예를 들어, 질환 반응은 완전 반응, 부분 반응 또는 안정 질환일 수 있다. 일부 실시양태에서 예를 들어, 개선된 생존 (예를 들어, 최대 6개월, 12개월, 18개월, 22개월, 28개월, 32개월, 38개월, 44개월, 50개월, 56개월, 62개월, 68개월, 74개월, 80개월, 86개월, 92개월, 98개월, 104개월, 또는 110개월 이하의 생존)은 무진행 생존 (PFS) 또는 전체 생존 (OS)일 수 있다. 특정 실시양태에서, PFS 및/또는 OS의 개선된 생존은 적어도 108개월이다. 일부 실시양태에서, (예를 들어, PFS에서의) 개선은 본 개시내용의 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로의 치료 개시 전의 기간에 비하여 결정된다. 암 또는 종양 요법에 대한 질환 반응 (예를 들어, 완전 반응, 부분 반응, 또는 안정 질환) 및 환자 생존 (예를 들어, PFS, 전체 생존 (예를 들어, 최대 6개월, 12개월, 18개월, 22개월, 28개월, 32개월, 38개월, 44개월, 50개월, 56개월, 62개월, 68개월, 74개월, 80개월, 86개월, 92개월, 98개월, 104개월, 또는 110개월 이하의 생존))을 결정하는 방법은 관련 기술분야에서 상용적이며 본원에서 고려된다. 특정 실시양태에서, 환자 생존은 적어도 108개월이다. 일부 실시양태에서, 질환 반응은 치료된 환자를 이환 부위 (예를 들어, 흉곽 입구의 상부 공간에서부터 치골 결합까지의 영역을 포함하는 흉부/복부 및 골반)의 조영-증강 컴퓨터 단층촬영 (CT) 또는 자기 공명 영상화 (MRI)에 적용한 후 RECIST 1.1에 따라 평가된다.

[0346] 전달 장치

[0347] 한 측면에서, 본 개시내용은 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 약물 전달 장치를 제공하며, 여기서 장치는 약 500 mg - 약 3000 mg의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 포함하는 제제를 포함하고, 제1 폴리펩티드는 (a) 적어도, 인간 단백질 프로그램화된 사멸 리간드 1 (PD-L1)에 결합하는 항체의 중쇄의 가변 영역; 및 (b) 형질전환 성장 인자 β (TGFβ)에 결합할 수 있는 인간 형질전환 성장 인자 β 수용체 II (TGFβRII) 또는 그의 단편을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 적어도, PD-L1에 결합하는 항체의 경쇄의 가변 영역을 포함하고, 제1 폴리펩티드의 중쇄 및 제2 폴리펩티드의 경쇄는, 조합될 때, PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위를 형성한다.

[0348] 특정 실시양태에서, 장치는 백, 펜 또는 시린지일 수 있다. 특정 실시양태에서, 백은 튜브 및/또는 바늘을 포함하는 채널에 연결될 수 있다.

[0349] 본 개시내용의 특정 실시양태에서, 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 약물 전달 장치는 약 500 mg 내지 약 3000 mg (예를 들어, 약 500 mg 내지 약 3000 mg, 약 500 mg 내지 약 2900 mg, 약 500 mg 내지 약 2800 mg, 약 500 mg 내지 약 2700 mg, 약 500 mg 내지 약 2600 mg, 약 500 mg 내지 약 2500 mg, 약 500 mg 내지 약 2400 mg, 약 500 mg 내지 약 2300 mg, 약 500 mg 내지 약 2200 mg, 약 500 mg 내지 약 2100 mg, 약 500 mg 내지 약 2000 mg, 약 500 mg 내지 약 1900 mg, 약 500 mg 내지 약 1800 mg, 약 500 mg 내지 약 1700 mg, 약 500 mg 내지 약 1600 mg, 약 500 mg 내지 약 1500 mg, 약 500 mg 내지 약 1400 mg, 약 500 mg 내지 약 1300 mg, 약 500 mg 내지 약 1200 mg, 약 500 mg 내지 약 1100 mg, 약 500 mg 내지 약 1000 mg, 약

500 mg 내지 약 900 mg, 약 500 mg 내지 약 800 mg, 약 500 mg 내지 약 700 mg, 약 500 mg 내지 약 600 mg, 약 600 mg 내지 약 3000 mg, 약 700 mg 내지 약 3000 mg, 약 800 mg 내지 약 3000 mg, 약 900 mg 내지 약 3000 mg, 약 1000 mg 내지 약 3000 mg, 약 1100 mg 내지 약 3000 mg, 약 1200 mg 내지 약 3000 mg, 약 1300 mg 내지 약 3000 mg, 약 1400 mg 내지 약 3000 mg, 약 1500 mg 내지 약 3000 mg, 약 1600 mg 내지 약 3000 mg, 약 1700 mg 내지 약 3000 mg, 약 1800 mg 내지 약 3000 mg, 약 1900 mg 내지 약 3000 mg, 약 2000 mg 내지 약 3000 mg, 약 2100 mg 내지 약 3000 mg, 약 2200 mg 내지 약 3000 mg, 약 2300 mg 내지 약 3000 mg, 약 2400 mg 내지 약 3000 mg, 약 2500 mg 내지 약 3000 mg, 약 2600 mg 내지 약 3000 mg, 약 2700 mg 내지 약 3000 mg, 약 2800 mg 내지 약 3000 mg, 또는 약 2900 mg 내지 약 3000 mg)의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 500 내지 약 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩)을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 500 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물)을 포함할 수 있다.

[0350] 특정 실시양태에서, 약물 전달 장치는 약 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 약물 전달 장치는 약 1800 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 항-PD-L1/TGFβ 트랩; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 약물 전달 장치는 약 1200 mg, 약 1800 mg, 또는 2400 mg 용량의 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물을 포함한다.

[0351] 특정 실시양태에서, 병용 방사선요법과 연관된 병리학적 상태 (예를 들어, 폐 섬유증, 폐장염)의 발생을 최소화하고 환자에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 약물 전달 장치는 약 1200 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물))을 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 약물 전달 장치는 약 1800 mg 용량의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것; 또는 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물))을 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 나이브 암 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 억제하는 방법에 사용하기 위한 약물 전달 장치는 약 500 mg, 약 525 mg, 약 550 mg, 약 575 mg, 약 600 mg, 약 625 mg, 약 650 mg,

약 675 mg, 약 700 mg, 약 725 mg, 약 750 mg, 약 775 mg, 약 800 mg, 약 825 mg, 약 850 mg, 약 875 mg, 약 900 mg, 약 925 mg, 약 950 mg, 약 975 mg, 약 1000 mg, 약 1025 mg, 약 1050 mg, 약 1075 mg, 약 1100 mg, 약 1125 mg, 약 1150 mg, 약 1175 mg, 약 1200 mg, 약 1225 mg, 약 1250 mg, 약 1275 mg, 약 1300 mg, 약 1325 mg, 약 1350 mg, 약 1375 mg, 약 1400 mg, 약 1425 mg, 약 1450 mg, 약 1475 mg, 약 1500 mg, 약 1525 mg, 약 1550 mg, 약 1575 mg, 약 1600 mg, 약 1625 mg, 약 1650 mg, 약 1675 mg, 약 1700 mg, 약 1725 mg, 약 1750 mg, 약 1775 mg, 약 1800 mg, 약 1825 mg, 약 1850 mg, 약 1875 mg, 약 1900 mg, 약 1925 mg, 약 1950 mg, 약 1975 mg, 약 2000 mg, 약 2025 mg, 약 2050 mg, 약 2075 mg, 약 2100 mg, 약 2125 mg, 약 2150 mg, 약 2175 mg, 약 2200 mg, 약 2225 mg, 약 2250 mg, 약 2275 mg, 약 2300 mg, 약 2325 mg, 약 2350 mg, 약 2375 mg, 또는 약 2400 mg의 본 개시내용의 단백질 (예를 들어, 항-PD-L1/TGFβ 트랩, 예를 들어, 서열식별번호: 35, 36, 및 37의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 38, 39, 및 40의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 갖는 단백질 산물)을 포함할 수 있다.

[0352] 단백질 생산

[0353] 항체-시토카인 트랩 단백질은 일반적으로 단백질을 발현하도록 조작된 핵산을 함유하는 포유동물 세포를 사용하여 재조합적으로 생산된다. 적합한 세포주 및 단백질 생산 방법의 한 예가 US 20150225483 A1의 실시예 1 및 2에 기재되어 있지만, 항체-기반 생물제약을 생산하기 위해 광범위한 적합한 벡터, 세포주 및 단백질 생산 방법이 사용되어 왔고, 상기 항체-시토카인 트랩 단백질의 합성에 사용될 수 있었다.

[0354] 치료 적응증

[0355] 본 출원에 기재된 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것), 뿐만 아니라 상기 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단백질을 포함하는 개시된 정맥내 약물 전달 제제 및 전달 장치는, 치료 나이브 환자에서 III기 NSCLC를 치료하거나 또는 종양 성장을 감소시키는 데 사용될 수 있다.

[0356] 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로 치료될 III기 NSCLC 또는 종양은 종양에서의 PD-L1 및/또는 TGFβ의 상승된 발현, 이들의 발현 수준과 예후 또는 질환 진행의 상관관계, 및 PD-L1 및 TGFβ를 표적화하는 치료법에 대한 종양의 감수성에 관한 전임상 및 임상 경험을 가질 수 있다.

[0357] 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료될 치료 나이브 암 환자는 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 감작화 (활성화) 돌연변이, 역형성 림프종 키나제 (ALK) 전위, 및 ROS1 돌연변이로부터 선택되는 돌연변이를 갖거나 또는 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료될 치료 나이브 암 (예를 들어, 높은 PD-L1 발현을 갖는 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC); PD-L1 양성 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC); 또는 PD-L1 음성 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)) 환자는 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 감작화 (활성화) 돌연변이를 갖거나 또는 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료될 치료 나이브 암 (예를 들어, 높은 PD-L1 발현을 갖는 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC); PD-L1 양성 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC); 또는 PD-L1 음성 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)) 환자는 역형성 림프종 키나제 (ALK) 전위를 갖거나 또는 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 따라 치료될 치료 나이브 암 (예를 들어, 높은 PD-L1 발현을 갖는 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC); PD-L1 양성 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC); 또는 PD-L1 음성 진행성 III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평 III기 NSCLC)) 환자는 ROS1 돌연변이를 갖거나 또는 갖지 않는다.

[0358] 실시예

[0359] 지금 일반적으로 기재되어 있는 본 개시내용은 하기 실시예를 참조하여 보다 용이하게 이해될 것이며, 이들 실시예는 단지 본 개시내용의 특정 측면 및 실시양태를 예시하려는 목적으로 포함된 것으로, 어떠한 방식으로도 본 개시내용의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0360] 실시예 1: 정맥내 약물 제제의 패키징

[0361] 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 제제를 동결건조 제제 또는 액체 제제로서 제조한다. 동결건조 제제를 제조하기 위해서는, 냉동-건조된 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 멸균시키고, 단일-사용 유리 바이알에 저장한다. 이어서, 여러 개의 이러한 유리 바이알을 암 또는 종양으로 진단된 대상체에게 특정한 체중 비의존성 용량을 전달하기 위한 키트에 패키징한다. 용량 요건에 따라, 키트는 12-60개의 바이알을 함유한다. 대안적으로, 제제를 액체 제제로서 제

조하여 패키징하며, 250 mg/바이알 내지 1000 mg/바이알로 저장한다. 예를 들어, 제제는 액체 제제이며, 600 mg/바이알로 저장하거나, 또는 250 mg/바이알로 저장한다. 또 다른 예에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 10 mg/mL 용액으로서 제제화되고, 60 mL의 추출가능한 부피 (600 mg/60 mL)를 가능하게 하도록 충전하고, USP 및 Ph Eur에 따른 세럼 포맷의 고무 마개로 밀폐하고 알루미늄 크림프 밀봉한 USP/Ph Eur 유형 I 바이알에 공급된다.

[0362] III기 NSCLC로 진단된 대상체에게 500 mg 내지 2400 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 함유하는 제제를 정맥내로 투여한다. 예를 들어, 대상체에게 1200 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 2주마다 1회 또는 1800 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 3주마다 1회 정맥내로 투여한다. 정맥내 투여는 염수 백으로부터의 투여이다. 대상체에게 투여되는 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 양은 대상체의 체중에 비의존성이다.

[0363] 실시예 2: cCRT-유발된 섬유증을 완화시키는 데 있어서 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 효과

[0364] 본 실시예에서는 방사선 또는 화학요법과 조합하여 투여된 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 폐 섬유증 완화에 대한 효과를 평가하기 위해 수행된 실험을 기재한다.

[0365] 세포주: 아메리칸 유형 컬쳐 콜렉션 (ATCC)으로부터 입수한 4T1 뮤린 유방암 세포를 10% 열-불활성화 태아 소 혈청 (FBS) (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))이 보충된 RPMI1640 배지에서 배양하였다. 모든 세포를 무균 조건 하에 배양하고, 37℃에서 5% CO_2 하에 인큐베이션하였다. 세포를 생체내 이식 전에 계대배양하고, 트리플 익스프레스(TrypLE Express) (깁코(Gibco)) 또는 0.25% 트립신을 사용하여 부착 세포를 수거하였다.

[0366] 마우스: BALB/c를 찰스 리버 래보러토리즈(Charles River Laboratories)로부터 입수하였다. 실험에 사용된 모든 마우스는 6- 내지 12-주령 암컷이었다. 마우스를 병원체-무함유 시설에서 먹이 및 물에 자유롭게 접근하도록 수용하였다.

[0367] 뮤린 종양 모델: 4T1 세포 (대략 $0.5x10^5$개)를 치료 개시 6일 전에 BALB/c 마우스의 넓적다리에 근육내로 (i.m.) 접종하였다. 6일 후 (제0일)에 치료를 개시하고, 제6일에 마우스를 희생시켰다 (즉, i.m. 12일 후).

[0368] 치료: 모든 연구에 대해, 마우스를 치료 개시 당일 (제0일)에 치료군으로 무작위화하였다.

[0369] 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 대조군: 본 개시내용의 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 인간 TGF-β 수용체 II의 세포외 도메인에 융합된 인간 PD-L1에 대한 완전 인간 이뮤노글로불린 1 (IgG1) 모노클로날 항체 (예를 들어, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 제1 폴리펩티드 및 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함함)이다. 이소형 대조군은 항-PD-L1의 돌연변이된 형태이며, 이는 PD-L1 결합이 완전히 결여된 것이다. 종양-보유 마우스에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (492 μg) 또는 이소형 대조군 (400 μg)을 제0일, 제2일, 및 제4일에 0.2 mL PBS 중 정맥내 주사 (i.v.)로 투여하였다. 비-종양-보유 BALB/c 마우스에게 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (20 mg/kg), 항-PD-L1 (16.3 mg/kg), 트랩 대조군 (항-PD-L1(mut)/TGF-β 트랩, 20 mg/kg), 또는 이소형 대조군 (항-PD-L1(mut), 16.3 mg/kg)을 i.v. 주사하였다.

[0370] 섬유증의 CCl_4 (사염화탄소)-의존성 유발: 마우스를 칭량하고, 1:3 CCL_4/올리브 오일 용액을 유리 해밀턴 시린지 및 27G x 1/2 니들을 사용하여 1 μL/g로 1주에 2일 i.p. 주사하였다.

[0371] 방사선: 방사선과 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 조합을 평가하기 위해, 마우스를 하기 치료군으로 무작위화하였다: 이소형 대조군 (133, 400 μg) + 비히클 대조군 (0.2 mL), 방사선 (3.6, 7.5, 8 Gy/일), 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (164, 492 μg), 또는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 + 방사선. 방사선 치료를 전달하기 위해, 납 차폐부를 구비한 시준기 장치를 사용하여 마우스의 종양-보유 넓적다리로 국부 전달하였다. 이 영역을 세슘-137 감마 조사기 (감마셀(GammaCell)® 40 이그젝터(Exactor), 엠디에스 노르디온(MDS Nordion), 캐나다 온타리오주 오타와)에 대한 시한성 노출로 조사하였다. 방사선 처리를 4일 동안 1일 1회 제공하였다.

[0372] CCl_4-유발된 간 섬유증

[0373] 조직학: 좌측 간 샘플을 가공 및 염색을 위해 히스토톡스(Histotox) (콜로라도주 볼더)로 보냈다. 내측엽의 상부, 중간 및 하부 절편으로부터의 5 μm 절편을 표준 조직학 방법에 의해 αSMA (압캠(Abcam), cat# ab124964, 1:200) 및 피크로시리우스 레드에 대해 염색하였다. 형태측정 분석을 위해 슬라이드를 최적화하기 위해 2차 또는 배경 염색을 제외시켜, 양성으로 염색된 세포 또는 구조만을 나타내었다. DAB 발색을 허용하는 2차 HRP 표지된 항체를 포함하는 애질런트 엔비전+ 토끼 HRP 키트 (cat# K4011)를 사용하여 1차 항체를 표지하였다.

[0374] SMAD/포스포SMAD 분석: RIPA 완충제 (시그마(Sigma)) 중 0.02%의 HALT 프로테아제 억제제 칵테일 (써모

(Thermo)) 및 1 mM의 EDTA를 함유하는 조직 용해 용액을 1:2 중량:부피의 비율로 동결된 간 샘플에 해동시키면서 첨가하였다. 이어서 샘플을 30/sec의 진동수로 2분/sec 동안 티슈라이저(Tissuelyser) (퀴아젠(Qiagen))에서 비드 파괴를 사용하여 균질화하였다. 파괴 후, 용해물을 12,000 rpm, 20분, 4℃에서 원심분리하였다. 상청액을 분취하고, 20 μM 메쉬 필터 플레이트 (이엠디 밀리포어(EMD Millipore)를 통해 여과하였다. 최종 용해물을 이후의 분석을 위해 -80℃에서 냉동시키거나, 제조업체의 지침에 따라 SMAD2/3 및 포스포SMAD 2/3 ELISA (셀 시그널링(Cell Signaling))를 사용하여 직접 측정하였다.

