(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0118832
(43) 공개일자 2024년08월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/70532 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7022359
(22) 출원일자(국제) 2022년12월08일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년07월04일
(86) 국제출원번호 PCT/US2022/081186
(87) 국제공개번호 WO 2023/108073
국제공개일자 2023년06월15일
(30) 우선권주장
63/288,330 2021년12월10일 미국(US)

(71) 출원인
조지아뮨 인코포레이티드
미국 20878 메릴랜드 게이더스버그 클로퍼 로드 942
(72) 발명자
클레이프 사미르
미국 20816 메릴랜드 베데스다 브룩스 리지 코트 613
믹르티치얀 미카엘
미국 91042 캘리포니아 투중가 투중가 캐년 블바르 9450
(74) 대리인
김진희, 김태홍

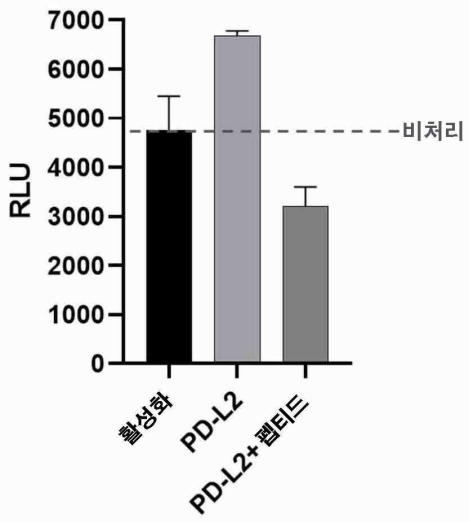
전체 청구항 수 : 총 70 항

(54) 발명의 명칭 **폴리펩티드 조절제**

(57) 요 약

프로그래밍된 사멸 1 리간드 2("PD-L2")의 돌연변이체이고 프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1("PD-1")을 활성화시키거나 억제함으로써 면역 세포를 활성화시키거나 억제할 수 있는 단리된 폴리펩티드가 기재된다. 또한, PD-L2의 활성화 또는 억제 부위를 차단하여 PD-1을 억제하거나 활성화시키는 단리된 폴리펩티드가 기재된다. 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물 및 폴리펩티드를 사용하는 방법이 추가로 기재된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
A61P 37/06 (2018.01)
C07K 14/70596 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열번호 1과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드.

청구항 2

서열번호 21인 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드.

청구항 3

서열번호 22인 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노산이 면역글로불린에 융합되는 것인 폴리펩티드.

청구항 5

제4항에 있어서, 면역글로불린이 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4인 폴리펩티드.

청구항 6

제1항, 제2항, 제4항 및 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 서열번호 3 또는 서열번호 4와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.

청구항 7

제6항에 있어서, 폴리펩티드가 서열번호 3 또는 서열번호 4인 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.

청구항 8

제1항, 제2항 및 제4항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 Tyr 112, Trp 110, Ile 103, Ile 105, Gln 101, 및 Tyr 114로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산을 포함하는 것인 폴리펩티드.

청구항 9

제1항, 제2항 및 제4항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1("PD-1")에 결합하고 PD-1을 활성화시키는 것인 폴리펩티드.

청구항 10

제1항, 제2항 및 제4항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 면역 세포를 활성화시키는 것인 폴리펩티드.

청구항 11

제1항 및 제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 서열번호 5 또는 서열번호 6과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.

청구항 12

제11항에 있어서, 폴리펩티드가 서열번호 5 또는 서열번호 6인 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.

청구항 13

제1항, 제3항 내지 제5항, 제11항 및 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 Ile 105, Val 108, Gly 107, Ala 109, Trp 110, 및 Asp 111로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산을 포함하는 것인 폴리펩티드.

청구항 14

제1항, 제3항 내지 제5항 및 제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 PD-1에 결합하고 PD-1을 억제하는 것인 폴리펩티드.

청구항 15

제1항, 제3항 내지 제5항 및 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 면역 세포를 억제하는 것인 폴리펩티드.

청구항 16

제1항, 제3항 내지 제5항 및 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 중추 기억 T 세포("Tcm")를 유도하는 것인 폴리펩티드.

청구항 17

제1항, 제3항 내지 제5항 및 제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 T 세포 고갈을 방지하는 것인 폴리펩티드.

청구항 18

검출 가능한 마커 또는 캐리어 분자에 부착된 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 접합체.

청구항 19

제18항에 있어서, 캐리어 분자가 글리코사미노글리칸, 프로테오글리칸, 알부민, 및 폴리알킬렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 접합체.

청구항 20

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산.

청구항 21

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, 폴리펩티드가 리포솜에 캡슐화되는 것인 약학 조성물.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 제2 치료제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 제2 치료제가 화학치료제 또는 면역억제제인 약학 조성물.

청구항 25

제20항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 Tcm을 유도하는 것인 약학 조성물.

청구항 26

제20항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 T 세포 고갈을 방지하는 것인 약학 조성물.

청구항 27

면역 반응의 유도, 촉진, 또는 향상을 필요로 하는 대상체에게 제1항, 제2항 및 제4항 내지 제10항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제18항 또는 제19항의 접합체, 또는 제21항 내지 제26항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시키는 방법.

청구항 28

암의 치료 또는 종양 부담의 감소를 필요로 하는 대상체에게 제1항, 제2항, 및 제4항 내지 제10항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제18항 또는 제19항의 접합체, 또는 제21항 내지 제26항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하거나 종양 부담을 감소시키는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 암이 성인 T 세포 백혈병/림프종, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 신장암, 간암, 폐암, 비인두암, 췌장암, 전립선암, 피부암, 위암, 자궁암, 난소암, 및 고환암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 유도성 T 세포 키나제("ITK")를 상향조절하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 31

면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 제1항, 제3항 내지 제5항 및 제11항 내지 제17항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제18항 또는 제19항의 접합체, 또는 제21항 내지 제26항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 방법.