[0375] 형태측정 분석: 하마마츠 나노주머(Hamamatsu Nanozoomer) 스캐너 및 디지털 병리학 소프트웨어를 사용하여 슬라이드를 디지털로 스캐닝하였다. 저장된 영상을 검토하고, 하마마츠 NDP.뷰 소프트웨어를 사용하여 1.5% 줌으로 축소시켰다. 최종 영상을 이미지 프로 프리미어를 사용하여 양성 염색된 세포의 역치 분석에 의해 분석하였다. 동일한 역치를 모든 조직에 적용하였다. 영상은 평균 결과를 나타낸다.

[0376] RNA-seq 분석: RNA를 Ensembl 75 마우스 게놈 (GRCm38 2014년 2월)에 대해 맵핑하고, 보타이 2(Bowtie 2)로 정렬하고 (Langmead & Salzber (2012), Nat. Methods, 9(4):357-359), RSEM으로 정량화하였다 (Li, B., & Dewey (2011), BMC Bioinformatics, 12:323).

[0377] 서명 점수는 각각의 유전자 서명 내의 모든 유전자들 간의 평균 $\log_2$ (배수 변화)로서 정의되었다. 이들은 모든 유전자 및 샘플에 0.5 TPM의 위계수(pseudocount)를 가산하고, $\log_2$ (TPM)을 결정한 후, 각각의 유전자에 대한 $\log_2$-TPM으로부터 모든 샘플에 걸친 각각의 유전자에 대한 중앙값 $\log_2$-TPM을 감산함으로써 계산하였다. 유전자 세트에 대한 서명 점수 및 개별 유전자의 발현 (log2 배수-변화)은 중앙값 및 25번째 및 75번째 백분위수를 나타내는 박스플롯으로서 제시되고; 휘스커는 최소에서 최대에 걸친다.

[0378] α-SMA 면역조직화학: 단리된 종양을 실온에서 24시간 동안 10% 중성 완충 포르말린 (NBF)에 고정시키고, 탈수시키고, 파라핀 왁스에 포매시켰다. 조직을 5 μm로 절편화하고, 양으로 하전된 슬라이드로 옮겼다. 염색 전에, 절편을 탈파라핀화하고 재수화시켰다. 확립된 프로토콜 및 레이카 본드-알엑스(Leica BOND-RX) 자동염색기를 사용하여 항-α-SMA 면역조직화학을 수행하였다. 간략하게, 항원 회복을 95℃에서 20분 동안 에피토프 회복 용액 2 (레이카(Leica), cat# AR9640)를 사용하여 수행하였다. 차단 후, 이어서 절편을 HRP-접합된 5 μg/ml 항-α-SMA 항체 (클론 1A4, 시그마, cat # SAB420067)와 함께 60분 동안 인큐베이션하였다. 디아미노벤지딘 기질 (DAB)을 사용하여 검출을 수행하고, 절편을 헤마톡실린으로 대조염색하였다. 염색 완료 후, 슬라이드를 탈수시키고 커버-슬립으로 덮었다. 염색된 절편을 하마마츠 나노조머 현미경을 사용하여 영상화하였다.

[0379] 아페리오 이미지스코프 소프트웨어(Aperio ImageScope Software) (버전 12.3.2.8013)를 사용하여 영상의 디지털 정량화를 수행하였다. 각각의 종양에 대해, 다수의 관심 영역 (ROI) (8-11개의 ROI)을 분석하였다. 괴사 부위 및 종양 가장자리는 분석에서 제외하였다. DAB에 대한 배경을 초과하는 총 양성 픽셀을 결정하고, ROI 내의 총 픽셀의 수로 나누어서 각각의 ROI에 대한 퍼센트 양성을 수득하였다. ROI 값을 평균하여 수득한 각각의 종양에 대한 퍼센트 양성 점수를 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)을 사용하여 플롯팅하였다.

[0380] 통계학적 분석: 그래프패드 프리즘 소프트웨어, 버전 7.0을 사용하여 통계적 분석을 수행하였다. pSMAD 및 피크로시리우스 레드 분석을 위해, 독립표본 양측 t-검정을 사용하여 처리군을 이소형 대조군과 비교하였다. 처리군 간 유전자 서명 점수의 차이를 평가하기 위해, 일원 분산 분석 (ANOVA)에 이어서 터키 다중 비교 검정을 수행하였다.

[0381] 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 트랩 대조군은 화학요법-유발된 섬유증을 감소시키지만, 항-PD-L1은 그렇지 않다

[0382] BALB/c 마우스에서 CCl_4-유발된 간 섬유증: 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 생체내 항섬유화 효과를 평가하기 위해, 사염화탄소 (CCl_4) 화학요법 처리에 의해 유발된 간 섬유증 모델을 이용하였다. BALB/c 마우스를 이소형 대조군, 항-PD-L1, 트랩 대조군 또는 항-PD-L1/TGFβ 트랩의 3회 용량과 함께 6주 동안 1주 2회 CCl_4로 처리하였다.

[0383] 본 실험에서, 마우스의 5개 군을 사용하였다: 처리되지 않은 채로 남겨진 BALB/c 마우스 (Nv) (n = 4마리 마우스/군), CCl_4 (1 μL/g, i.p.; 6주 동안 1주에 2일)로 처리된 BALB/c 마우스 (n = 8마리 마우스/군), 및 이소형 대조군 (16.3 mg/kg i.v.; 제0일, 제2일, 제4일), 항-PD-L1 (16.3 mg/kg, i.v.; 제0일, 제2일, 제4일), 트랩 대조군 (20 mg/kg, i.v.; 제0일, 제2일, 제4일), 또는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (20 mg/kg, i.v.; 제0일, 제2일, 제4일)으로 처리된 BALB/c 마우스.

[0384] 마우스를 6주 후에 수거하고, 간을 피크로시리우스 레드 또는 pSMAD2/3에 대해 염색하였다. CCl_4는 이소형 대조군 마우스의 간에서 퍼센트 피크로시리우스 레드에 의해 측정된 바와 같이, 총 콜라겐 함량을 유의하게 증가시켰다. 항-PD-L1 항체가 이소형 대조군에 비해 콜라겐 함량에 영향을 미치지 않았지만, 트랩 대조군 및 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 둘 다 콜라겐 함량을 유의하게 감소시켰다 (총 콜라겐 (퍼센트 피크로시리우스 레드); 각각 p = 0.0038 및 p = 0.0019) (도 12a). 처리된 간 샘플에서 근섬유모세포의 마커인 퍼센트 αSMA는 유사하게 항-PD-L1 처리에 의해 영향을 받지 않았지만, 트랩 대조군 및 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 둘 다 퍼센트 αSMA를 유의하게 감소시켰다 (각각 p = 0.0003 및 p = 0.0013) (도 12b). R-Smad의 인산화, 예컨대 pSmad2/3이 TGF-β 이소형 1-3에 의해 유도될 수 있다는 것을 고려하여 처리된 간 샘플에서 총 Smad2/3에 대한 pSmad2/3의 비를 또한 결정하였다 (인산화된 SMAD2/3 대 총 SMAD2/3의 비는 평균 ± SEM으로 나타내어지고, 각각의 점은 개별 마우스를 나타냄). 처리는 독립표본 t-검정을 사용하여 이소형 대조군과 비교하였다. **p ≤ 0.01 및 ***p ≤ 0.001은 유의한 차이를 나타낸다. 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 이소형 대조군 처리에 비해 pSmad2/3의 비를 감소시킬 수 있는 유일한 처리였다 (p = 0.0006) (도 12c).

[0385] 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 방사선 요법으로의 조합 요법은 EMT 및 섬유화유발 유전자 서명 점수를 감소시켰다

[0386] 조합 요법의 증진된 항종양 활성을 유도한 잠재적 작용 메카니즘을 검사하기 위해, 표적화된 RNA 서열분석 (RNAseq)을 통해 4T1 종양 조직에서의 유전자 발현을 프로파일링하였다.

[0387] 도 13a, 13b 및 도 8은 4T1 모델에서 RNAseq 분석으로부터의 데이터를 제시한다. BALB/c 마우스에게 $0.5x10^5$개 4T1 세포를 근육내로 (i.m.) 접종하고 (제-6일), 이소형 대조군 (400 μg i.v.; 제0일, 제2일, 제4일) + 비히클 대조군 (0.2 mL, 경구로 (경구로 (p.o.)), 1일 2회 (q.d.), 제0일-제6일), 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (492 μg, 정맥내로 (i.v.); 제0일, 제2일, 제4일), 방사선 (8 그레이 (Gy), 제0일-제3일), 또는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT로 처리하였다 (n = 10마리 마우스/군). 마우스를 제6일에 희생시키고, 종양을 수집하고 RNA 추출을 위해 가공하였다. RNAseq를 Qiaseq 표적화된 RNA 패널로 수행하고, 서명 점수를 정하였다. EMT 및 섬유화유발 유전자에 대한 서명 점수 (서명 내의 모든 유전자들 사이의 평균 log2 배수-변화로서 정의됨)는 산포도 또는 박스-휘스커 플롯으로서 제시된다. 휘스커는 최소에서 최대까지 걸친다.

[0388] RNA 서열분석 분석의 일부로서, 유전자를 기능적 군들로 분류하고, "서명 점수"를 유전자 발현의 척도로서 결정하였다. 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단독요법은 이소형 대조군에 비해 상피-중간엽 이행 (EMT) 서명 점수를 감소시켰다 (p < 0.0001). 방사선 요법의 부가가 EMT 서명에 유의하게 영향을 미치지 않았지만 (p > 0.05), 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 방사선 요법의 조합은 이소형 대조군에 비해 EMT 서명 점수를 유의하게 하향조절하였다 (p < 0.0001) (도 13a).

[0389] 섬유화유발 유전자 서명 점수는 또한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단독요법에 의해 감소되었지만, 방사선 요법에 의해서는 이소형 대조군에 비해 유의하게 증가하였다 (p < 0.0001). 또한, 방사선을 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합하는 것은 방사선 단독에 비해 섬유화유발 서명 점수를 감소시켰다 (도 13b). 방사선-유발된 섬유증 유전자 서명 점수 (문헌 [Alsner et al., (2007) Radiotherapy and Oncology, 83(3):261-266]에 기초함)는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리 후에 유사하게 감소되었다 (p = 0.0014). 특히, 방사선 단독요법에 비해, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 방사선 처리와 조합되는 경우에 방사선-유발된 섬유증 서명을 유의하게 감소시킬 수 있었다 (p = 0.0365) (도 8). 방사선-유발된 섬유증 유전자 서명 점수에 대해, Cdc6, Cxcl12 및 Fap의 발현 수준을 측정하였다. 단일 유전자의 수준에서, Fap는 27.1% 하향 조절되었고, 림마(limma)에 의한 조정된 p-값은 0.0107이었다 (조정은 측정된 전체 유전자임). Cdc6 및 Cxcl12의 변화는 유의하지 않았다 (도 9). 섬유증의 주요 유도인자인 Ctgf는 또한 이러한 비교에서 34.4% 하향조절되었다 (p = 0.00350).

[0390] EMT 및 섬유증에 대한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 방사선 요법의 효과를 추가로 평가하기 위해, 섬유모세포 및 EMT와 관련된 개별 유전자의 발현을 정량화하였다.

[0391] 평활근 α 액틴 (ACTA2)의 발현은 평활근 세포, 혈관주위세포 및 근섬유모세포로 제한되고, 근섬유모세포 기능에 중요하다. BALB/c 마우스에게 $0.5x10^5$개 4T1 세포를 근육내로 (i.m.) 접종하고 (제-6일), 이소형 대조군 (400 μg i.v.; 제0일, 제2일, 제4일) + 비히클 대조군 (0.2 mL, 경구로 (경구로 (p.o.)), 1일 2회 (q.d.), 제0일-제6일), 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (492 μg, 정맥내로 (i.v.); 제0일, 제2일, 제4일), 방사선 (8 Gy, 제0일-제3일), 또는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT로 처리하였다 (n = 10마리 마우스/군). 마우스를 제6일에 희생시키고, 종양을 수집하고, RNA 추출을 위해 가공하였다. RNAseq를 Qiaseq 표적화된 RNA 패널로 수행하고, 서명 점수를 정하였다. 각각의 처리에서 유전자 발현 (log2 배수 변화)을 Acta2, Ctgf 및 Fap에 대한 박스-휘스커 플롯으

로 나타낸다. 휘스커는 최소에서 최대까지 걸친다.

[0392] 시험관내에서 ACTA2 발현은 TGF-β1 처리에 의해 증가된다. 방사선 치료 단독은 ACTA2 발현에 대해 유의한 효과가 없었지만, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 단독요법 및 방사선 요법과 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 4T1 모델에서 ACTA2 발현을 유의하게 감소시켰다 (각각 $p < 0.0001$ 및 $p = 0.0236$) (도 14a).

[0393] 결합 조직 성장 인자 (CTGF)는 조직 재형성 및 섬유증의 중심 매개체인 것으로 나타난 분비된 단백질이다. CTGF 억제는 심지어 섬유증 과정을 역전시키는 것으로 나타났고, CTGF를 표적화하는 모노클로날 항체는 마우스 모델에서 방사선-유발된 폐 섬유증을 유의하게 감소시켰다. 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 이소형 대조군에 비해 CTGF 발현을 유의하게 감소시켰고 ($p = 0.0019$), 예상된 바와 같이, 방사선 처리는 CTGF를 증가시켰으며, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 조합은 방사선 단독요법에 비해 방사선 처리의 효과를 유의하게 상쇄시켰다 ($P = 0.0024$) (도 14b).

[0394] 섬유모세포 활성화 단백질 (FAP)은 인간 상피암의 90% 초과에서 암-연관 섬유모세포 (CAF)에 의해 고도로 발현되며, 여기서 STAT3 신호전달을 통해 TME에서 CAF에 의한 면역억제를 촉진할 수 있다. 항-PD-L1/TGFβ 트랩은 이소형 대조군에 비해 FAP 발현을 유의하게 감소시켰고 ($p < 0.0001$), 방사선 요법에 의해 관찰된 FAP의 감소는 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 방사선의 조합에 의해 추가로 감소되었다 ($P = 0.0054$) (도 14c).

[0395] 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 마우스 종양에서의 α-SMA 발현을 감소시킨다

[0396] 증가된 TGF-β 활성은, 약물 내성에 기여할 수 있고 면역요법 표적으로서 부상하고 있는, CAF의 마커인 알파-평활근 액틴 (α-SMA)의 발현을 유도한다 (Calon et al. (2014), Semin. Cancer Biol. 25:15-22; Kakarla et al. (2012), Immunotherapy, 4(11): 1129-1138). α-SMA 발현에 대한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 및 방사선 요법의 효과를 평가하기 위해, α-SMA IHC를 4T1 종양 절편에서 수행하였다. BALB/c 마우스에게 $0.5x10^5$개 4T1 세포를 근육내로 (i.m.) 접종하고 (제-6일), 이소형 대조군 (400 μg i.v.; 제0일, 제2일, 제4일) + 비히클 대조군 (0.2 mL, p.o., 1일 2회 (q.d.), 제0일-제6일), 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (492 μg i.v.; 제0일, 제2일, 제4일), 방사선 (8 Gy, 제0일-제3일), 또는 항-PD-L1/TGFβ 트랩 + 방사선으로 처리하였다 ($n = 10$마리 마우스/군). 도 15에 나타낸 박스-플롯에서, 정량화를 위해, α-SMA+ 픽셀의 수를 종양당 다수의 관심 영역 (ROI)에 대해 결정하고, ROI 면적에 대해 정규화하였으며; 각각의 기호는 단일 종양에 대한 양성 픽셀의 비율을 나타낸다. P-값을 일원 ANOVA에 의해 결정하였다. 축척 막대, 250 μm.

[0397] 항-α-SMA IHC의 대표적인 영상이 제시된다 (도 16a-16d). 이소형 대조군 (도 16a)에 비해, 항-PD-L1/TGFβ 트랩 처리는 α-SMA 발현을 유의하게 감소시켰으며 ($p < 0.0001$) (도 16b), 방사선 요법은 α-SMA 발현을 유의하게 증가시켰다 ($p = 0.0002$) (도 16c). 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 방사선 요법의 조합은 방사선 단독요법에 비해 α-SMA 발현을 유의하게 감소시켰고 ($P = 0.0001$) (도 16d), 이는 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 방사선-유발된 CAF 활성을 감소시킬 수 있음을 시사한다.

[0398] 실시예 3: 치료 나이브 IIIA기 NSCLC 환자 코호트의 병용 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩 투여 - 연구 설계 1

[0399] IIIA기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 치료-나이브 환자를 cCRT와 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 이어서 강화를 위한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (부문 1)으로 치료하고, cCRT에 이어서 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로의 강화 치료 (부문 2)에 등록된 환자 및 cCRT에 이어서 두르발루맙으로 치료된 환자 (부문 3)와 비교한다. 하나의 예시적 실시양태에서, cCRT는 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 60-66 Gy (예를 들어, 60 Gy) 총 선량의 방사선과 공동으로 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드 또는 카르보플라틴/파클리탁셀로서 투여된다. 화학요법 레지멘은 계층화 인자이다.

[0400] 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 1200 mg의 BW-비의존성 용량으로서 IIIA기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 2주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 1800 mg의 BW-비의존성 용량으로서 IIIA기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 3주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 2400 mg의 BW-비의존성 용량으로서 IIIA기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 3주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나 이상의 예시적 실시양태에서, 잠재적 주입-관련 반응을 완화시키기 위해, 항히스타민제 및 파라세타몰 (아세트아미노펜)로의 예비투약 (예를 들어, 25-50 mg 디펜히드라민 및 500-650 mg 파라세타몰

[아세트아미노펜] IV 또는 경구 등가물)을 처음 2회 주입에 대해 각각의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 투여 대략 30 내지 60분 전에 투여한다. 처음 2회 주입 동안 등급 ≥ 2의 주입 반응이 관찰되면, 예비투약을 중단하지 않는다. 예비투약으로서 스테로이드는 허용하지 않는다.

[0401] 하기는 본 실시예에 사용된 환자에 대한 포함 기준을 기재한다. 환자는:

[0402] - 사전 동의 시점에서, ≥ 18세이다

[0403] - 국부 진행성 절제불가능한 (IIIㄱ) NSCLC의 조직학상 또는 세포학상 확인된 진단을 갖는다

[0404] - 선행 개흉술 (수행되는 경우) 이후 적어도 3주

[0405] - IIIㄱ NSCLC의 진단 이후 선행 전신 요법 치료 또는 T-세포 공동조절 단백질 (면역 체크포인트)을 표적화하는 임의의 항체 또는 약물, 예컨대 항-PDL1 또는 항-CTLA-4 항체를 받은 적이 없다

[0406] - 적어도 12주의 기대 수명을 갖는다 (진단 후 환자 예후의 의사의 평가에 기초함).

[0407] - 바이오마커 분석에 적절한 이용가능한 종양 물질 (< 6개월령)을 갖는다

[0408] - 0 내지 1의 동부 협동 종양학 그룹 수행 상태(Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status) (ECOG PS)를 갖는다

[0409] - 1초간 강제 호기량 (FEV_1) ≥ 1.2 리터 또는 무작위화 전 3주 이내에 측정된 예측 정상 부피의 ≥ 50%으로 규정된 적절한 폐 기능을 갖는다

[0410] - 절대 호중구 계수 (ANC) ≥ 1.5 x 10^9개/L, 혈소판 계수 ≥ 100 x 10^9개/L, 및 Hgb ≥ 9 g/ dL로 규정된 적절한 혈액학적 기능을 갖는다

[0411] - 총 빌리루빈 수준 ≤ 1.5 x 정상 상한치 (ULN), 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) 수준 ≤ 3.0 x ULN, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 수준 ≤ 3.0 x ULN 및 알칼리성 포스파타제 ≤ 2.5 ULN에 의해 규정된 적절한 간 기능을 갖는다

[0412] - 크레아틴 ≤ 1.5 x ULN, 또는 Cr > 1.5 x ULN을 갖는 참여자의 경우 계산된 크레아티닌 클리어런스 (CrCl) ≥ 50 mL/분 (GFR이 또한 사용될 수 있음)에 의해 규정된 적절한 신장 기능을 갖는다

[0413] - 참여자가 항응고제 요법을 받고 있지 않는 경우 국제 정규화 비 (INR) 또는 프로트롬빈 시간 (PT) ≤ 1.5 x ULN, 및 참여자가 항응고제 요법을 받고 있지 않는 경우 활성화된 부분 트롬보플라스틴 시간 (aPTT) ≤ 1.5 x ULN으로 규정된 적절한 응고 기능을 갖는다

[0414] 실시예 4: 치료 나이브 IIIㄱ NSCLC 환자 코호트의 병용 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 함께 항-PD-L1/TGFβ 트랩 투여 - 연구 설계 2

[0415] IIIㄱ 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 치료-나이브 환자를 cCRT와 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 이어서 강화를 위한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (부문 1)으로 치료하고, cCRT와 조합된 10 mg/kg 격주 두르발루맙에 이어서 10 mg/kg 격주 두르발루맙으로의 강화 치료 (부문 2)로 치료된 환자 및 또한 cCRT 단독에 이어서 위약으로 치료된 환자 (부문 3)와 비교한다. 하나의 예시적 실시양태에서, cCRT는 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 60-66 Gy (예를 들어, 60 Gy) 총 선량의 방사선과 공동으로 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드 또는 카르보플라틴/파클리탁셀로서 투여된다. 화학요법 레지멘은 계층화 인자이다.

[0416] 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 1200 mg의 BW-비의존성 용량으로서 IIIㄱ 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 2주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 1800 mg의 BW-비의존성 용량으로서 IIIㄱ 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 3주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 2400 mg의 BW-비의존성 용량으로서 IIIㄱ 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 3주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나 이상의 예시적 실시양태에서, 잠재적 주입-관련 반응을 완화시키기 위해, 항히스타민제 및 파라세타몰 (아세트아미노펜)로의 예비투약 (예를 들어, 25-50 mg 디펜히드라민 및 500-650 mg 파라세타몰 [아세트아미노펜] IV 또는 경구 등가물)을 처음 2회 주입에 대해 각각의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 투여 대략 30 내

지 60분 전에 투여한다. 처음 2회 주입 동안 등급 ≥ 2의 주입 반응이 관찰되면, 예비투약을 중단하지 않는다. 예비투약으로서 스테로이드는 허용하지 않는다.

[0417] 실시예 4에 대한 포함 기준은 실시예 2와 유사하지만, 연구자의 판단에 따라 조정될 수 있었다.

[0418] 실시예 5: III기 NSCLC 환자의 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로의 치료에서의 치료 효능

[0419] RECIST 1.1에 따른 무진행 생존 (PFS)은 실시예 3 및 4에 기재된 바와 같이 cCRT와 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로 치료된 참여자에서 1차 종점으로서 측정된다. 각 실시예의 부문 사이의 효능 차이를 조사한다.

[0420] 하나의 예시적 실시양태에서, 시스플라틴은 cCRT-기반 유도 동안 제1일, 제8일, 제29일, 제36일에 60분에 걸쳐 50 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 또는 지역 표준에 따라 투여된다. 에토포시드는 cCRT-기반 유도 동안 제1일-제5일, 제29일-제33일에 1일 최소 30분 내지 최대 60분에 걸쳐 50 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여된다.

[0421] H2-차단제, 항구토제, 덱사메타손 (경구 또는 정맥내)으로 이루어진 표준 예비투약은 지역 가이드라인에 따라 투여된다. 시스플라틴/에토포시드를 제공받는 참여자에서의 적절한 치료전 및 치료후 수액보충을 지역 실무에 따라 확보한다.

[0422] 하나의 예시적 실시양태에서, 파클리탁셀은 cCRT-기반 유도 동안 매주 제1일에 60분에 걸쳐 45 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 또는 지역 처방 정보에 따라 투여된다. 지역 표준에 따른 디펜히드라민 25-50 mg, H2-차단제, 및 덱사메타손 (경구 또는 IV가 허용가능함)으로 이루어진 표준 예비투약은 파클리탁셀의 적어도 30분 전에 제공된다.

[0423] 카르보플라틴/파클리탁셀 레지멘으로 치료받고, 강화로서 항-PD-L1/TGFβ 트랩 또는 두르발루맙을 제공받을 수 없는 참여자의 경우, 2회의 추가의 사이클의 카르보플라틴/파클리탁셀 (카르보플라틴 AUC 6, 파클리탁셀 200 mg/m^2, Q3W)이 연구자 결정에 따라 강화 치료로서 제공된다.

[0424] 카르보플라틴은 cCRT-기반 유도 동안 매주 제1일에 30분에 걸쳐 AUC 2에 기초하여 정맥내로 또는 지역 표준에 따라 투여된다. 카르보플라틴은 파클리탁셀이 투여된 후 표준 항구토제와 함께 제공될 것이다.

[0425] 치료 효능은 또한 3개의 추가의 결과 결정인자로 측정될 수 있다. 치료 효능은 미국 식품의약국에 따라 "최소 시간 기간 동안 미리 규정된 양의 종양 크기 감소를 갖는 환자의 비율"인 객관적 반응률 (ORR)로서 측정될 수 있다. FDA 2007을 참조한다. 국립 암 연구소 (NCI, 미국)에 따라, 완전 반응이란 "치료에 반응하여 모든 암 징후가 소멸되는 것"이다. ORR은 CR보다 치료 효능의 바람직한 척도이다. 문헌 [Kogan & Haren (2008), Biotech. Healthcare, 5(1):22-35]을 참조한다. 치료 효능의 또 다른 척도는 무작위화로부터, 예를 들어 57개월에서의 계획된 평가까지의 시간인, 전체 생존 (OS)이다. 또한, 치료 효능은 무작위화로부터, 예를 들어 57개월에서의 계획된 평가까지의 시간인, 반응의 지속기간 (CR 또는 부분 반응 (PR)으로부터 질환의 진행 (PD), 사망 또는 최종 종양 평가까지 평가됨)으로서 측정될 수 있다.

[0426] 흉곽 입구의 상부 공간에서부터 치골 결합까지의 영역을 포괄하는 흉부/복부 및 골반의 조영-증강 컴퓨터 단층촬영 (CT)은 치료 효능을 평가하기 위한 영상화 양식의 제1 선택이다. 강화 전의 종양 평가는 강화 치료의 시작 전에 가능한 한 근접하게 및 CRT-기반 유도 종료 후 14일 이내에 수행된다. cCRT와 연관된 독성으로부터 회복 중인 환자의 경우, 강화의 시작은 cCRT의 종료로부터 최대 42일까지 지연된다. 참여자를 방사선촬영 영상화로 6주마다 평가하여 참여자의 제1 용량의 15개월 이내에 치료에 대한 반응을 평가하고, 이어서 그 후 12주마다 평가한다.

[0427] 추가의 종점을 조사하여 치료 효능을 추가로 확립한다. 예를 들어, 종양 크기의 변화를 기준선과 비교하여 종양 부피 분석에 의해 평가하고, 종양 대사 부피의 변화를 PET 스캔으로 측정한다. 폐 섬유증의 기준선으로부터의 변화는 고해상도 CT 스캔 및 폐 기능 검사로 측정된다. 혈장 또는 종양 조직에서의 돌연변이 유형 및 수 (종양 돌연변이 부담 (TMB))를 검사하고, TMB와 임상 결과 사이의 상관관계를 조사함으로써 임상 반응의 잠재적 예측 바이오마커를 평가한다.

[0428] 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 사용한 치료는 치료 나이브 III기 NSCLC 환자에서 초기 임상 활성을 발생시키는 것으로 생각된다. 치료된 환자는 질환 반응 (예를 들어, 부분 반응, 완전 반응, 안정 질환) 및/또는 개선된 생존 (예를 들어, 무진행 생존 및/또는 전체 생존)을 나타낸다. 병용 cCRT와 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로의 치료에 이어서 항-PD-L1/TGFβ 트랩 강화 치료는, cCRT 단독 또는 cCRT에 이어서 위약으로 치료된 환자에 비해 치료

나이브 III기 NSCLC 환자의 우수한 생존을 이루어내는 것으로 생각된다.

[0429] 요약하면, 병용 cCRT와 함께 항-PD-L1/TGFβ 트랩은, 2종의 면역 억제 경로: PD-L1 및 TGF-β를 동시에 표적화하고, 이에 의해 병용 방사선요법과 연관된 섬유증의 발생을 최소화하고 대상체에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, III기 NSCLC를 치료하도록 설계된 혁신적인 이중기능적 융합 단백질인 것으로 밝혀졌다.

[0430] 실시예 6: 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC 환자 코호트 [총 350]의 병용 화학요법 및 방사선요법 (cCRT)과 함께 항-PD-L1/TGFβ 트랩 투여 - 연구 설계 3

[0431] 진행성 절제불가능한 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 환자를 cCRT (예를 들어, 백금-기반 화학방사선)와 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 이어서 강화를 위한 항-PD-L1/TGFβ 트랩 (부문 1)으로 치료하고, 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 매칭되는 위약과 cCRT에 이어서 두르발루맙으로 치료된 환자 (부문 2)와 비교한다. 치료 레지멘의 개략적 다이어그램은 도 17에 기재된다. 하나의 예시적 실시양태에서, cCRT는 강도-변조 방사선 요법에 의해 전달되는 60-66 Gy (예를 들어, 60 Gy) 총 선량의 방사선과 공동으로 시스플라틴/에토포시드, 시스플라틴/페메트렉세드 또는 카르보플라틴/파클리탁셀로서 투여된다. 화학요법 레지멘 및/또는 PD-L1 발현은 연구에서의 계층화 인자이다.

[0432] 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 1200 mg의 BW-비의존성 용량으로서 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 2주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 1800 mg의 BW-비의존성 용량으로서 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 3주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 2400 mg의 BW-비의존성 용량으로서 III기 비소세포 폐암 (NSCLC)을 갖는 암 환자에게 3주마다 1회 투여한다. 투여를 약 1시간 (-10분 / +20분, 예를 들어, 50분 내지 80분) 동안 정맥내로 수행한다. 하나 이상의 예시적 실시양태에서, 잠재적 주입-관련 반응을 완화시키기 위해, 항히스타민제 및 파라세타몰 (아세트아미노펜)로의 예비투약 (예를 들어, 25-50 mg 디펜히드라민 및 500-650 mg 파라세타몰 [아세트아미노펜] IV 또는 경구 등가물)을 처음 2회 주입에 대해 각각의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 투여 대략 30 내지 60분 전에 투여한다. 처음 2회 주입 동안 등급 ≥ 2의 주입 반응이 관찰되면, 예비투약을 중단하지 않는다. 예비투약으로서 스테로이드는 허용하지 않는다.

[0433] 하나의 예시적 실시양태에서, 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 갖는 환자에게 허용되지 않는 독성, 질환 진행 확인, cCRT 동안 및 cCRT 후 최대 1년까지 1200 mg의 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 2주마다 1시간에 걸쳐 정맥내로 주입한다. 하나의 예시적 실시양태에서, 4회 용량 (예를 들어, 각각 1200 mg)의 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 유도기 동안 cCRT와 병용으로 투여된다. 하나 이상의 예시적 실시양태에서, 26회 용량 (예를 들어, 각각 1200 mg)의 항-PD-L1/TGFβ 트랩이 강화기 동안 투여된다.

[0434] 하나의 예시적 실시양태에서, 에토포시드는 cCRT 동안 제1일-제5일 및 제29일-제33일에 1일 최소 30분에서 최대 60분에 걸쳐 정맥내로 또는 50 mg/m^2의 용량으로 또는 지역 표준에 따라 투여된다. 하나의 예시적 실시양태에서, 페메트렉세드는 cCRT 동안 제1일, 제22일 및 제43일에 500 mg/m^2의 용량으로 또는 지역 표준에 따라 10분에 걸쳐 정맥내로 또는 지역 표준에 따라 투여된다. 하나의 예시적 실시양태에서, 카르보플라틴은 cCRT 동안 제1일, 제8일, 제15일, 제22일, 제29일, 제36일 및 제43일에 30분에 걸쳐 곡선하 면적 (AUC) 2에 기초하여 정맥내로 투여된다. 하나의 예시적 실시양태에서, 파클리탁셀은 45 mg/m^2의 용량으로 또는 지역 표준에 따라 cCRT 동안 제1일, 제8일, 제15일, 제22일, 제29일, 제36일 및 제43일에 60분에 걸쳐 정맥내로 투여된다. 지역 표준에 따른 디펜히드라민 25-50 mg, H2-차단제 및 텍사메타손 (경구 또는 IV가 허용가능함)으로 이루어진 표준 예비투약은 파클리탁셀의 적어도 30분 전에 제공된다.

[0435] 하나의 예시적 실시양태에서, 시스플라틴은 cCRT-기반 유도 동안 제1일, 제8일, 제29일, 제36일에 50 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 60분에 걸쳐 또는 지역 표준에 따라 투여된다. 에토포시드는 cCRT-기반 유도 동안 제1일-제5일, 제29일-제33일에 1일 최소 30분 내지 최대 60분에 걸쳐 50 mg/m^2의 용량으로 정맥내로 투여된다.

[0436] 하나의 예시적 실시양태에서, 시스플라틴은 cCRT-기반 유도 동안 제1일, 제22일, 제43일에 75 mg/m^2의 용량으로 60분에 걸쳐 정맥내로 또는 지역 표준에 따라 투여된다. 페메트렉세드는 500 mg/m^2의 용량으로 또는 지역 표

준에 따라 10분에 걸쳐 정맥내로 또는 cCRT 동안 제1일, 제22일 및 제43일에 지역 표준에 따라 투여된다.

[0437] 부문 2에서, 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC를 갖는 환자에게 허용되는 독성, cCRT 동안 질환 진행 확인 시까지 2주마다 1시간에 걸쳐 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 매칭되는 위약을 정맥내로 주입한다. 두르발루맙은 허용되는 독성, cCRT 동안 질환 진행 확인 및 cCRT 후 최대 1년까지 1시간에 걸쳐 10 mg/kg으로 격주로 투여된다. 하나 이상의 예시적 실시양태에서, 26회 용량 (예를 들어, 각각 10 mg/kg)의 두르발루맙이 강화기 동안 투여된다.

[0438] 하나의 예시적 실시양태에서, 잠재적 주입-관련 반응을 완화시키기 위해, 항히스타민제 및 파라세타몰 (아세트아미노펜)로의 예비투약 (예를 들어, 25-50 mg 디펜히드라민 및 500-650 mg 파라세타몰 [아세트아미노펜] IV 또는 경구 등가물)을 처음 2회 주입에 대해 각각의 항-PD-L1/TGFβ 트랩 투여 대략 30 내지 60분 전에 투여한다. 처음 2회 주입 동안 등급 ≥ 2의 주입 반응이 관찰되면, 예비투약을 중단하지 않는다. 예비투약으로서 스테로이드는 허용하지 않는다.

[0439] 하나의 예시적 실시양태에서, H2-차단제, 항구토제, 덱사메타손 (경구 또는 정맥내)으로 이루어진 표준 예비투약은 지역 가이드라인에 따라 투여된다. 시스플라틴/에토포시드를 제공받는 참여자에서의 적절한 치료전 및 치료후 수액보충은 지역 실무에 따라 확보한다.

[0440] 하기는 본 실시예에 사용된 환자에 대한 포함 기준을 기재한다. 환자는:

[0441] - 사전 동의 시점에서, ≥ 18세이다

[0442] - III기 국소 진행성 절제불가능한 질환을 나타내는 조직학상 문서화된 NSCLC를 갖는다 (국제 폐암 연구 협회의 흉부 종양학 병기분류 매뉴얼(International Association for the Study of Lung Cancer Staging Manual in Thoracic Oncology))

[0443] - 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 감작화 (활성화) 돌연변이, 역형성 림프종 키나제 (ALK) 전위, ROS-1 재배열을 보유하는 종양을 갖는 환자가 적격이다

[0444] - 1.2 리터 이상 (>=)의 1초간 강제 호기량 (FEV1) 또는 무작위화 전 3주 이내에 측정된 예측 정상 부피의 >= 50%으로 규정된 적절한 폐 기능을 갖는다

[0445] - 절대 호중구 계수 (ANC) ≥ 1.5 x 10^9개/L, 혈소판 계수 ≥ 100 x 10^9개/L 및 헤모글로빈≥ 9 g/dL로 규정된 적절한 혈액학적 기능을 갖는다

[0446] - 총 빌리루빈 수준 ≤ 1.5 x 정상 상한치 (ULN), 아스파르테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) 수준 ≤ 3.0 x ULN, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT) 수준 ≤ 3.0 x ULN 및 알칼리성 포스파타제 ≤ 2.5 ULN에 의해 규정된 적절한 간 기능을 갖는다

[0447] - 크레아틴 ≤ 1.5 x ULN, 또는 Cr > 1.5 x ULN을 갖는 참여자의 경우 계산된 크레아티닌 클리어런스 (CrCl) ≥ 50 mL/분 (GFR이 또한 사용될 수 있음)에 의해 규정된 적절한 신장 기능을 갖는다

[0448] - 피임 방법에 대한 지역 규정과 일치하는 피임제 (남성 및 여성)를 사용한다

[0449] - 0 내지 1의 동부 협동 종양학 그룹 수행 상태 (ECOG PS)를 갖는다

[0450] 환자는 NSCLC에 대한 임의의 선행 전신 세포독성 화학요법 또는 T-세포 공동조절 단백질을 표적화하는 임의의 항체 또는 약물때문에 연구로부터 배제될 수 있다.