청구항 32

자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제1항, 제3항 내지 제5항 및 제11항 내지 제17항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제18항 또는 제19항의 접합체, 또는 제21항 내지 제26항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 자가면역 질환이 이완불능증, 애디슨병, 성인형 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항사구체 기저막 질환, 항세뇨관 기저막 항체 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경 장애, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 및 뉴런 신경병증, 발로병, 베체트병, 양성 점막 유천포창, 수포성 유천포창, 캐슬만병, 복강병, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 만성 재발성 다초점 골수염, 처그-스트라우스 증후군, 호산구성 육아종증, 반흔성 유천포창, 코건 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병(시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염, 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근통, 섬유성 폐포염, 거대세포 동맥염(측두 동맥염), 거대세포 심근염, 사구체신염, 굿파스처 증후군, 다발혈관염을 동반한 육아종증, 그레이브스 질환, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-숀라인 자반증, 임신 유천포창, 화농성 한선염(전위 여드름), 저감마글로불린혈증, IgA 신장병증, IgG4 관련된 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증, 봉입체 근염, 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병(제1형 당뇨병), 소아 근염, 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구파괴 혈관염, 편평태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 질환, 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경적 다발혈관염, 혼합 결합 조직병, 무렌 궤양, 무하-하버만 질환, 다초점 운동 신경병증, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 신생아 루푸스, 시신경척수염, 호중구감소증, 눈 반흔성 유천포창, 시신경염, 회문성 류머티즘, 소아 자가면역 신경정신 장애, 부종양 소뇌 변성, 발작성 야간 혈색소뇨증, 패리롬버그 증후군, 평면부염(말초 포도막염), 파소나지-터너 증후군, 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형 다선 증후군, 제II형 다선 증후군, 제III형 다선 증후군,

류마티스성 다발근통, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심낭막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증, 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이상증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군, 후복막 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 유육종증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 강직 인간 증후군, 아급성 세균성 심내막염, 수삭 증후군, 교감성 안염, 타카야스 동맥염, 측두 동맥염(거대세포 동맥염), 혈소판감소성 자반증, 톨로사-헌트 증후군, 횡단 척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직 질환, 포도막염, 혈관염, 백반증, 보그트-코야나기-하라다 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 34

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, ITK를 하향조절하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 35

면역 반응의 유도, 촉진, 또는 향상을 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 활성화제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시키는 방법.

청구항 36

암의 치료 또는 종양 부담의 감소를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 활성화제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하거나 종양 부담을 감소시키는 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 암이 성인 T 세포 백혈병/림프종, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 신장암, 간암, 폐암, 비인두암, 췌장암, 전립선암, 피부암, 위암, 자궁암, 난소암, 및 고환암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 38

제35항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, ITK 활성화제가 소분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산인 방법.

청구항 39

면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 방법.

청구항 40

자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 자가면역 질환이 이완불능증, 애디슨병, 성인형 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항사구체 기저막 질환, 항세뇨관 기저막 항체 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경 장애, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 및 뉴런 신경병증, 발로병, 베체트병, 양성 점막 유천포창, 수포성 유천포창, 캐슬만병, 복강병, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 만성 재발성 다초점 골수염, 처그-스트라우스 증후군, 호산구성 육아종증, 반흔성 유천포창, 코건 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병(시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염, 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근통, 섬유성 폐포염, 거대세포 동맥염(측두 동맥염), 거대세포 심근염, 사구체신염, 굿파스쳐 증후군, 다발혈관염을 동반한 육아종증, 그레이브스 질환, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쇤라인 자반증, 임신 유천포창, 화농성 한선염(전위 여드름), 저감마글로불린혈증, IgA 신장병증, IgG4 관련된 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증, 봉입체 근염, 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병(제1형 당뇨병), 소아 근염, 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구파괴 혈관염, 편평태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 질환, 루푸스, 만성 라임병,

메니에르병, 현미경적 다발혈관염, 혼합 결합 조직병, 무렌 궤양, 무하-하버만 질환, 다초점 운동 신경병증, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 신생아 루푸스, 시신경척수염, 호중구감소증, 눈 반흔성 유천포창, 시신경염, 회문성 류머티즘, 소아 자가면역 신경정신 장애, 부종양 소뇌 변성, 발작성 야간 혈색소뇨증, 패리롬버그 증후군, 평면부염(말초 포도막염), 파소나지-터너 증후군, 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형 다선 증후군, 제II형 다선 증후군, 제III형 다선 증후군, 류마티스성 다발근통, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심낭막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증, 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이상증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군, 후복막 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 유육종증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 강직 인간 증후군, 아급성 세균성 심내막염, 수삭 증후군, 교감성 안염, 타카야스 동맥염, 측두 동맥염(거대세포 동맥염), 혈소판감소성 자반증, 톨로사-헌트 증후군, 횡단 척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직 질환, 포도막염, 혈관염, 백반증, 보그트-코야나기-하라다 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 42

제38항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, ITK 억제제가 소분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산인 방법.

청구항 43

서열번호 11-13 중 어느 하나와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드.

청구항 44

제43항에 있어서, 폴리펩티드가 서열번호 11-13으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 것인 폴리펩티드.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서, 폴리펩티드가 프로그래밍된 세포 사멸 1 리간드 2("PD-L2")에 결합하는 것인 폴리펩티드.

청구항 46

제43항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 PD-L2의 억제 부위를 차단하는 것인 폴리펩티드.

청구항 47

제43항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 면역 세포를 활성화시키는 것인 폴리펩티드.