[0451] 실시예 7: 실시예 6에 기재된 바와 같은 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC 환자의 치료에서의 치료 효능

[0452] RECIST1.1에 따른 무진행 생존 (PFS)은 실시예 6에 기재된 바와 같이, cCRT와 조합된 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 이어 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로 치료된 참여자에서 1차 종점으로서 측정된다. 각 실시예의 부문 사이의 효능 차이를 조사한다.

[0453] 치료 효능은 또한 추가의 결과 결정인자로 측정될 수 있다. 치료 효능의 척도는 무작위화로부터, 예를 들어 59개월에서의 계획된 평가까지의 시간인, 전체 생존 (OS)이다. 연구 치료의 시작으로부터 질환 진행/재발까지 기록된 최상의 반응인 최상의 전체 반응 (BOR)은 또한 치료 효능을 추가로 확립하기 위해 조사될 수 있다. 치료 효능의 추가의 척도는 기준선에서의 PD-L1 발현의 평가를 통해서이다. 또 다른 2차 종점은 안전성이다. 추가의 종점을 조사하여 치료 효능을 추가로 확립한다. 예를 들어, 종양 크기의 변화를 기준선과 비교하여 종양 부피 분석에 의해 평가하고, 종양 대사 부피의 변화를 PET 스캔으로 측정한다. 폐 섬유증의 기준선으로부

터의 변화는 고해상도 CT 스캔 및 폐 기능 검사로 측정된다.

[0454] 흉곽 입구의 상부 공간에서부터 치골 결합까지의 영역을 포괄하는 흉부/복부 및 골반의 조영-증강 컴퓨터 단층 촬영 (CT)은 치료 효능을 평가하기 위한 영상화 양식의 제1 선택이다. 참여자는 방사선 영상화로 8주마다 평가하여, 진행 또는 연구로부터의 철회 중 빠른 어느 것이 발생하지 않는 한, 참여자의 제1 용량에 대해 최대 24개월 동안 연구 개입에 대한 반응을 평가한다. 후속 스캔은 진행, 새로운 치료의 시작 또는 사망까지 8-12주마다 수행된다.

[0455] 임상 반응의 잠재적 예측 바이오마커는 혈장 또는 종양 조직에서의 돌연변이 유형 및 수 (종양 돌연변이 부담 (TMB))를 검사하고, TMB와 임상 결과 사이의 상관관계를 조사함으로써 평가될 수 있다.

[0456] 추가의 탐색적 종점을 조사하여 치료 효능을 추가로 확립한다. 예를 들어, 고형 종양의 면역-관련 반응 평가 기준 (irRECIST)에 따른 순환 종양 DNA (ctDNA) 수준, 면역-관련 최상의 전체 반응 (irBOR) 및 면역-관련 무진행 생존 (irPFS)에서의 변화.

[0457] 항-PD-L1/TGFβ 트랩을 사용한 치료는 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC 환자의 치료에서 초기 임상 활성을 발생시키는 것으로 생각된다. 치료된 환자는 질환 반응 (예를 들어, 부분 반응, 완전 반응, 안정 질환) 및/또는 개선된 생존 (예를 들어, 무진행 생존 및/또는 전체 생존)을 나타낸다. 병용 cCRT와 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로의 치료에 이어서 항-PD-L1/TGFβ 트랩 강화 치료는, 항-PD-L1/TGFβ 트랩에 매칭되는 위약과 cCRT에 이어서 두르발루맙으로 치료된 환자에 비해 진행성 절제불가능한 III기 NSCLC 환자의 우수한 생존을 이루어내는 것으로 생각된다.

[0458] 하나의 예시적 실시양태에서, PD-L1 발현은 FDA 승인 시험 (예를 들어, (종양 비율 점수 (TPS) 또는 벤타나 PD-L1 (SP263) 검정)에 의해 결정된다. 하나의 예시적 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 포르말린-고정 파라핀-포매 조직에서 PD-L1 단백질 발현을 결정하는 데 사용된다. 하나의 예시적 실시양태에서, 환자는 PD-L1 발현과 무관하게 등록되고, SP263 검정을 사용하여 PD-L1 발현에 대해 후향적으로 계층화된다. 하나의 예시적 실시양태에서, PD-L1 데이터 (후향 및 전향)는 1차 효능 분석에서 고려된다 (PFS 및 OS에 관한 치료 효과의 추정을 위한 감수성 분석으로서, 계층화된 로그-순위 검정, PD-L1-계층화된 Cox-모델, PD-L1 조정된 Cox-모델).

[0459] 하나의 예시적 실시양태에서, 화학요법 레지멘 (예를 들어, 시스플라틴/페메트렉세드)은 연구에서 계층화 인자로서 사용된다. 하나의 예시적 실시양태에서, III기 NSCLC (예를 들어, 편평 또는 비-편평)로 진단된 환자는 시스플라틴/에토포시드 또는 카르보플라틴/파클리탁셀을 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합하여 정맥내로 투여한 후 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로 치료함으로써 치료된다. 하나의 예시적 실시양태에서, 비-편평 조직학을 갖는 III기 NSCLC로 진단된 환자는 시스플라틴/페메트렉세드를 항-PD-L1/TGFβ 트랩과 조합하여 정맥내로 투여한 후 항-PD-L1/TGFβ 트랩으로 치료함으로써 치료된다.

[0460] 요약하면, 병용 cCRT와 함께 항-PD-L1/TGFβ 트랩은, 2종의 면역 억제 경로: PD-L1 및 TGF-β를 동시에 표적화하고, 이에 의해 병용 방사선요법과 연관된 섬유증의 발생을 최소화하고 대상체에서 III기 NSCLC의 전이 발병까지의 시간 및/또는 원격 전이까지의 시간을 증가시키면서, III기 NSCLC를 치료하도록 설계된 혁신적인 이중기능적 융합 단백질인 것으로 밝혀졌다.

[0461] 서열

[0462] 서열식별번호: 1

[0463] 분비된 항-PD-L1 람다 경쇄의 펩티드 서열

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSG
VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVLGQPKANPTV
TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAA
SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0464]

[0465] 서열식별번호: 2

[0466] 항-PDL1의 분비된 H 쇄의 펩티드 서열

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITF
YADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0467]

[0468] 서열식별번호: 3

[0469] 항-PDL1/TGFβ 트랩의 분비된 H 쇄의 펩티드 서열

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITF
YADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
GIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQE
VCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSD
ECNDNIIFSEEYNTSNPD

[0470]

[0471] 서열식별번호: 4

[0472] 항-PD-L1 람다 경쇄의 번역 개시 코돈에서부터 번역 정지 코돈까지의 DNA 서열 (VL에 선행하는 리더 서열은 유로키나제 플라스미노겐 활성화제로부터의 신호 펩티드임)

atgagggccctgctggctagactgctgctgtgcgtgctggtcgtgtccgacagcaagggcCAGTCCGCCCTGACCCAGC
CTGCCTCCGTGTCTGGCTCCCCTGGCCAGTCCATCACCATCAGCTGCACCGGCACCT
CCAGCGACGTGGGCGGCTACAACTACGTGTCCTGGTATCAGCAGCACCCCGGCAAG
GCCCCCAAGCTGATGATCTACGACGTGTCCAACCGGCCCTCCGGCGTGTCCAACAG
ATTCTCCGGCTCCAAGTCCGGCAACACCGCCTCCCTGACCATCAGCGGACTGCAGGC
AGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCTCCTCCTACACCTCCTCCAGCACCAGAGTGTT
CGGCACCGGCACAAAAGTGACCGTGCTGggccagcccaaggccaacccaaccgtgacactgttcccccccatc
ctccgaggaactgcaggccaacaaggccaccctggtctgcctgatctcagatttctatccaggcgccgtgaccgtggcctggaaggctgat
ggctccccagtgaaggccggcgtggaaaccaccaagccctccaagcagtccaacaacaaatacgccgcctcctcctacctgtccctgac
ccccgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccaggtcacacacgagggctccaccgtggaaaagaccgtcgcccccaccgag
tgctcaTGA

[0473]

[0474] 서열식별번호: 5

[0475] 번역 개시 코돈에서부터 번역 정지 코돈까지의 DNA 서열 (mVK SP 리더: 밑줄표시한 소문자; VH: 대문자; K에서 A로의 돌연변이를 갖는 IgG1m3: 소문자; (G4S)x4-G (서열식별번호: 11) 링커: 볼드체 대문자; TGFβRII: 볼드체 밑줄표시한 소문자; 2개의 정지 코돈: 볼드체 밑줄표시한 대문자)

atggaaacagacaccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgcccggctccacaggcGAGGTGCAGCTGCTGGAAT
CCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCTCCG
GCTTCACCTTCTCCAGCTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCCCCTGGCAAGGGCC
TGGAATGGGTGTCCTCCATCTACCCCTCCGGCGGCATCACCTTCTACGCCGACACCG
TGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAG
ATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCCGGATCAAGCT
GGGCACCGTGACCACCGTGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCCT
CCgctagcaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctggt
caaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtc
ctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccc
agcaacaccaaggtggacaagagagttgagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggg
gggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtg
agccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagt
acaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaaca
aagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg
ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatg
ggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaagctcaccgtggacaaga
gcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtcccc
gggtgct**GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGAGGTGGCAGCGGTGGCGGTGGCTCCGG**
CGGAGGTGGCTCCGGAatccctccccacgtgcagaagtccgtgaacaacgacatgatcgtgaccgacaacaacg
gcgccgtgaagttccctcagctgtgcaagttctgcgacgtgaggttcagcacctgcgacaaccagaagtcctgcatgagcaactgc
agcatcacaagcatctgcgagaagccccaggaggtgtgtgtggccgtgtggaggaagaacgacgaaaacatcaccctcgagacc
gtgtgccatgaccccaagctgccctaccacgacttcatcctggaagacgccgcctcccccaagtgcatcatgaaggagaagaaga
agcccggcgagaccttcttcatgtgcagctgcagcagcgacgagtgcaatgacaacatcatctttagcgaggagtacaacaccag
caaccccgacTGATAA

[0476]

[0477] 서열식별번호: 6

[0478] A31G, D52E, R99Y 돌연변이가 있는, 항-PD-L1(mut)/ TGFβ 트랩의 분비된 람다 경쇄의 폴리펩티드 서열

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSG
VSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTYVFGTGTKVTVLGQPKANPTV
TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAA
SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0479]

[0480] 서열식별번호: 7

[0481] 항-PD-L1(mut)/ TGFβ 트랩의 분비된 중쇄의 폴리펩티드 서열

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYMMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGIT
FYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
SGIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQ
EVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSS
DECNDNIIFSEEYNTSNPD

[0482]

[0483] 서열식별번호: 8

[0484] 인간 TGFβRII 이소형 A 전구체 폴리펩티드 (NCBI RefSeq 수탁 번호: NP_001020018)

MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINND
MIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDE
NITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYN
TSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHC
AIILEDDRSDISSTCANNINHNTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVK
IFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYL
TRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCD
FGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVL
WEMTSRCNAVGEVKDYEPPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQM
VCETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK

[0485]

[0486] 서열식별번호: 9

[0487] 인간 TGFβRII 이소형 B 전구체 폴리펩티드 (NCBI RefSeq 수탁 번호: NP_003233)

MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFS
TCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASP
KCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAIS
VIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNTELLP
IELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHEN
ILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHS
DHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTA
RYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPPFGSKVR
EHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMVCETLTECWDHDPEARLTAQCVAER
FSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK

[0488]

[0489] 서열식별번호: 10

[0490] 인간 TGFβRII 이소형 B 세포외 도메인 폴리펩티드

[0491] IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEV
CVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDE
CNDNIIFSEEYNTSNPD

[0492] 서열식별번호: 11

[0493] $(Gly_4Ser)_4Gly$ 링커

[0494] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG

[0495] 서열식별번호: 12

[0496] 항-PD-L1 항체 MPDL3289A의 분비된 중쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

[0497] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGST
YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVT
VSS

[0498] 서열식별번호: 13

[0499] 항-PD-L1 항체 MPDL3289A의 분비된 경쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

[0500] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKVEIKR

[0501] 서열식별번호: 14

[0502] 항-PD-L1 항체 YW243.55S70의 분비된 중쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

[0503] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGST
YYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDYWGQGTLVT
VSA

[0504] 서열식별번호: 50

[0505] 말단절단된 인간 TGFβRII 이소형 B 세포외 도메인 폴리펩티드

[0506] GAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVC
HDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD

[0507] 서열식별번호: 51

[0508] 말단절단된 인간 TGFβRII 이소형 B 세포외 도메인 폴리펩티드

[0509] VKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD

[0510] 서열식별번호: 52

[0511] 말단절단된 인간 TGFβRII 이소형 B 세포외 도메인 폴리펩티드

[0512] VTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENIT
LETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSN
PD

[0513] 서열식별번호: 53

[0514] 말단절단된 인간 TGFβRII 이소형 B 세포외 도메인 폴리펩티드

[0515] LCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPY
HDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD

[0516] 서열식별번호: 54

[0517] 돌연변이된 인간 TGFβRII 이소형 B 세포외 도메인 폴리펩티드

[0518] VTDNAGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENIT
LETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSN
PD

[0519] 서열식별번호: 55

[0520] 항-PD-L1 항체의 중쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

[0521] QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISNDYWTWIRQHPGKGLEYIGYISYTGSTYYN
PSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGGWLAPFDYWGRGTLVTVSS

[0522] 서열식별번호: 56

[0523] 항-PD-L1 항체의 경쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

[0524] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFYHSNQKHSLAWYQQKPGQPPKLLIYGAST
RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYGYPYTFGGGTKVEIK

[0525] 서열식별번호: 57

[0526] 항-PD-L1 항체의 중쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

[0527] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGRIGPNSG
FTSYNEKFKNRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGSSYDYFDYWGQGTT
VTVSS

[0528] 서열식별번호: 58

[0529] 항-PD-L1 항체의 경쇄 가변 영역의 폴리펩티드 서열

[0530] DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSFEDPLTFGQGTKLEIK

[0531] 서열식별번호: 59

[0532] 항-PD-L1 항체의 중쇄의 폴리펩티드 서열

[0533] QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISNDYWTWIRQHPGKGLEYIGYISYTGSTYYN
PSLKSRVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGGWLAPFDYWGRGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW
QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

[0534] 서열식별번호: 60

[0535] 항-PD-L1 항체의 경쇄의 폴리펩티드 서열

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFYHSNQKHSLAWYQQKPGQPPKLLIYGAST
RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYGYPYTFGGGTKVEIKRTVAA
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0536]

[0537] 서열식별번호: 61

[0538] 항-PD-L1 항체의 중쇄의 폴리펩티드 서열

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGRIGPNSG
FTSYNEKFKNRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGGSSYDYFDYWGQGTT
VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAA
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGA

[0539]

[0540] 서열식별번호: 62

[0541] 항-PD-L1 항체의 경쇄의 폴리펩티드 서열

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSFEDPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0542]

[0543] 참조로 포함

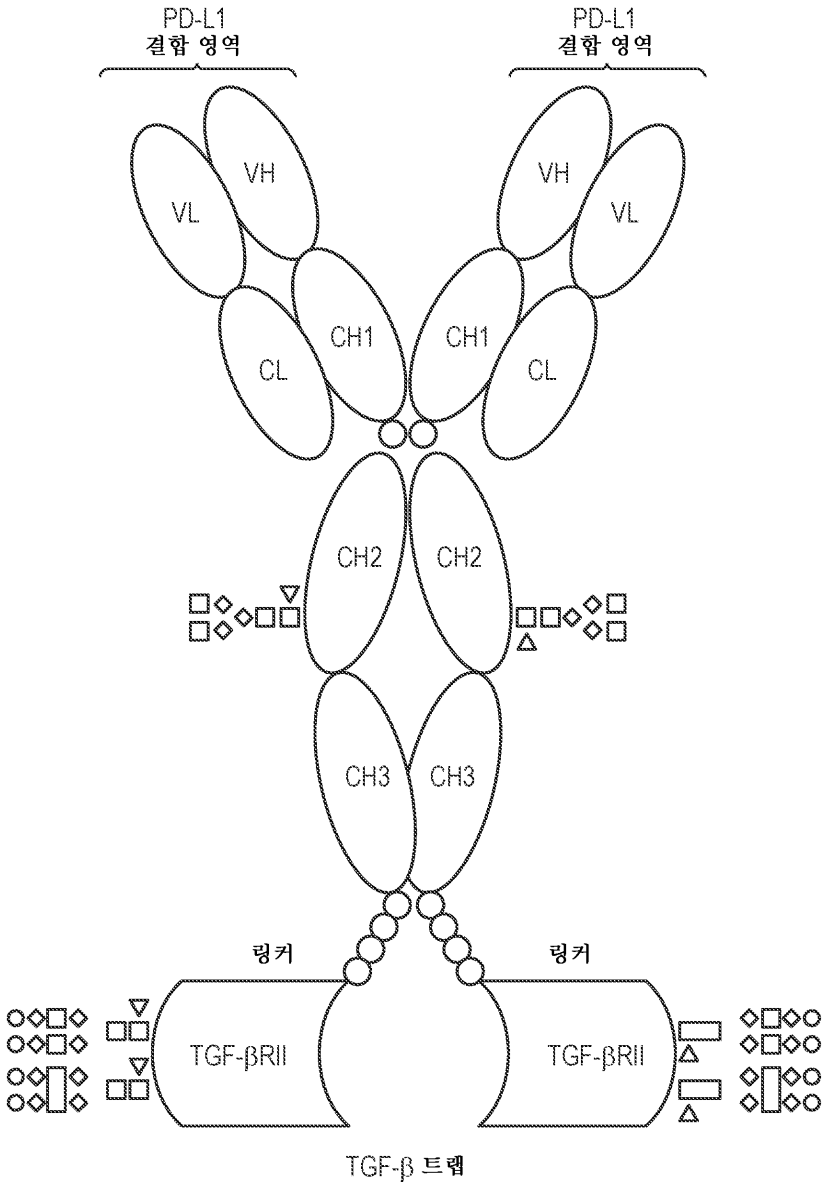
[0544] 본원에 언급된 각 특허 문헌 및 과학 논문의 전체 개시내용이 모든 목적을 위해 참고로 포함된다.