청구항 48

서열번호 14와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드.

청구항 49

제48항에 있어서, 서열번호 14인 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드.

청구항 50

제48항 또는 제49항에 있어서, 폴리펩티드가 PD-L2에 결합하는 것인 폴리펩티드.

청구항 51

제48항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 PD-L2의 활성화 부위를 차단하는 것인 폴리펩티드.

청구항 52

제48항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드가 면역 세포를 억제하는 것인 폴리펩티드.

청구항 53

검출 가능한 마커 또는 캐리어 분자에 부착된 제43항 내지 제52항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 접합체.

청구항 54

제53항에 있어서, 캐리어 분자가 글리코사미노글리칸, 프로테오글리칸, 알부민, 및 폴리알킬렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 접합체.

청구항 55

제43항 내지 제52항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산.

청구항 56

제43항 내지 제52항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물.

청구항 57

제56항에 있어서, 폴리펩티드가 리포솜에 캡슐화되는 것인 약학 조성물.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 제2 치료제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 59

제58항에 있어서, 제2 치료제가 화학치료제 또는 면역억제제인 약학 조성물.

청구항 60

면역 반응의 유도, 촉진, 또는 향상을 필요로 하는 대상체에게 제43항 내지 제47항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제53항 또는 제54항의 접합체, 또는 제56항 내지 제59항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시키는 방법.

청구항 61

암의 치료 또는 종양 부담의 감소를 필요로 하는 대상체에게 제43항 내지 제47항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제53항 또는 제54항의 접합체, 또는 제56항 내지 제59항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하거나 종양 부담을 감소시키는 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 암이 성인 T 세포 백혈병/림프종, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 신장암, 간암, 폐암, 비인두암, 췌장암, 전립선암, 피부암, 위암, 자궁암, 난소암, 및 고환암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 63

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, ITK를 상향조절하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 64

면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 제48항 내지 제52항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제53항 또는 제54항의 접합체, 또는 제56항 내지 제59항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 방법.

청구항 65

자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제48항 내지 제52항 중 어느 한 항의 폴리펩티드, 제53항 또는

제54항의 접합체, 또는 제56항 내지 제59항 중 어느 한 항의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 자가면역 질환이 이완불능증, 애디슨병, 성인형 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항사구체 기저막 질환, 항세뇨관 기저막 항체 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경 장애, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 및 뉴런 신경병증, 발로병, 베체트병, 양성 점막 유천포창, 수포성 유천포창, 캐슬만병, 복강병, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 만성 재발성 다초점 골수염, 처그-스트라우스 증후군, 호산구성 육아종증, 반흔성 유천포창, 코건 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병(시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염, 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근통, 섬유성 폐포염, 거대세포 동맥염(측두 동맥염), 거대세포 심근염, 사구체신염, 굿파스처 증후군, 다발혈관염을 동반한 육아종증, 그레이브스 질환, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쇤라인 자반증, 임신 유천포창, 화농성 한선염(전위 여드름), 저감마글로불린혈증, IgA 신장병증, IgG4 관련된 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증, 봉입체 근염, 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병(제1형 당뇨병), 소아 근염, 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구파괴 혈관염, 편평태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 질환, 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경적 다발혈관염, 혼합 결합 조직병, 무렌 궤양, 무하-하버만 질환, 다초점 운동 신경병증, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 신생아 루푸스, 시신경척수염, 호중구감소증, 눈 반흔성 유천포창, 시신경염, 회문성 류머티즘, 소아 자가면역 신경정신 장애, 부종양 소뇌 변성, 발작성 야간 혈색소뇨증, 패리롬버그 증후군, 평면부염(말초 포도막염), 파소나지-터너 증후군, 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형 다선 증후군, 제II형 다선 증후군, 제III형 다선 증후군, 류마티스성 다발근통, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심낭막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증, 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이상증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군, 후복막 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 유육종증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 강직 인간 증후군, 아급성 세균성 심내막염, 수삭 증후군, 교감성 안염, 타카야스 동맥염, 측두 동맥염(거대세포 동맥염), 혈소판감소성 자반증, 톨로사-헌트 증후군, 횡단 척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직 질환, 포도막염, 혈관염, 백반증, 보그트-코야나기-하라다 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 67

제64항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, ITK를 하향조절하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 68

면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 PD-1의 억제 부위에 결합하는 소분자의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 방법.

청구항 69

자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 PD-1의 억제 부위에 결합하는 소분자의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 자가면역 질환이 이완불능증, 애디슨병, 성인형 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항사구체 기저막 질환, 항세뇨관 기저막 항체 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경 장애, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 및 뉴런 신경병증, 발로병, 베체트병, 양성 점막 유천포창, 수포성 유천포창, 캐슬만병, 복강병, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 만성 재발성 다초점 골수염, 처그-스트라우스 증후군, 호산구성 육아종증, 반흔성 유천포창, 코건 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부