[0545] 등가물

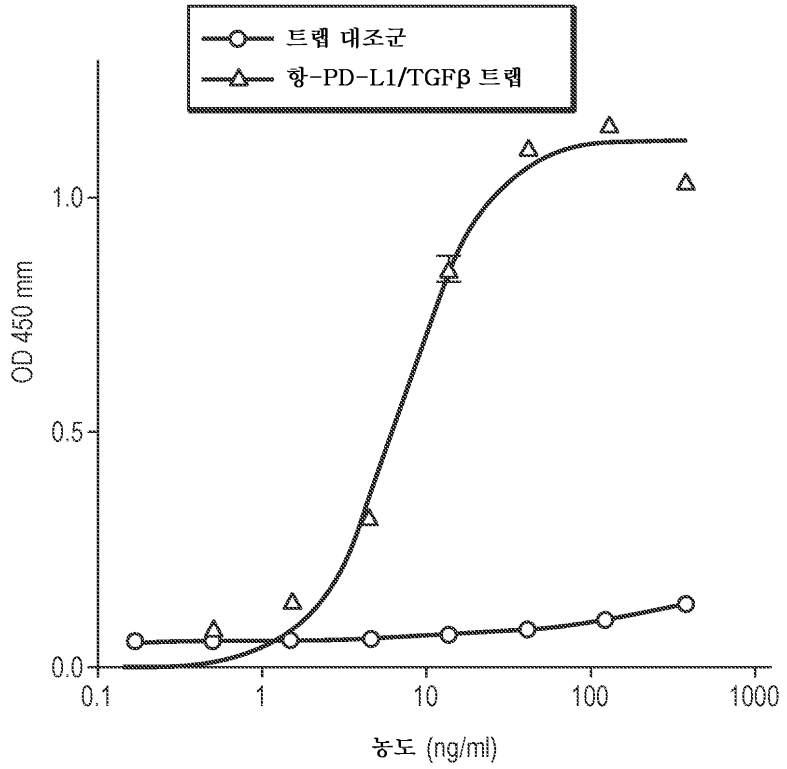
[0546] 본 개시내용은 그의 취지 또는 본질적인 특징으로부터 벗어나지 않으면서 다른 구체적 형태로 구현될 수 있다. 따라서 상기 실시양태는 모든 측면에서 본원에 기재된 본 개시내용을 제한하기보다는 예시하는 것으로 간주되어야 한다. 상이한 실시양태의 다양한 구조적 요소 및 다양한 개시된 방법 단계가 다양한 조합 및 순열로 활용될 수 있고, 모든 이러한 변형예는 본 개시내용의 형태로 간주되어야 한다. 따라서, 본 개시내용의 범주는 상기 상세한 설명보다는 첨부된 청구범위에 의해 나타내어지고, 청구범위의 의미 및 등가물의 범위 내에 속하는 모든 변화는 본원에 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

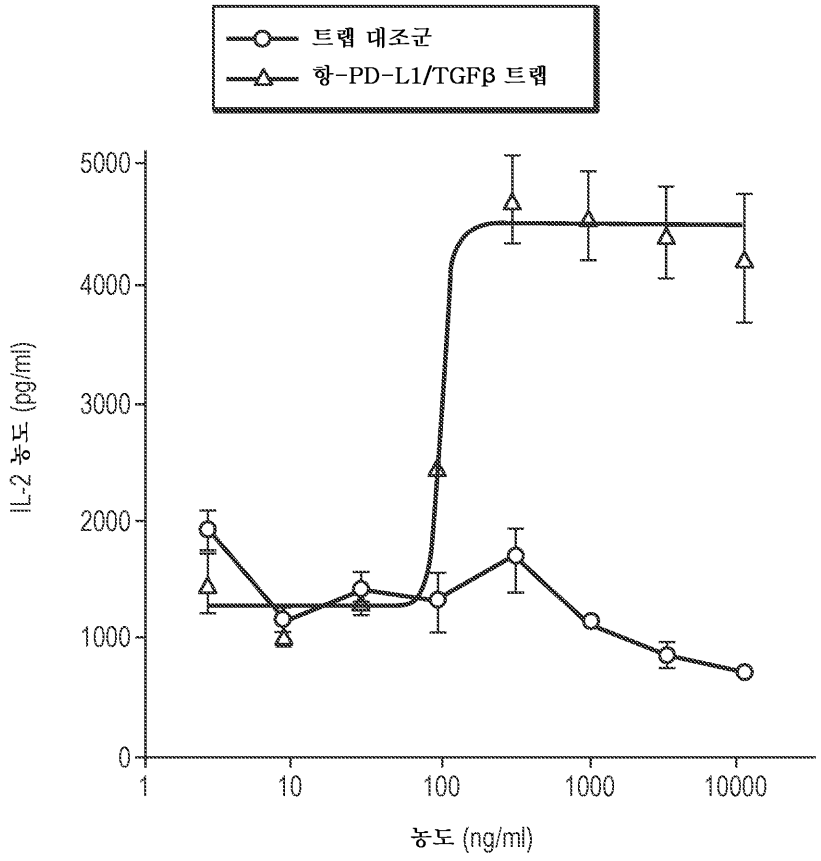
도면1


PD-L1
결합 영역
PD-L1
결합 영역
VH
VL
CH1
CL
VH
VL
CH1
CL
CH2
CH2
CH3
CH3
링커
링커
TGF-βRII
TGF-βRII
TGF-β 트랩

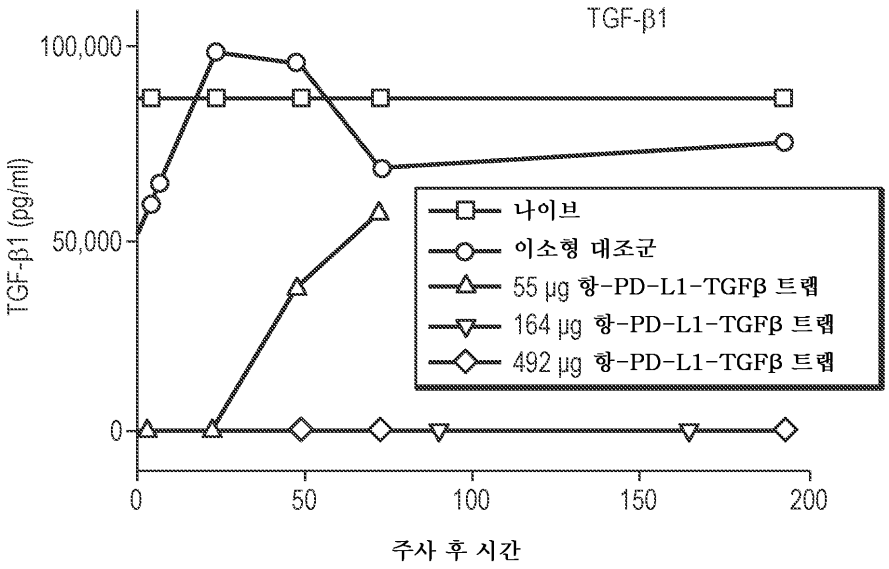
도면2


트렙 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트렙
OD 450 mm
1.0
0.5
0.0
0.1
1
10
100
1000
농도 (ng/ml)

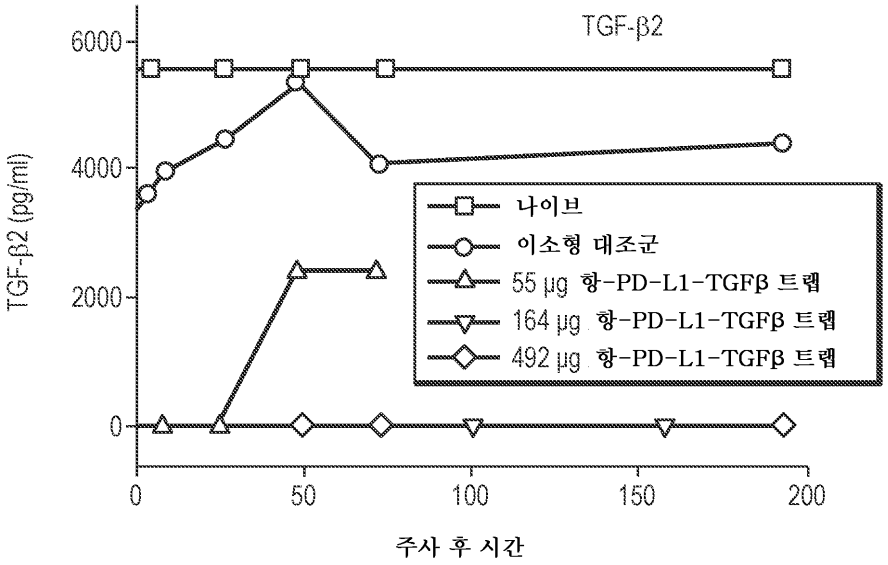
도면3


트렙 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트렙
IL-2 농도 (pg/ml)
5000
4000
3000
2000
1000
0
1
10
100
1000
10000
농도 (ng/ml)

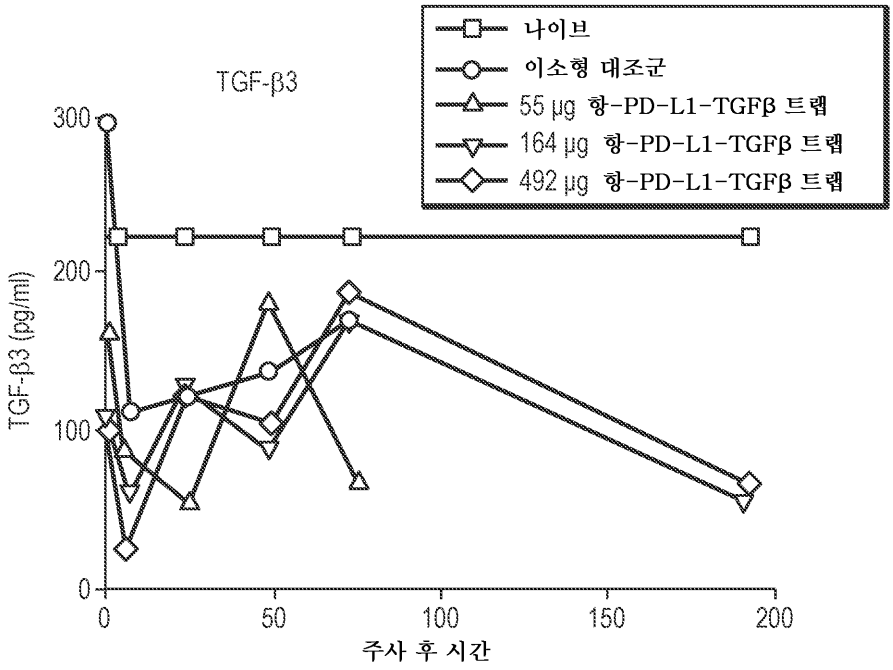
도면4a


TGF-β1
100,000
50,000
0
TGF-β1 (pg/ml)
0
50
100
150
200
주사 후 시간
나이브
이소형 대조군
55 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩
164 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩
492 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩

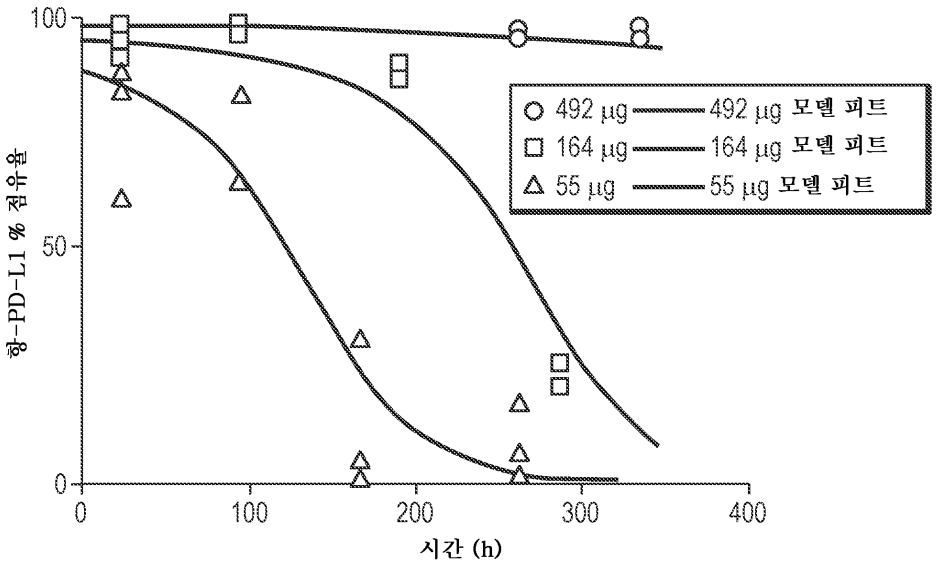
도면4b


TGF-β2
6000
4000
2000
0
TGF-β2 (pg/ml)
0
50
100
150
200
주사 후 시간
나이브
이소형 대조군
55 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩
164 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩
492 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩

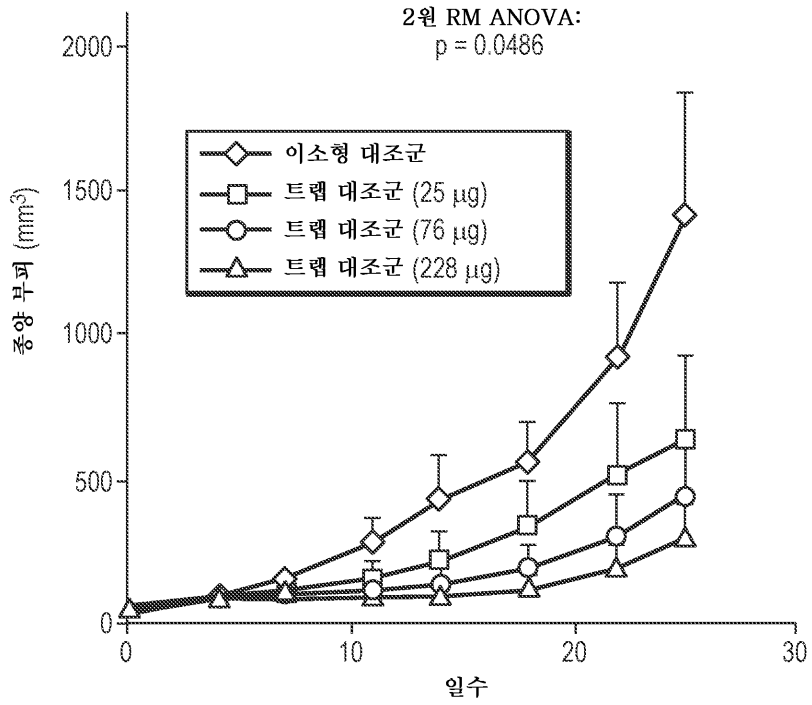
도면4c


TGF-β3
나이브
이소형 대조군
55 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩
164 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩
492 μg 항-PD-L1-TGFβ 트랩
TGF-β3 (pg/ml)
300
200
100
0
0
50
100
150
200
주사 후 시간

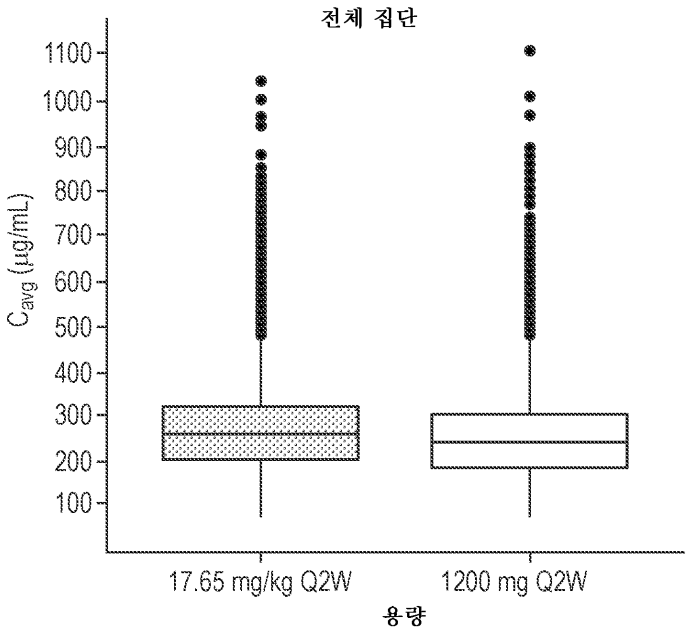
도면4d


492 μg
492 μg 모델 피트
164 μg
164 μg 모델 피트
55 μg
55 μg 모델 피트
항-PD-L1 % 점유율
100
50
0
0
100
200
300
400
시간 (h)

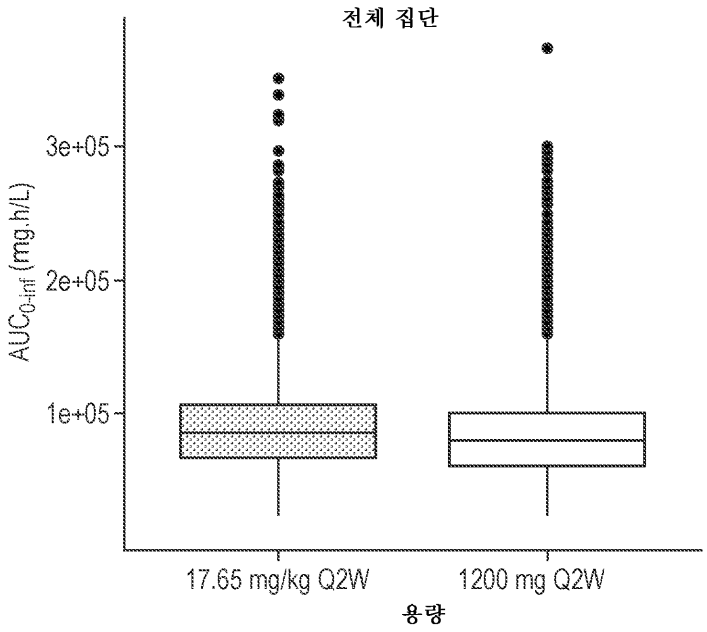
도면5


2원 RM ANOVA:
p = 0.0486
이소형 대조군
트렙 대조군 (25 μg)
트렙 대조군 (76 μg)
트렙 대조군 (228 μg)
종양 부피 (mm3)
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
일수

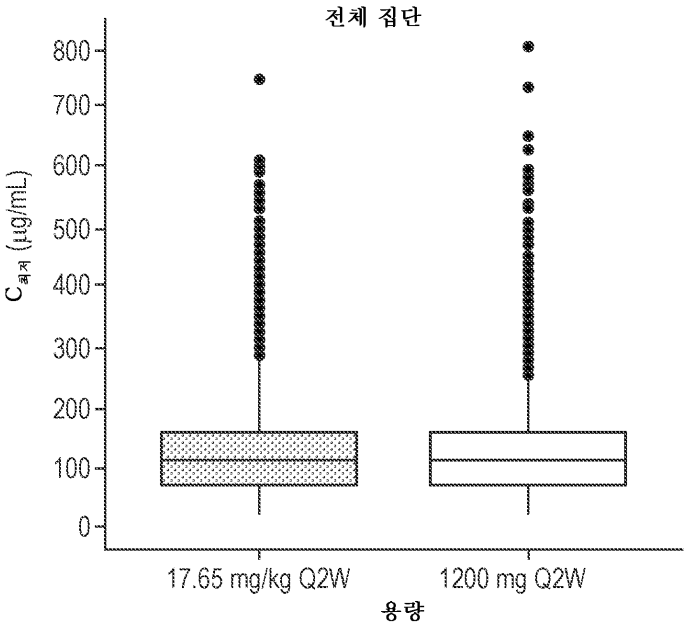
도면6a


전체 집단
Cavg (μg/mL)
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
17.65 mg/kg Q2W
1200 mg Q2W
용량

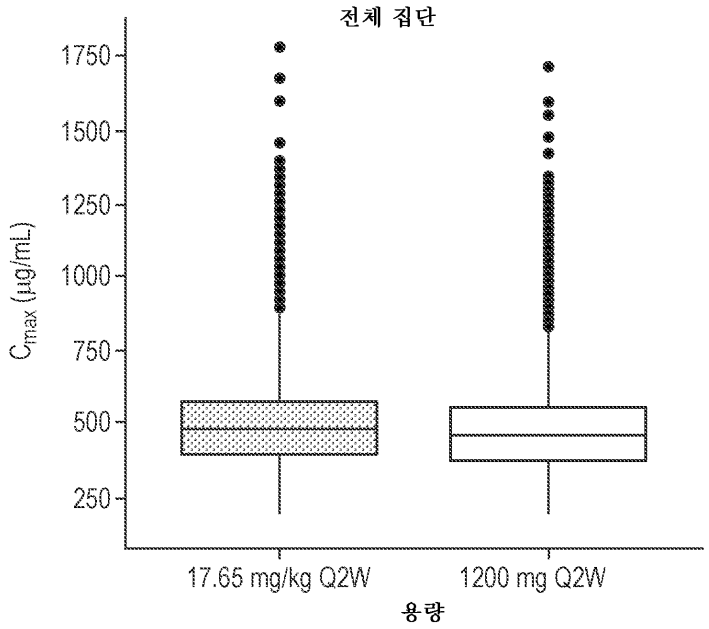
도면6b


전체 집단
3e+05
2e+05
1e+05
AUC0-inf (mg.h/L)
17.65 mg/kg Q2W
1200 mg Q2W
용량

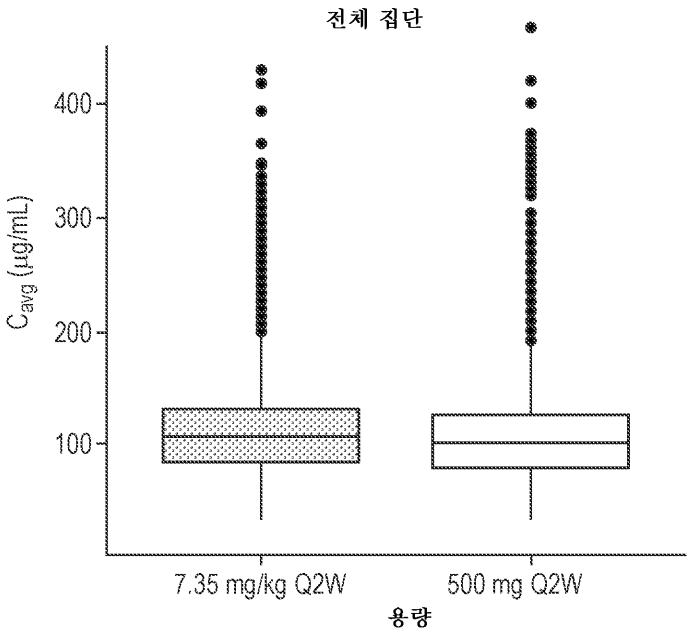
도면6c


전체 집단
800
700
600
500
400
300
200
100
0
Cmax (μg/mL)
17.65 mg/kg Q2W
1200 mg Q2W
용량

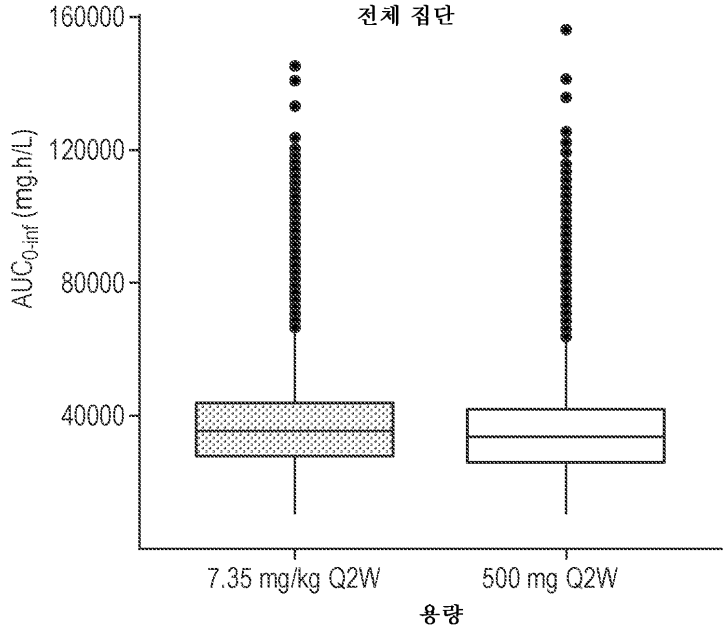
도면6d


전체 집단
1750
1500
1250
1000
750
500
250
C_{max} (μg/mL)
17.65 mg/kg Q2W
1200 mg Q2W
용량

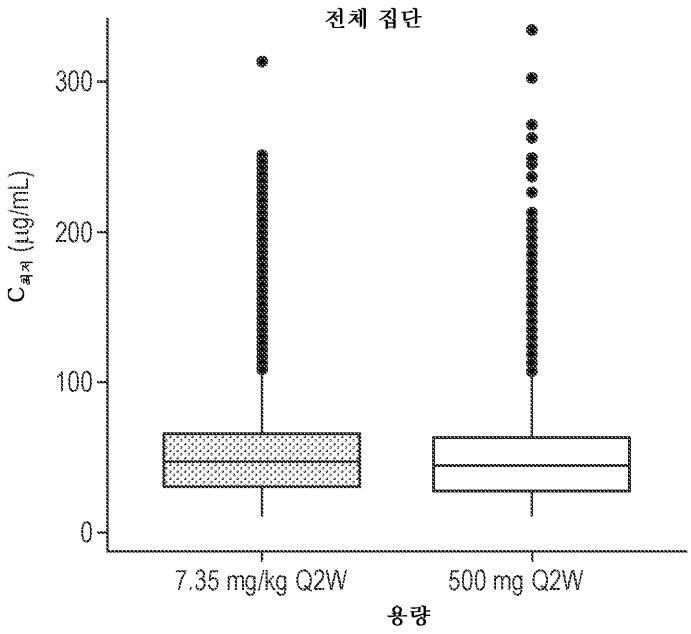
도면6e


전체 집단
400
300
200
100
C_{avg} (μg/mL)
7.35 mg/kg Q2W
500 mg Q2W
용량

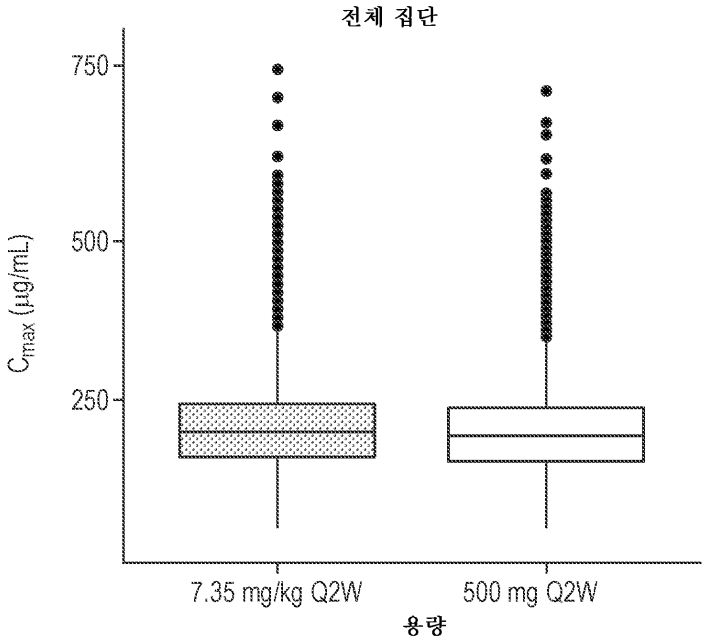
도면6f


전체 집단
160000
120000
80000
40000
AUC0-inf (mg.h/L)
7.35 mg/kg Q2W
500 mg Q2W
용량

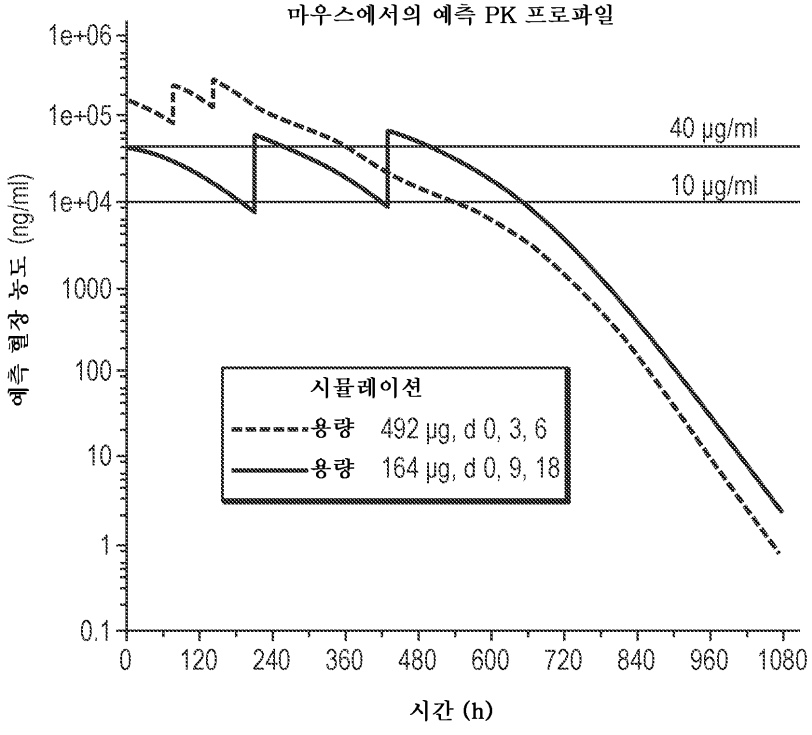
도면6g


전체 집단
300
200
100
0
C최저 (μg/mL)
7.35 mg/kg Q2W
500 mg Q2W
용량

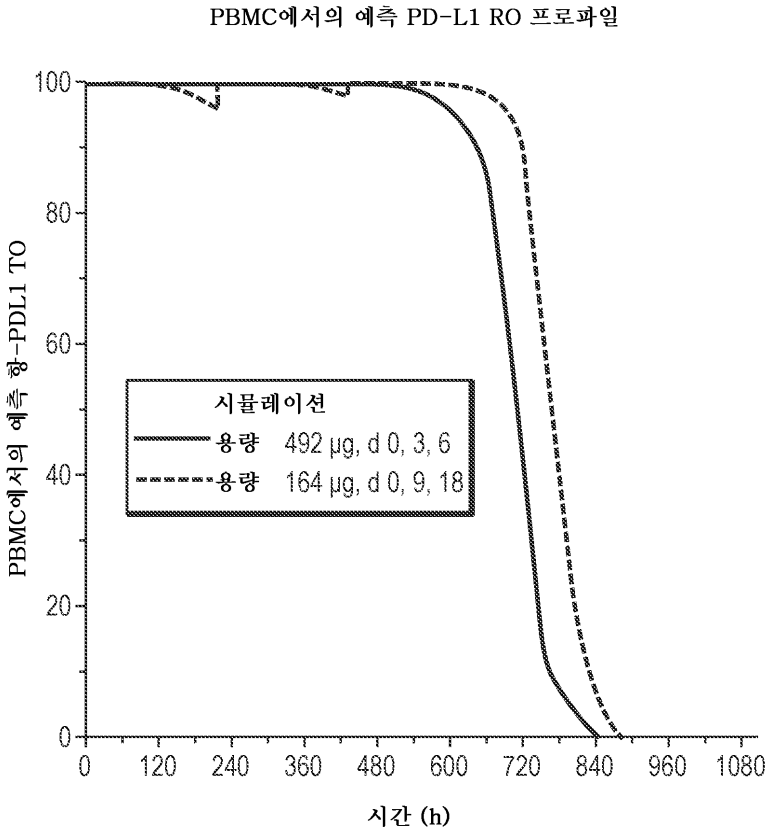
도면6h


전체 집단
750
500
250
C_{max} (μg/mL)
7.35 mg/kg Q2W
500 mg Q2W
용량

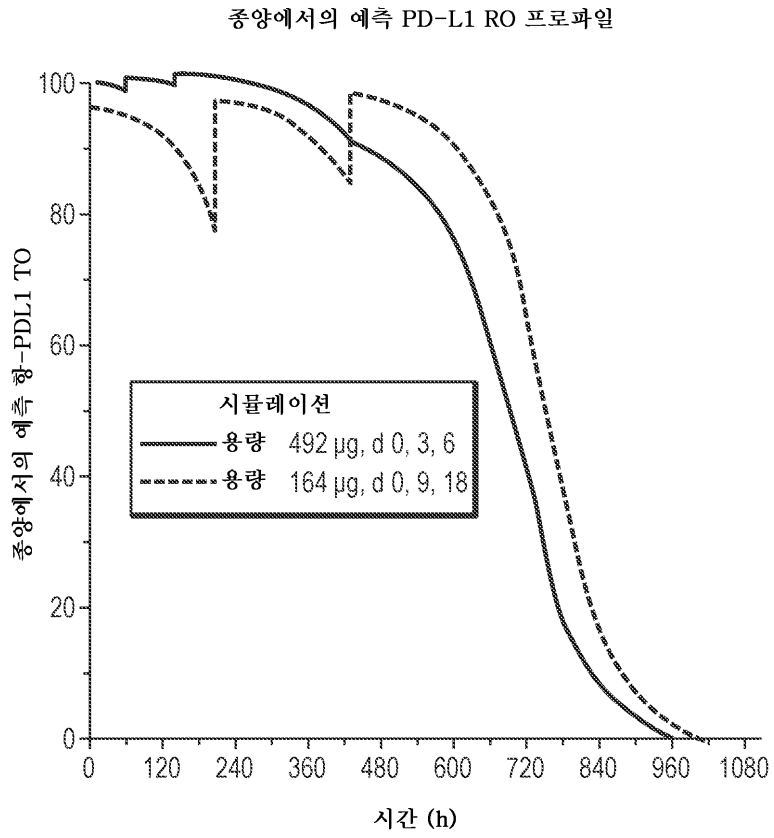
도면7a


마우스에서의 예측 PK 프로파일
1e+06
1e+05
1e+04
1000
100
10
1
0.1
예측 혈장 농도 (ng/ml)
40 μg/ml
10 μg/ml
시뮬레이션
용량 492 μg, d 0, 3, 6
용량 164 μg, d 0, 9, 18
0
120
240
360
480
600
720
840
960
1080
시간 (h)

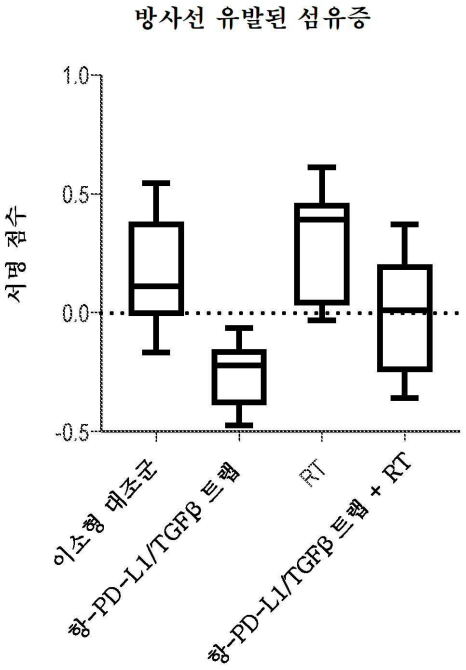
도면7b


PBMC에서의 예측 PD-L1 RO 프로파일
PBMC에서의 예측 항-PDL1 TO
100
80
60
40
20
0
0
120
240
360
480
600
720
840
960
1080
시간 (h)
시뮬레이션
용량 492 μg, d 0, 3, 6
용량 164 μg, d 0, 9, 18