염, 피부근염, 데빅병(시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염, 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근통, 섬유성 폐포염, 거대세포 동맥염(측두 동맥염), 거대세포 심근염, 사구체신염, 굿파스쳐 증후군, 다발혈관염을 동반한 육아종증, 그레이브스 질환, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-숀라인 자반증, 임신 유천포창, 화농성 한선염(전위 여드름), 저감마글로불린혈증, IgA 신장병증, IgG4 관련된 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증, 봉입체 근염, 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병(제1형 당뇨병), 소아 근염, 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구파괴 혈관염, 편평태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 질환, 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경적 다발혈관염, 혼합 결합 조직병, 무렌 궤양, 무하-하버만 질환, 다초점 운동 신경병증, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 신생아 루푸스, 시신경척수염, 호중구감소증, 눈 반흔성 유천포창, 시신경염, 회문성 류머티즘, 소아 자가면역 신경정신 장애, 부종양 소뇌 변성, 발작성 야간 혈색소뇨증, 패리롬버그 증후군, 평면부염(말초 포도막염), 파소나지-터너 증후군, 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형 다선 증후군, 제II형 다선 증후군, 제III형 다선 증후군, 류마티스성 다발근통, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심낭막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증, 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이상증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군, 후복막 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 유육종증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 강직 인간 증후군, 아급성 세균성 심내막염, 수삭 증후군, 교감성 안염, 타카야스 동맥염, 측두 동맥염(거대세포 동맥염), 혈소판감소성 자반증, 톨로사-헌트 증후군, 횡단 척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직 질환, 포도막염, 혈관염, 백반증, 보그트-코야나기-하라다 질환, 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 2021년 12월 10일에 출원된 미국 가출원 번호 63/288,330의 이익 및 우선권을 주장하며, 이의 내용은 전체가 참조로 본원에 포함된다.

[0003] **참조에 의한 삽입**

[0004] 본원에 인용된 임의의 특허, 특허 공개문, 저널 공개문 또는 다른 문서는 전체가 참조로 본원에 명시적으로 포함된다.

[0005] **발명의 분야**

[0006] 본 발명은 일반적으로 폴리펩티드 조절제 및 면역조절에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1("PD-1")에 특이적으로 결합하거나 이를 조절하는 리간드 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] PD-1은 면역계를 하향조절하여 인체의 세포에 대한 면역계의 반응을 조절하고, T 세포의 염증 활성을 억제하여 자가 관용을 촉진하는 역할을 하는 T 및 B 세포 표면 상의 단백질이다. 이 생물학적 경로는 자가면역 질환을 예방할 뿐만 아니라 면역계가 암세포를 사멸시키는 것을 방지할 수도 있다.

[0008] 프로그래밍된 사멸 리간드 1("PD-L1")은 PD-1에 결합하고 억제 신호를 전달하여 면역 반응을 억제한다. PD-1/PD-L1 경로는 암 면역요법 표적으로 유망한 임상 성공을 나타내었다. PD-1 또는 PD-L1을 표적으로 삼는 현재 항체는 이러한 상호작용을 차단하고 암세포에 대한 면역 반응을 강화할 수 있다. PD-1 모노클로날 항체 및 다른 면역 체크포인트 억제제를 사용한 성공적인 임상 시험은 암 면역학에 새로운 길을 열었다. 그러나, 암 환자 중 상당수가 새로운 면역요법에 반응하지 못하면서 조합 요법 및 예측 바이오마커에 대한 연구가 강화되었다(예컨대, 문헌(Iwai, Y, et al., Journal of Biomedical Science, 24:26 (2017)) 참조).

[0009] PD-L1 외에 프로그래밍된 세포 사멸 1 리간드 2("PD-L2")도 PD-1에 결합하는 것으로 알려진 또 다른 단백질이다.

[0010] 따라서, PD-1 신호 전달 및 관련된 생물학적 경로를 조절하기 위한 조성물 및 방법을 제공하는 것이 본원에 개

시된 하나 이상의 발명의 목적이다.

발명의 내용

[0011] 한 측면에서, PD-1에 결합하는 단리된 폴리펩티드가 기재된다. 특정 실시양태에서, 폴리펩티드는 시험관내 또는 생체내에서 면역 반응을 조절할 수 있고/있거나 또한 다양한 병태의 예방 또는 치료에 개별적으로 또는 다른 작용제와 조합하여 사용될 수 있다. 또 다른 측면에서, PD-L2의 억제 또는 활성화 부위를 차단하는 단리된 폴리펩티드가 기재된다. 또 다른 측면에서, 다양한 병태의 예방 또는 치료에서 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물 및 이러한 조성물을 개별적으로 또는 다른 작용제 또는 조성물과 조합하여 사용하는 방법이 기재된다. 또 다른 측면에서, 유도성 T 세포 키나제("ITK") 활성화제 또는 억제제가 기재되고/되거나 또한 다양한 병태의 예방 또는 치료에서 개별적으로 또는 다른 작용제와 조합하여 사용될 수 있다.

[0012] 한 측면에서, 서열번호 1과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 기재된다.

[0013] 또 다른 측면에서, 서열번호 21인 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 기재된다.

[0014] 또 다른 측면에서, 서열번호 22인 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 기재된다.

[0015] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 아미노산은 면역글로불린에 융합된다.

[0016] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 면역글로불린은 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4이다.

[0017] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 서열번호 3 또는 서열번호 4와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0018] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 서열번호 3 또는 서열번호 4인 아미노산 서열을 포함한다.

[0019] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 Tyr 112, Trp 110, Ile 103, Ile 105, Gln 101, 및 Tyr 114로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산을 포함한다.

[0020] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 PD-1에 결합하고 PD-1을 활성화시킨다.

[0021] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 면역 세포를 활성화시킨다.

[0022] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 서열번호 5 또는 서열번호 6과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 서열번호 5 또는 서열번호 6인 아미노산 서열을 포함한다.

[0024] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 Ile 105, Val 108, Gly 107, Ala 109, Trp 110, 및 Asp 111로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산을 포함한다.

[0025] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 PD-1에 결합하고 PD-1을 억제한다.

[0026] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 면역 세포를 억제한다.

[0027] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 중추 기억 T 세포("Tcm")를 유도한다.

[0028] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 T 세포 고갈을 방지한다.

[0029] 또 다른 측면에서, 검출 가능한 마커 또는 캐리어 분자에 부착된 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 폴리펩티드를 포함하는 접합체가 기재된다.

[0030] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 캐리어 분자는 글리코사미노글리칸, 프로테오글리칸, 알부민, 및 폴리알킬렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0031] 또 다른 측면에서, 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산이 기재된다.

[0032] 또 다른 측면에서, 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물이 기재된다.

[0033] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 리포솜에 캡슐화된다.

[0034] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 약학 조성물은 제2 치료제를 추가로 포함한다.

[0035] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 제2 치료제는 화학치료제 또는 면역억제제이다.

[0036] 또 다른 측면에서, 면역 반응의 유도, 촉진, 또는 향상을 필요로 하는 대상체에게 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 폴리펩티드, 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 접합체, 또는 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시키는 방법이 기재된다.

[0037] 또 다른 측면에서, 암의 치료 또는 종양 부담의 감소를 필요로 하는 대상체에게 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 폴리펩티드, 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 접합체, 또는 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하거나 종양 부담을 감소시키는 방법이 기재된다.

[0038] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 암은 성인 T 세포 백혈병/림프종, 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 신장암, 간암, 폐암, 비인두암, 췌장암, 전립선암, 피부암, 위암, 자궁암, 난소암, 및 고환암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0039] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 방법은 ITK를 상향조절하는 단계를 추가로 포함한다.

[0040] 또 다른 측면에서, 면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 폴리펩티드, 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 접합체, 또는 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 방법이 기재된다.

[0041] 또 다른 측면에서, 자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 폴리펩티드, 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 접합체, 또는 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나의 약학 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법이 기재된다.

[0042] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 자가면역 질환은 이완불능증, 애디슨병, 성인형 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항사구체 기저막 질환, 항세뇨관 기저막 항체 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈관부종, 자가면역 자율신경 장애, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 및 뉴런 신경병증, 발로병, 베체트병, 양성 점막 유천포창, 수포성 유천포창, 캐슬만병, 복강병, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 만성 재발성 다초점 골수염, 처그-스트라우스 증후군, 호산구성 육아종증, 반흔성 유천포창, 코건 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병(시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염, 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근통, 섬유성 폐포염, 거대세포 동맥염(측두 동맥염), 거대세포 심근염, 사구체신염, 굿파스처 증후군, 다발혈관염을 동반한 육아종증, 그레이브스 질환, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쇤라인 자반증, 임신 유천포창, 화농성 한선염(전위 여드름), 저감마글로불린혈증, IgA 신장병증, IgG4 관련된 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증, 봉입체 근염, 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병(제1형 당뇨병), 소아 근염, 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구파괴 혈관염, 편평태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 질환, 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경적 다발혈관염, 혼합 결합 조직병, 무렌 궤양, 무하-하버만 질환, 다초점 운동 신경병증, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 신생아 루푸스, 시신경척수염, 호중구감소증, 눈 반흔성 유천포창, 시신경염, 회문성 류머티즘, 소아 자가면역 신경정신 장애, 부종양 소뇌 변성, 발작성 야간 혈색소뇨증, 패리 롬버그 증후군, 평면부염(말초 포도막염), 파소나지-터너 증후군, 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형 다선 증후군, 제II형 다선 증후군, 제III형 다선 증후군, 류마티스성 다발근통, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심낭막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증, 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이상증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군, 후복막 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 유육종증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 강직 인간 증후군, 아급성 세균성 심내막염, 수삭 증후군, 교감성 안염, 타카야스 동맥염, 측두 동맥염(거대세포 동맥염), 혈소판감소성 자반증, 톨로사-헌트 증후군, 횡단 척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직 질환, 포도막염, 혈관염, 백반증, 보그트-코야나기-하라다 질환, 및 이들의 조합으로 이

루어진 군으로부터 선택된다.

[0043] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 방법은 ITK를 하향조절하는 단계를 추가로 포함한다.

[0044] 또 다른 측면에서, 면역 반응의 유도, 촉진, 또는 향상을 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 활성화제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시키는 방법이 기재된다.

[0045] 또 다른 측면에서, 암의 치료 또는 종양 부담의 감소를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 활성화제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하거나 종양 부담을 감소시키는 방법이 기재된다.

[0046] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, ITK 활성화제는 소분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산이다.

[0047] 또 다른 측면에서, 면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 방법이 기재된다.

[0048] 또 다른 측면에서, 자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법이 기재된다.

[0049] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, ITK 억제제는 소분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산이다.

[0050] 또 다른 측면에서, 서열번호 11-13 중 임의의 것과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 기재된다.

[0051] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 서열번호 11-13으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함한다.

[0052] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 PD-L2에 결합한다.

[0053] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 억제 부위를 차단한다.

[0054] 또 다른 측면에서, 서열번호 14와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드가 기재된다.

[0055] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 서열번호 14인 아미노산 서열을 포함한다.

[0056] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 활성화 부위를 차단한다.

[0057] 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나에서, 폴리펩티드는 면역 세포를 억제한다.

[0058] 또 다른 측면에서, 면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 PD-1의 억제 부위에 결합하는 소분자의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 방법이 기재된다.

[0059] 또 다른 측면에서, 자가면역 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에게 PD-1의 억제 부위에 결합하는 소분자의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료하는 방법이 기재된다.

[0060] 본원에 개시된 실시양태 중 임의의 하나는 본원에 개시된 임의의 다른 실시양태와 적절하게 조합될 수 있다. 본원에 개시된 실시양태 중 어느 하나와 본원에 개시된 임의의 다른 실시양태의 조합이 명백히 고려된다. 구체적으로, 하나의 치환기에 대한 하나 이상의 실시양태의 선택은 임의의 다른 치환기에 대한 하나 이상의 특정 실시양태의 선택과 적절히 조합될 수 있다. 이러한 조합은 본원에 기재된 적용의 임의의 하나 이상의 실시양태 또는 본원에 기재된 임의의 식으로 이루어질 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0061] 도 1은 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 폴리펩티드의 존재 또는 부재 하에 처리된 PD-1 리포터 세포 그룹의 상대적 발광 단위("RLU")를 나타낸다.