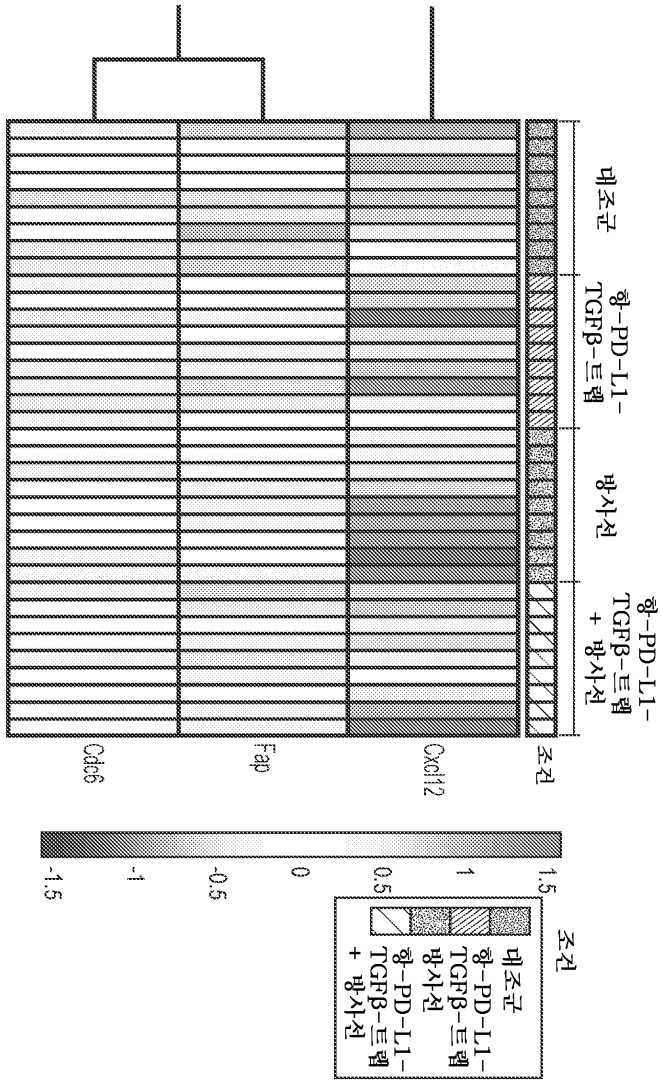
도면7c


종양에서의 예측 PD-L1 RO 프로파일
종양에서의 예측 항-PDL1 TO
100
80
60
40
20
0
0
120
240
360
480
600
720
840
960
1080
시간 (h)
시뮬레이션
용량 492 μg, d 0, 3, 6
용량 164 μg, d 0, 9, 18

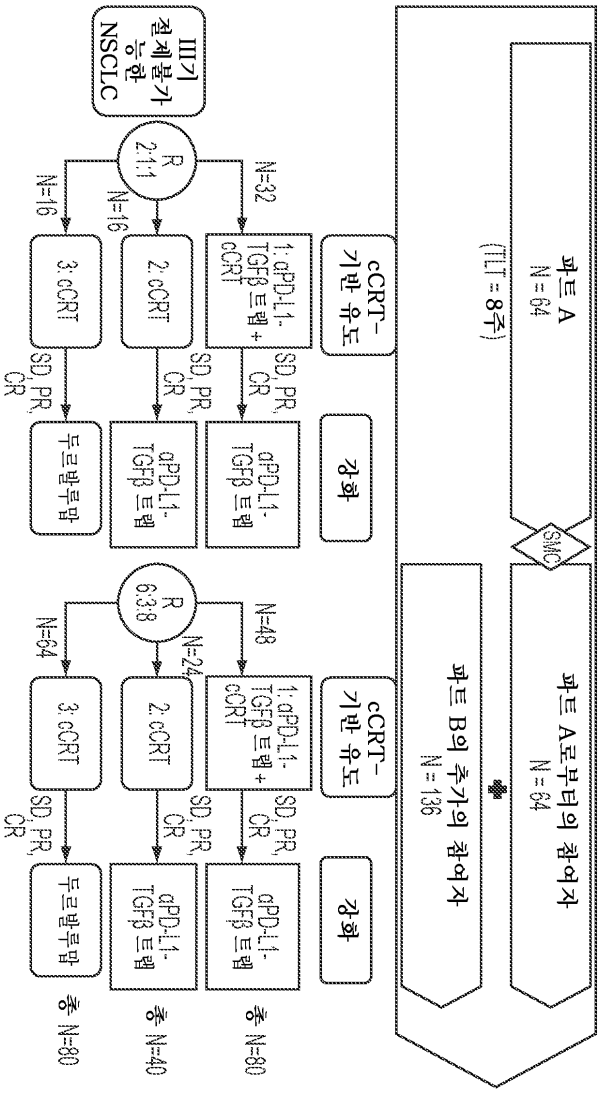
도면8


방사선 유발된 섬유증
서명 점수
1.0
0.5
0.0
-0.5
이소형 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩
RT
항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT

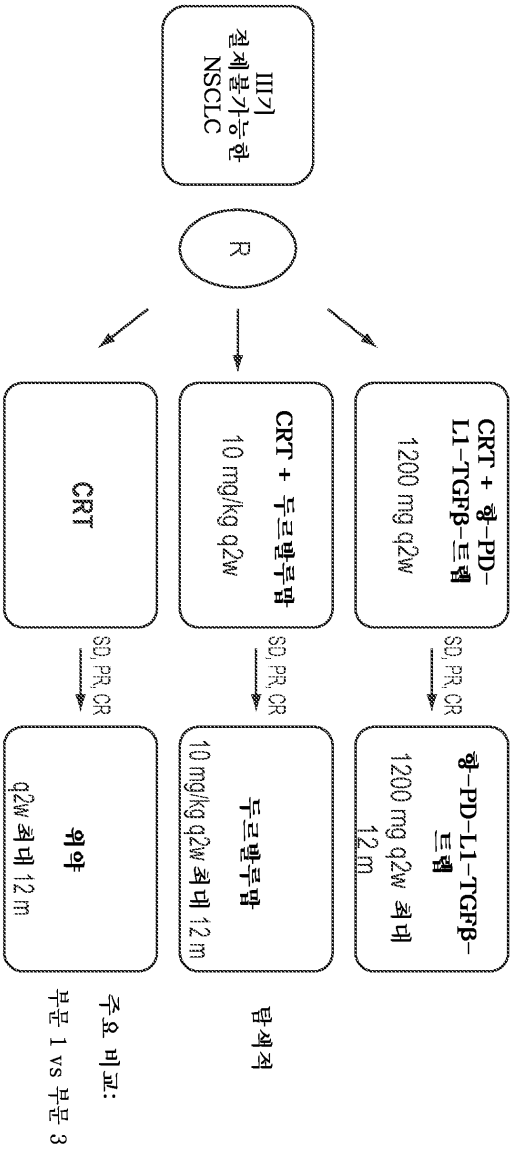
도면9


대조군
항-PD-L1-TGFβ-트랩
방사선
항-PD-L1-TGFβ-트랩 + 방사선
조건
Cxcl12
Fap
Cdc6
1.5
1
0.5
0
-0.5
-1
-1.5
조건
대조군
항-PD-L1-TGFβ-트랩
방사선
항-PD-L1-TGFβ-트랩 + 방사선

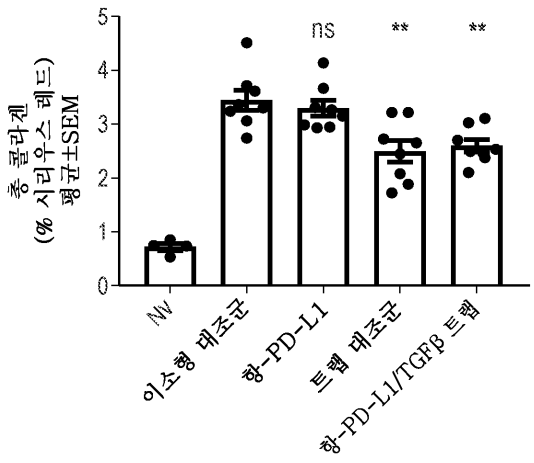
도면10


파트 A
N = 64
(TLI = 8주)
SMC
파트 A로부터의 참여자
N = 64
파트 B의 추가의 참여자
N = 136
III기
절제불가능한
NSCLC
R
2:1:1
N=16
N=16
N=32
3: cCRT
2: cCRT
1: aPD-L1-TGFβ 트랩+ cCRT
SD, PR, CR
SD, PR, CR
SD, PR, CR
두르발루맙
aPD-L1-TGFβ 트랩
aPD-L1-TGFβ 트랩
cCRT-기반 유도
강화
R
6:3:8
N=64
N=24
N=48
3: cCRT
2: cCRT
1: aPD-L1-TGFβ 트랩+ cCRT
SD, PR, CR
SD, PR, CR
SD, PR, CR
두르발루맙
aPD-L1-TGFβ 트랩
aPD-L1-TGFβ 트랩
cCRT-기반 유도
강화
총 N=80
총 N=40
총 N=80

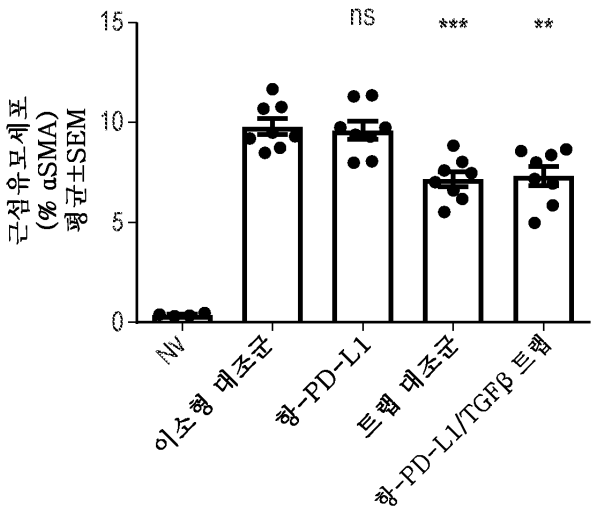
도면11


III기
절제불가능한
NSCLC
R
CRT
CRT + 두르발루맙
10 mg/kg q2w
CRT + 항-PD-L1-TGFβ-트랩
1200 mg q2w
SD, PR, CR
위약
q2w 최대 12 m
두르발루맙
10 mg/kg q2w 최대 12 m
항-PD-L1-TGFβ-트랩
1200 mg q2w 최대 12 m
탐색적
주요 비교:
부문 1 vs 부문 3

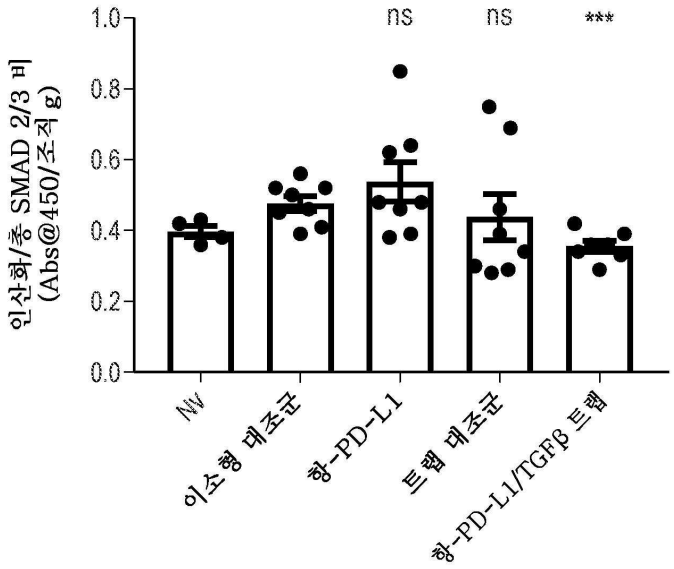
도면12a


종양 내 골수유래 억제 세포 (%)
평균±SEM
ns
**
**
NV
이소형 대조군
항-PD-L1
트랩 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩

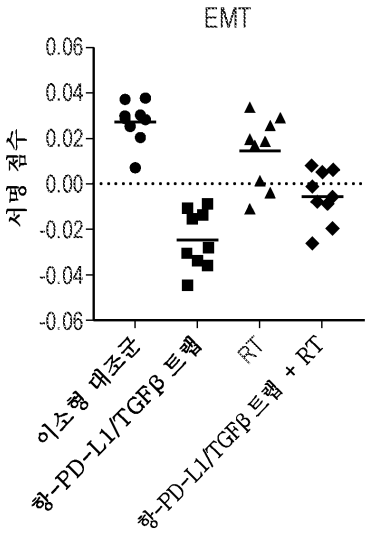
도면12b


근섬유모세포
(% αSMA)
평균±SEM
15
10
5
0
ns
***
**
Nv
이소형 대조군
항-PD-L1
트랩 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩

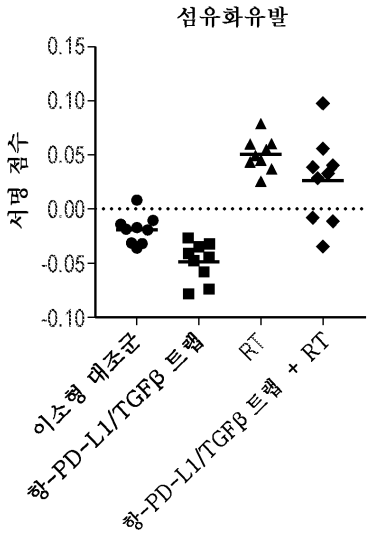
도면12c


인산화/총 SMAD 2/3 비
(Abs@450/조직 g)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
ns
ns
***
Nv
이소형 대조군
항-PD-L1
트랩 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩

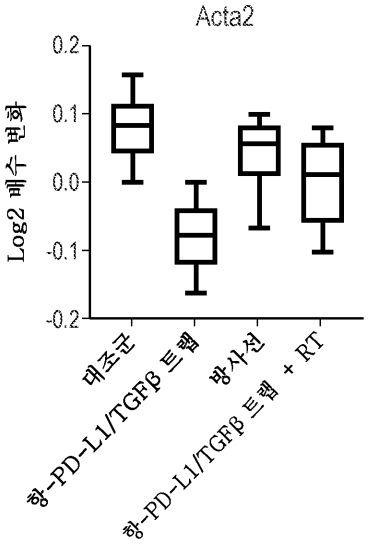
도면13a


EMT
서명 점수
0.06
0.04
0.02
0.00
-0.02
-0.04
-0.06
이소형 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩
RT
항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT

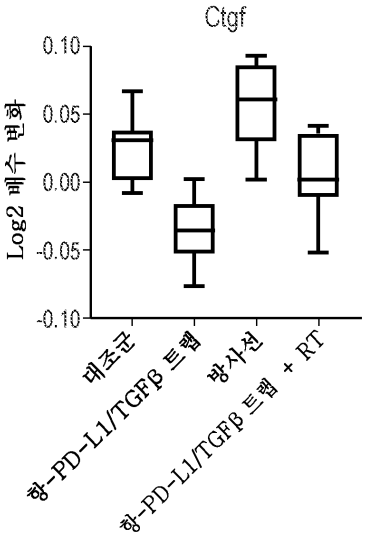
도면13b


섬유화유발
서명 점수
0.15
0.10
0.05
0.00
-0.05
-0.10
이소형 대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩
RT
항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT

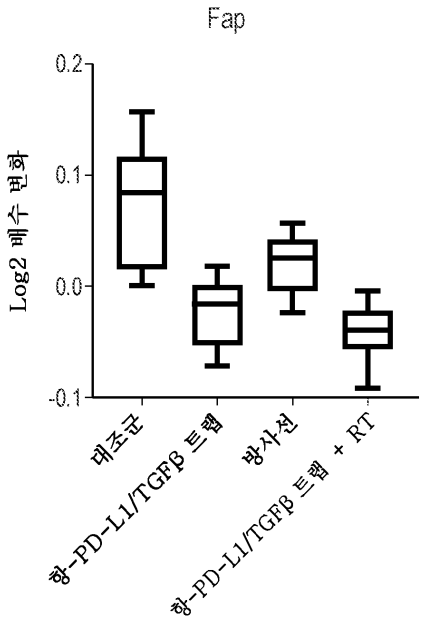
도면14a


Acta2
Log2 배수 변화
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2
대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩
방사선
항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT

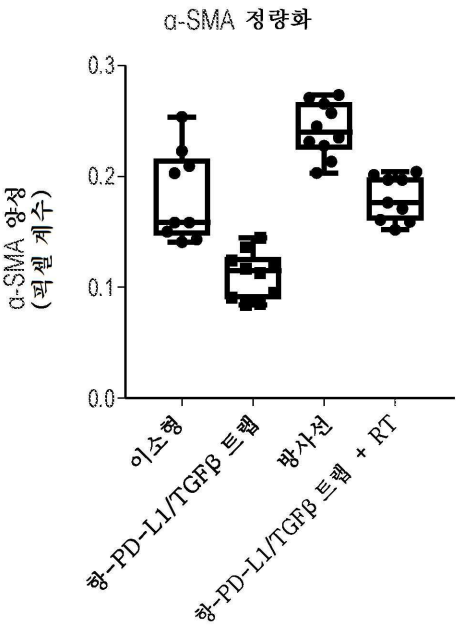
도면14b


Ctgf
Log2 배수 변화
0.10
0.05
0.00
-0.05
-0.10
대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩
방사선
항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT

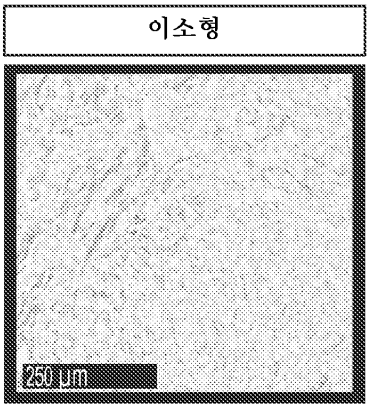
도면14c


Fap
Log2 배수 변화
0.2
0.1
0.0
-0.1
대조군
항-PD-L1/TGFβ 트랩
방사선
항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT

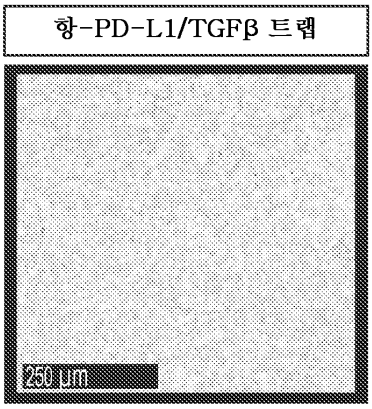
도면15


α-SMA 정량화
α-SMA 양성
(픽셀 계수)
0.3
0.2
0.1
0.0
이소형
항-PD-L1/TGFβ 트랩
방사선
항-PD-L1/TGFβ 트랩 + RT

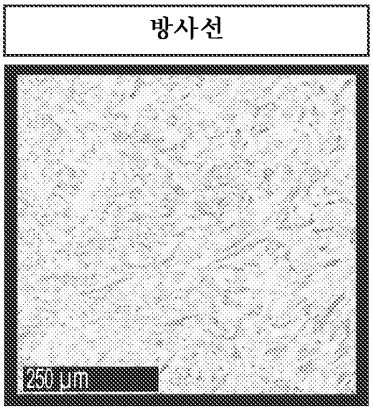
도면16a



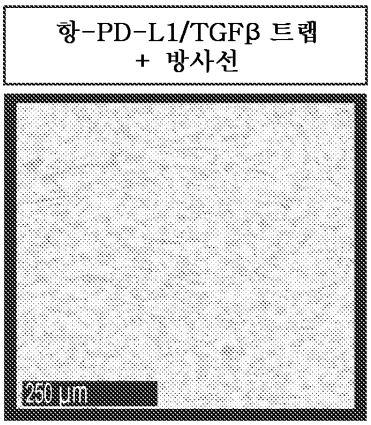
도면16b



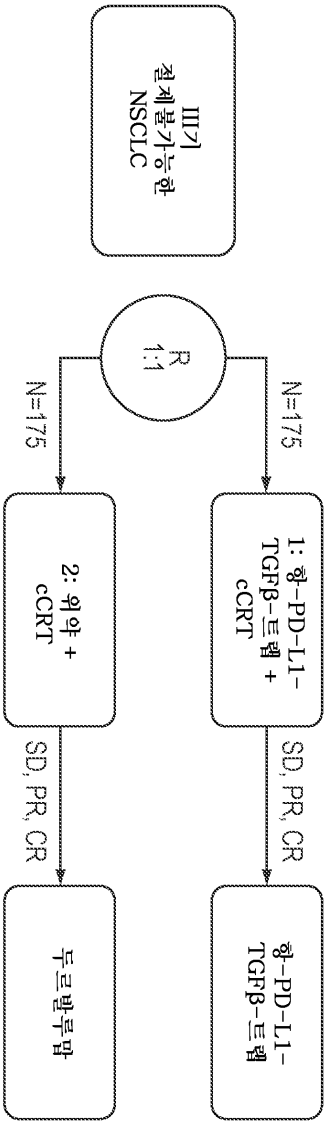
도면16c



도면16d



도면17



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> MERCK PATENT GMBH

<120> TREATMENT OF STAGE III NSCLC AND MITIGATION OF PATHOLOGICAL CONDITIONS ASSOCIATED WITH THE TREATMENT

<130> EMD-010WO

<150> 62/684,385

<151> 2018-06-13

<150> 62/800,808

<151> 2019-02-04

<150> 62/855,170

<151> 2019-05-31

<160> 62

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 2

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 3
<211> 607
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 3
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val
465 470 475 480

Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro
485 490 495

Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln
500 505 510

Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro
515 520 525

Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr
530 535 540

Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile
545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

<210> 4

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 4

atgagggccc tgctggctag actgctgctg tgcgtgctgg tcgtgtccga cagcaagggc 60

cagtccgccc tgacccagcc tgcctccgtg tctggctccc ctggccagtc catcaccatc 120

agctgcaccg gcacctccag cgacgtgggc ggctacaact acgtgtcctg gtatcagcag 180

caccccggca aggcccccaa gctgatgatc tacgacgtgt ccaaccggcc ctccggcgtg 240

tccaacagat tctccggctc caagtccggc aacaccgcct ccctgaccat cagcggactg 300

caggcagagg acgaggccga ctactactgc tcctcctaca cctcctccag caccagagtg 360

ttcggcaccg gcacaaaagt gaccgtgctg ggccagccca aggccaaccc aaccgtgaca 420

ctgttccccc catcctccga ggaactgcag gccaacaagg ccaccctggt ctgcctgatc 480

tcagatttct atccaggcgc cgtgaccgtg gcctggaagg ctgatggctc cccagtgaag 540

gccggcgtgg aaaccaccaa gccctccaag cagtccaaca acaaatacgc cgcctcctcc 600

tacctgtccc tgaccccga gcagtggaag tcccaccggt cctacagctg ccaggtcaca 660

cacgagggct ccaccgtgga aaagaccgtc gcccccaccg agtgctcatg a 711

<210> 5

<211> 1887

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 5

atggaaacag acaccctgct gctgtgggtg ctgctgctgt gggtgcccgg ctccacaggc 60

gaggtgcagc tgctggaatc cggcggagga ctggtgcagc ctggcggctc cctgagactg 120

tcttgcgccg cctccggctt caccttctcc agctacatca tgatgtgggt gcgacaggcc 180

cctggcaagg gcctggaatg ggtgtcctcc atctacccct ccggcggcat caccttctac 240

gccgacaccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 300

ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc ccggatcaag 360

ctgggcaccg tgaccaccgt ggactactgg ggccagggca ccctggtgac agtgtcctcc 420

gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 480

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 540

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 600

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 780

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 840

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 960

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1380

cagaagagcc tctccctgtc cccgggtgct ggcggcggag gaagcggagg aggtggcagc 1440

ggtggcggtg gctccggcgg aggtggctcc ggaatccctc cccacgtgca gaagtccgtg 1500

aacaacgaca tgatcgtgac cgacaacaac ggcgccgtga agttccctca gctgtgcaag 1560

ttctgcgacg tgaggttcag cacctgcgac aaccagaagt cctgcatgag caactgcagc 1620

atcacaagca tctgcgagaa gccccaggag gtgtgtgtgg ccgtgtggag gaagaacgac 1680

gaaaacatca ccctcgagac cgtgtgccat gaccccaagc tgccctacca cgacttcatc 1740

ctggaagacg ccgcctcccc caagtgcatc atgaaggaga agaagaagcc cggcgagacc 1800

ttcttcatgt gcagctgcag cagcgacgag tgcaatgaca acatcatctt tagcgaggag 1860

tacaacacca gcaaccccga ctgataa 1887

<210> 6

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 6

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 7

<211> 607

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

<210> 8

<211> 592

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

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

1 5 10 15

Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Asp

20 25 30

Val Glu Met Glu Ala Gln Lys Asp Glu Ile Ile Cys Pro Ser Cys Asn

35 40 45

Arg Thr Ala His Pro Leu Arg His Ile Asn Asn Asp Met Ile Val Thr

50 55 60

Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val Ala Val

100 105 110

Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His Asp

115 120 125

Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro

130 135 140

Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Lys Gln Asn Thr Ser Glu Gln Phe Glu Thr Val Ala Val Lys Ile Phe
290 295 300
Pro Tyr Glu Glu Tyr Ala Ser Trp Lys Thr Glu Lys Asp Ile Phe Ser
305 310 315 320
Asp Ile Asn Leu Lys His Glu Asn Ile Leu Gln Phe Leu Thr Ala Glu
325 330 335
Glu Arg Lys Thr Glu Leu Gly Lys Gln Tyr Trp Leu Ile Thr Ala Phe
340 345 350

His Ala Lys Gly Asn Leu Gln Glu Tyr Leu Thr Arg His Val Ile Ser
355 360 365
Trp Glu Asp Leu Arg Lys Leu Gly Ser Ser Leu Ala Arg Gly Ile Ala
370 375 380
His Leu His Ser Asp His Thr Pro Cys Gly Arg Pro Lys Met Pro Ile
385 390 395 400
Val His Arg Asp Leu Lys Ser Ser Asn Ile Leu Val Lys Asn Asp Leu
405 410 415

Thr Cys Cys Leu Cys Asp Phe Gly Leu Ser Leu Arg Leu Asp Pro Thr
420 425 430
Leu Ser Val Asp Asp Leu Ala Asn Ser Gly Gln Val Gly Thr Ala Arg
435 440 445
Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Glu Ser Arg Met Asn Leu Glu Asn Val
450 455 460
Glu Ser Phe Lys Gln Thr Asp Val Tyr Ser Met Ala Leu Val Leu Trp
465 470 475 480

Glu Met Thr Ser Arg Cys Asn Ala Val Gly Glu Val Lys Asp Tyr Glu
485 490 495
Pro Pro Phe Gly Ser Lys Val Arg Glu His Pro Cys Val Glu Ser Met
500 505 510
Lys Asp Asn Val Leu Arg Asp Arg Gly Arg Pro Glu Ile Pro Ser Phe
515 520 525
Trp Leu Asn His Gln Gly Ile Gln Met Val Cys Glu Thr Leu Thr Glu

530 535 540

Cys Trp Asp His Asp Pro Glu Ala Arg Leu Thr Ala Gln Cys Val Ala
545 550 555 560
Glu Arg Phe Ser Glu Leu Glu His Leu Asp Arg Leu Ser Gly Arg Ser
565 570 575
Cys Ser Glu Glu Lys Ile Pro Glu Asp Gly Ser Leu Asn Thr Thr Lys
580 585 590

<210> 9
<211> 567
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 9

Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu
1 5 10 15
Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val
20 25 30
Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro
35 40 45
Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln
50 55 60
Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro
65 70 75 80
Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr
85 90 95
Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile
100 105 110
Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys
115 120 125
Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn

130 135 140
Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Val Ala Ile Ser Val Ile Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val Asn

180 185 190

Arg Gln Gln Lys Leu Ser Ser Thr Trp Glu Thr Gly Lys Thr Arg Lys

195 200 205

Leu Met Glu Phe Ser Glu His Cys Ala Ile Ile Leu Glu Asp Asp Arg

210 215 220

Ser Asp Ile Ser Ser Thr Cys Ala Asn Asn Ile Asn His Asn Thr Glu

225 230 235 240

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

245 250 255

Glu Val Tyr Lys Ala Lys Leu Lys Gln Asn Thr Ser Glu Gln Phe Glu

260 265 270

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

275 280 285

Thr Glu Lys Asp Ile Phe Ser Asp Ile Asn Leu Lys His Glu Asn Ile

290 295 300

Leu Gln Phe Leu Thr Ala Glu Glu Arg Lys Thr Glu Leu Gly Lys Gln

305 310 315 320

Tyr Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Ala Lys Gly Asn Leu Gln Glu Tyr

325 330 335

Leu Thr Arg His Val Ile Ser Trp Glu Asp Leu Arg Lys Leu Gly Ser

340 345 350

Ser Leu Ala Arg Gly Ile Ala His Leu His Ser Asp His Thr Pro Cys

355 360 365

Gly Arg Pro Lys Met Pro Ile Val His Arg Asp Leu Lys Ser Ser Asn

370 375 380

Ile Leu Val Lys Asn Asp Leu Thr Cys Cys Leu Cys Asp Phe Gly Leu

385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Asp Pro Thr Leu Ser Val Asp Asp Leu Ala Asn Ser
405 410 415
Gly Gln Val Gly Thr Ala Arg Tyr Met Ala Pro Glu Val Leu Glu Ser
420 425 430
Arg Met Asn Leu Glu Asn Val Glu Ser Phe Lys Gln Thr Asp Val Tyr
435 440 445
Ser Met Ala Leu Val Leu Trp Glu Met Thr Ser Arg Cys Asn Ala Val

450 455 460
Gly Glu Val Lys Asp Tyr Glu Pro Pro Phe Gly Ser Lys Val Arg Glu
465 470 475 480
His Pro Cys Val Glu Ser Met Lys Asp Asn Val Leu Arg Asp Arg Gly
485 490 495
Arg Pro Glu Ile Pro Ser Phe Trp Leu Asn His Gln Gly Ile Gln Met
500 505 510
Val Cys Glu Thr Leu Thr Glu Cys Trp Asp His Asp Pro Glu Ala Arg

515 520 525
Leu Thr Ala Gln Cys Val Ala Glu Arg Phe Ser Glu Leu Glu His Leu
530 535 540
Asp Arg Leu Ser Gly Arg Ser Cys Ser Glu Glu Lys Ile Pro Glu Asp
545 550 555 560
Gly Ser Leu Asn Thr Thr Lys
565

<210> 10
<211> 136
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 10
Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn Asp Met Ile Val Thr

1 5 10 15
Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp
20 25 30
Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys

35 40 45

Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val Ala Val

50 55 60

Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His Asp

65 70 75 80

Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro

85 90 95

Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met

100 105 110

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

115 120 125

Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp

130 135

<210> 11

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 11

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 12

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 13

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 14

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 14

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

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

<210> 15

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 15

Gln Phe Asn Ser
1

<210> 16

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 16

Gln Ala Gln Ser

1

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 17

Pro Lys Ser Cys Asp Lys

1 5

<210> 18

<211

> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

Pro Lys Ser Ser Asp Lys

1 5

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 19

Leu Ser Leu Ser

1

<210> 20

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

Ala Thr Ala Thr

1

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

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

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

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

<400> 21

Xaa Tyr Xaa Met Xaa

1 5

<210> 22

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Phe or Ile

<220><221> MOD_RES

<222> (14)..(14)

<223> Ser or Thr

<400> 22

Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Xaa Thr Phe Tyr Ala Asp Xaa Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Glu or Asp

<400> 23

Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Xaa Tyr
1 5 10

<210> 24

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 24

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
20 25 30

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 25

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

1 5 10

<210> 26

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

<210> 27

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 27

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221

> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Asn or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Thr, Arg or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Ala or Gly

<400> 28

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

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Glu or Asp

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Ile, Asn or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Asp, His or Asn

<400> 29

Xaa Val Xaa Xaa Arg Pro Ser

1 5

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Phe or Tyr

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Asn or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Arg, Thr or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Gly or Ser

<220><221> MOD_RES

<222> (8)..(8)

<223> Ile or Thr

<400> 30

Ser Ser Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Val

1 5 10

<210> 31

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 31

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys

20

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 32

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

1 5 10 15

<210> 33

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 33

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

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 34

Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

1 5 10

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 35

Ser Tyr Ile Met Met

1 5

<210> 36

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 36

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

1 5 10 15

Gly

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 37

Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 38

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

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 39

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 40

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Arg Val

1 5 10

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 41

Met Tyr Met Met Met

1 5

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 42

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

1 5 10 15

Gly

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 43

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

1 5 10

<210> 44

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 45

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 46

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 46

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr
20 25 30

Met Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Val Trp
35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 47

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 47

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 48

<211> 1407

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide from human Fab library

<400> 48

atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgctag ctccagcgag 60

gtgcagctgc tggaatccgg cggaggactg gtgcagcctg gcggctccct gagactgtct 120

tgcgccgcct ccggcttcac cttctccagc tacatcatga tgtgggtgcg acaggccccct 180

ggcaagggcc tggaatgggt gtcctccatc tacccctccg gcggcatcac cttctacgcc 240

gacaccgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 300

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgcccg gatcaagctg 360

ggcaccgtga ccaccgtgga ctactggggc cagggcaccc tggtgacagt gtcctccgcc 420

tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 480

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 540

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 600

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 660

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 720

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 780

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 900

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcacg ggatgagctg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1380

aagagcctct ccctgtcccc gggtaaa 1407

<210> 49

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide from human Fab library

<400> 49

atggagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cttaagccag 60

tccgccctga cccagcctgc ctccgtgtct ggctcccctg gccagtccat caccatcagc 120

tgcaccggca cctccagcga cgtgggcggc tacaactacg tgtcctggta tcagcagcac 180

cccggcaagg cccccaagct gatgatctac gacgtgtcca accggccctc cggcgtgtcc 240

aacagattct ccggctccaa gtccggcaac accgcctccc tgaccatcag cggactgcag 300

gcagaggacg aggccgacta ctactgctcc tcctacacct cctccagcac cagagtgttc 360

ggcaccggca caaaagtgac cgtgctgggc cagcccaagg ccaacccaac cgtgacactg 420

ttcccccccat cctccgagga actgcaggcc aacaaggcca ccctggtctg cctgatctca 480

gatttctatc caggcgccgt gaccgtggcc tggaaggctg atggctcccc agtgaaggcc 540

ggcgtggaaa ccaccaagcc ctccaagcag tccaacaaca aatacgccgc ctcctcctac 600

ctgtccctga cccccgagca gtggaagtcc caccggtcct acagctgcca ggtcacacac 660

gagggctcca ccgtggaaaa gaccgtcgcc cccaccgagt gctca 705

<210> 50

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe
1 5 10 15

Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr
20 25 30

Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys
35 40 45

Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu
50 55 60

Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile
65 70 75 80

Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys
85 90 95

Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn
100 105 110

Thr Ser Asn Pro Asp
115

<210> 51

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr
1 5 10 15

Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile
20 25 30

Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp
35 40 45

Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr
50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser
85 90 95

Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser
100 105 110

Asn Pro Asp
115

<210> 52

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe
1 5 10 15

Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser
20 25 30

Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val
35 40 45

Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys
50 55 60

His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala
65 70 75 80

Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe
85 90 95

Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe
100 105 110

Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp
115 120

<210> 53

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys
1 5 10 15
Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln

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

85 90 95
Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp
100 105 110

<210> 54

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 54

Val Thr Asp Asn Ala Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe
1 5 10 15
Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser

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

Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe

85 90 95

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

100 105 110

Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp

115 120

<210> 55

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 55

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Asn Asp

20 25 30

Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Tyr Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Ser Gly Gly Trp Leu Ala Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 56

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 56

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Tyr His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Gly Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 57

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 58

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 58

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Ile His

20 25 30

Gly Thr His Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Thr Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe

85 90 95

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

100 105 110

<210> 59

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 59

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

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

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

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln

260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

325 330 335

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

340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440 445

<210> 60

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 60

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Tyr His
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Gly Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 61

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 61

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

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

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

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Ala
435 440 445

<210> 62

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 62

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

Gln Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Ile His
20 25 30

Gly Thr His Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Glu Asp Thr Ala Asn Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe
85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215