도 2a-2c는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 PD-L2에 결합하는 폴리펩티드의 설계의 논리적 근거를 나타낸다.

도 3a-3b는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 PD-L2 돌연변이체의 설계의 논리적 근거를 나타낸다.

도 4는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 PD-1 신호의 유형이 ITK와 Src 상동성 영역 2("SH2") 함유

단백질 티로신 포스파타제 2("SHP2") 사이의 균형에 의존한다는 것을 나타낸다.

도 5a-5c는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 ITK와 SHP2 사이의 균형 및 ITK와 SHP2 사이의 균형에 영향을 미치는 업스트림 경로에 의해 지시되는 면역 반응을 나타낸다.

도 6a-6c는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 1차 T 세포를 PD-L1 및 PD-L2로 처리한 후 PD-1 결합된 ITK 및 SHP2 수준의 차이를 나타낸다.

도 7a-7c는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 PD-L2가 Tcm을 증가시키고 T 세포 고갈을 방지한다는 것을 나타낸다.

도 8a-8c는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 PD-L2가 Tcm 생성 및 고갈 방지에 필요하다는 것을 나타낸다.

도 9a-9d는 본원에 기재된 하나 이상의 실시양태에 따라 PD-L2가 CD4 및 CD8 T 세포 둘 다의 활성화의 개시에 필요하다는 것을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0062] **정의**

[0063] 본 개시내용은 본원에 기재된 조성물 및 방법 뿐만 아니라 기재된 실험 조건에 제한되지 않으며, 그 자체로 다양할 수 있음이 이해되어야 한다. 또한, 본원에 사용된 용어는 특정 실시양태를 설명하기 위한 목적일 뿐 제한하려는 의도가 아니라는 것을 이해해야 한다.

[0064] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 개시 내용이 속하는 기술 분야의 숙련자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기재된 것과 유사하거나 등가인 임의의 조성물, 방법, 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다.

[0065] 현재 청구된 발명을 설명하는 맥락에서(특히 청구범위의 맥락에서) 단수 형태의 용어의 사용은 본원에서 달리 명시되지 않거나 문맥상 명백히 모순되지 않는 한 단수 및 복수를 모두 포함하는 것으로 해석된다.

[0066] 본원에서 값의 범위를 언급하는 것은 본원에서 달리 지시되지 않는 한 단지 범위 내에 속하는 각각의 개별 값을 개별적으로 언급하는 약식 방법의 역할을 하도록 의도되었으며, 각각의 개별 값은 본원에서 개별적으로 언급된 것처럼 본 명세서에 포함된다.

[0067] 용어 "약"의 사용은 대략 ± 10% 범위 내에서 명시된 값보다 높거나 낮은 값을 기재하기 위한 것이다. 일부 실시양태에서, 값은 대략 ± 5% 범위에서 명시된 값보다 높거나 낮을 수 있다. 일부 실시양태에서, 값은 대략 ± 2% 범위에서 명시된 값보다 높거나 낮을 수 있다. 일부 실시양태에서, 값은 대략 ± 1% 범위에서 명시된 값보다 높거나 낮을 수 있다. 상기 범위는 문맥에 따라 명확하게 하려는 것이며 더 이상의 제한은 암시되지 않는다. 본원에 기재된 모든 방법은 본원에서 달리 명시되지 않거나 문맥상 명확하게 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예 또는 예시적인 언어(예컨대, "예시적인", "와 같은", "예컨대", "포함하지만 이에 제한되지 않는")의 사용은 단지 본 발명을 더 잘 설명하기 위한 것이며 달리 명시되지 않는 한 본 발명의 범위를 제한하지 않는다.

[0068] 본원에 사용된 용어 "암" 및 동등하게 "종양"은 숙주 기원의 비정상적으로 복제하는 세포가 대상체에서 검출 가능한 양으로 존재하는 병태를 지칭한다. 암은 악성 또는 비-악성 암일 수 있다. 암 또는 종양은 성인 T 세포 백혈병/림프종(인간 T 세포 림프친화 바이러스("HTLV-1")에 의해 유발되는 것을 포함), 담도암; 뇌암; 유방암; 자궁경부암; 융모막암종; 결장암; 자궁내막암; 식도암; 위(gastric 또는 stomach)암; 상피내 신생물; 백혈병; 림프종; 간암; 폐암(예컨대, 소세포 및 비-소세포); 흑색종; 신경모세포종; 구강암; 난소암; 췌장암; 전립선암; 직장암; 신장(renal 또는 kidney)암; 육종; 피부암; 고환암; 갑상선암 뿐만 아니라 다른 암종 및 육종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본원에 사용된 용어 "림프종"은 림프계 암 또는 림프구에서 발생하는 혈액암을 지칭한다. 암은 원발성 또는 전이성일 수 있다. 암 이외의 질환은 Ras 신호전달 경로 성분의 돌연변이 변경과 연관될 수 있으며, 본원에 개시된 폴리퀩티드는 이러한 비-암 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다. 이러한 비-암 질환은 신경섬유종증; 레오파드 증후군; 누난 증후군; 레기우스 증후군; 코스텔로 증후군; 심장-얼굴-피부 증후군; 제1형 유전성 치은 섬유종증; 자가면역 림프증식성 증후군; 및 모세관 기형-동정맥 기형을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0069] 본원에서 사용되는 바와 같이, "유효량"은 원하는 결과를 달성하거나 촉진하는 데 필요하거나 충분한 임의의 양

을 지칭한다. 일부 경우에서, 유효량은 치료학적 유효량이다. 치료학적 유효량은 대상체에서 원하는 생물학적 반응을 촉진하거나 달성하는 데 필요하거나 충분한 임의의 양이다. 임의의 특정 적용을 위한 유효량은 치료되는 질환 또는 병태, 투여되는 특정 작용제, 대상체의 크기, 또는 질환 또는 병태의 중증도와 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 당업자는 과도한 실험을 필요로 하지 않고 특정 작용제의 유효량을 경험적으로 결정할 수 있다.

[0070] 본원에 사용된 용어 "대상체"는 척추동물을 지칭한다. 한 실시양태에서, 대상체는 포유동물 또는 포유동물 종이다. 한 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 다른 실시양태에서, 대상체는 비-인간 영장류, 실험 동물, 가축, 경주마, 사육 및 비-사육 동물을 포함하지만 이에 제한되지 않는 비-인간 척추동물이다.

[0071] 본원에 사용된 용어 "면역 세포"는 호중구, 호산구, 호염기구, 신경교세포(예컨대, 성상교세포, 소교세포 및 희소돌기아교세포), 단핵구, 대식세포, 수지상세포 및 림프구(예컨대, B 세포, T 세포 및 천연 킬러("NK") 세포)를 포함하지만 이에 제한되지 않는 선천성 및 후천성 면역계의 세포를 지칭한다.

[0072] 본원에서 사용되는 바와 같이, "통상적인 T 세포"는 αβ T 세포 수용체("TCR") 뿐만 아니라 CD4 또는 CD8과 같은 공동 수용체를 발현하는 T 림프구이다. 통상적인 T 세포는 말초 혈액, 림프절 및 조직에 존재한다(예컨대, 문헌(Roberts and Girardi, "Conventional and Unconventional T Cells", Clinical and Basic Immunodermatology, pp. 85-104, (Gaspari and Tyring (ed.)), Springer London (2008), 전부 참조로 본원에 포함됨) 참조). 본원에 사용된 "비통상적인 T 세포"는 γδ TCR을 발현하고 피부, 위장관 또는 비뇨생식관과 같은 상피 환경에 일반적으로 존재할 수 있는 림프구이다. 비통상적인 T 세포의 또 다른 하위세트는 불변 천연 킬러 T("NKT") 세포로, 이는 통상적인 T 세포의 표현형 및 기능적 능력 뿐만 아니라 천연 킬러 세포의 특질(예컨대, 세포용해 활성)도 갖는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 조절 T 세포("Treg")는 면역계를 조절하고, 자가항원에 대한 관용을 유지하고, 자가면역 질환을 폐지하고, 다른 세포의 면역 자극 또는 활성화 반응을 억제하는 T 세포의 하위집단이다. Treg는 다양한 형태로 제공되며 가장 잘 이해되는 것은 CD4, CD25 및 Foxp3을 발현하는 것이다. 본원에 사용된 "천연 Treg" 또는 "nTreg"는 흉선에서 발생하는 Treg 또는 세포를 지칭한다. 본원에 사용된 "유도된 Treg" 또는 "iTreg"는 흉선 외부의 성숙한 CD4+ 통상적인 T 세포로부터 발생하는 Treg 또는 세포를 지칭한다.

[0073] 본원에 사용된 용어 "펩티드" 또는 "폴리펩티드"는 변형(예컨대, 포스포릴화 또는 글리코실화)에 관계없이 임의의 길이의 아미노산 쇄를 지칭한다. 용어 "펩티드" 및 "폴리펩티드"는 상호교환적으로 사용된다. 이 용어는 단백질 및 이의 단편을 포함한다. 폴리펩티드는 "외인성"일 수 있으며, 이는 "이종성", 즉 박테리아 세포에 의해 생성되는 인간 폴리펩티드와 같이 사용되는 숙주 세포에 대해 외래라는 것을 의미한다. 폴리펩티드는 본원에서 아미노산 잔기 서열로서 개시된다. 이러한 서열은 아미노에서 카르복시 말단 방향으로 왼쪽에서 오른쪽으로 기록된다. 표준 명명법에 따라 아미노산 잔기 서열은 하기와 같이 3문자 또는 단일 문자 코드로 표시된다: 알라닌(Ala, A), 아르기닌(Arg, R), 아스파라긴(Asn, N), 아스파르트산 (Asp, D), 시스테인(Cys, C), 글루타민(Gln, Q), 글루타민산(Glu, E), 글리신(Gly, G), 히스티딘(His, H), 이소류신(Ile, I), 류신 (Leu, L), 라이신(Lys, K), 메티오닌(Met, M), 페닐알라닌(Phe, F), 프롤린(Pro, P), 세린(Ser, S), 트레오닌(Thr, T), 트립토판(Trp, W), 티로신(Tyr, Y) 및 발린(Val, V).

[0074] 용어 "면역 반응"은, 예컨대 수용자 환자에서 폴리펩티드에 대해 지시된 유익한 체액성(항체 매개됨) 및/또는 세포성(항원 특이적 T 세포 또는 이의 분비물에 의해 매개됨) 반응의 발생을 포함한다. 이러한 반응은 면역원 투여에 의해 유도된 능동 반응이거나, 항체 또는 프라이밍된 T 세포 투여에 의해 유도된 수동 반응일 수 있다. 세포성 면역 반응은 항원 특이적 CD4+ T 헬퍼 세포 및/또는 CD8+ 세포독성 T 세포를 활성화시키기 위해 클래스 I 또는 클래스 II 주요 조직적합성 복합체("MHC") 분자와 회합된 폴리펩티드 에피토프의 제시에 의해 유도된다. 반응은 또한 단핵구, 대식세포, NK 세포, 호염기구, 수지상 세포, 성상교세포, 소교세포, 호산구의 활성화, 호중구의 활성화 또는 동원, 또는 선천성 면역의 다른 성분을 포함할 수 있다. 세포 매개된 면역학적 반응의 존재는 증식 검정(CD4+ T 세포) 또는 세포독성 T 림프구("CTL") 검정에 의해 결정될 수 있다. 면역원의 보호 또는 치료 효과에 대한 체액성 및 세포성 반응의 상대적인 기여는 면역화된 동계 동물로부터 항체 및 T 세포를 별도로 단리하고 제2 대상체에서 보호 또는 치료 효과를 측정함으로써 구별될 수 있다.

[0075] 용어 "면역원성제" 또는 "면역원"은 임의적으로 애주번트와 함께 포유동물에 투여 시 그 자체에 대한 면역학적 반응을 유도할 수 있는 작용제를 지칭한다.

[0076] **폴리펩티드**

[0077] PD-L1 외에 PD-L2도 PD-1에 결합하는 또 다른 단백질이다. 출원인은 놀랍게도 PD-L2가 PD-L2 상의 2개의 주요

상호작용 부위를 통해 PD-1에 결합할 때 이들 부위가 반대 기능(PD-L2 상의 한 부위는 PD-1 및 면역 반응을 활성화시키는 반면 다른 부위는 PD-1 및 면역 반응을 억제함)을 갖는다는 것을 발견하였다. PD-1을 활성화시키는 부위는 본원에서 "활성화 부위"로 지칭되고 PD-1을 억제하는 부위는 본원에서 "억제 부위"로 지칭된다. PD-L2의 두 상호작용 부위가 도 2a에 도시된다. 일부 실시양태에서, PD-L2 상의 활성화 부위는 Tyr 112, Trp 110, Ile 103, Ile 105, Gln 101, 및 Tyr 114로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 실시양태에서, PD-L2 상의 억제 부위는 Ile 105, Val 108, Gly 107, Ala 109, Trp 110, 및 Asp 111로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산을 포함한다.

[0078] 일부 실시양태에서, PD-1 및 면역 반응을 활성화시키는, PD-L2의 억제 부위를 차단하거나 무력화시키는 폴리펩티드가 기재된다. 다른 실시양태에서, PD-1을 억제하고 면역 반응을 억제하는, PD-L2의 활성화 부위를 차단하거나 무력화시키는 폴리펩티드가 기재된다. 예컨대, 도 3b에 도시된 바와 같이, 무력화된 억제 부위를 갖는 PD-L2의 돌연변이체는 PD-1 신호 전달을 통해 면역 반응을 활성화시킬 수 있다. 또한, 도 3a에 도시된 바와 같이, 무력화된 활성화 부위를 갖는 PD-L2의 돌연변이체는 PD-1 신호 전달을 통해 면역 반응을 억제할 수 있다.

[0079] 서열번호 1은 인간 PD-L2를 정의하는 아미노산 서열이다:

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPE
TDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSC
[0080] VFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHP.

[0081] 서열번호 21은 인간 PD-L2의 활성화 부위를 정의하는 아미노산 서열이다:

[0082] QXIXIXXXXWXYXY

[0083] 상기 식에서, X는 임의의 아미노산이다.

[0084] 서열번호 22는 인간 PD-L2의 억제 부위를 정의하는 아미노산 서열이다:

[0085] IXGVAWD

[0086] 상기 식에서, X는 임의의 아미노산이다.

[0087] 서열번호 2는 hIgG1과 융합된 인간 PD-L2를 정의하는 아미노산 서열이다:

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPE
TDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSC
VFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPIEGRMDPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
[0088] VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

[0089] 일부 실시양태에서, 서열번호 1과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 단리된 폴리펩티드 또는 이의 돌연변이체가 기재된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 1의 돌연변이체이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 활성화 부위를 차단하거나 무력화시켜 PD-1의 억제 및 면역 반응의 억제를 초래한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 21인 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 22인 아미노산 서열을 포함한다.

[0090] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 1, 21, 및 22 중 어느 하나인 아미노산 서열을 포함하고; 아미노산 서열은 면역글로불린 또는 이의 단편에 융합된다. 일부 실시양태에서, 면역글로불린은 IgG, IgM, 또는 IgA이다. 일부 실시양태에서, 면역글로불린은 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4이다. 일부 실시양태에서, 면역글로불린은 인간 면역글로불린이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 2와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 2의 돌연변이체이다.

[0091] 서열번호 3은 PD-L2의 제1 돌연변이체를 정의하는 아미노산 서열이다:

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYDDDDWLYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPE
TDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSC
VFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPIEGRMDPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
[0092] VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

[0093] 서열번호 4는 PD-L2의 제2 돌연변이체를 정의하는 아미노산 서열이다:

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIDYDDDDLYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPE
TDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSC
VFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPIEGRMDPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
[0094] VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

[0095] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 무력화된 억제 부위를 갖는 PD-L2의 돌연변이체이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 3과 적어도 60%, 62%, 65%, 67%, 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 4와 적어도 적어도 60%, 62%, 65%, 67%, 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 3과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 4와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 3인 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 4인 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 Tyr 112, Trp 110, Ile 103, Ile 105, Gln 101, 및 Tyr 114로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0096] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 활성화 부위와 유사한 결합 부위를 통해서만 PD-1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 억제 부위와 유사한 결합 부위를 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1을 활성화시킨다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1 활성화를 통해 면역 세포를 활성화시킨다. 면역 세포의 비제한적인 예는 T 세포(예컨대, Treg), B 세포, 대식세포 및 신경교세포(예컨대, 성상교세포, 소교세포 또는 희소돌기아교세포)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시키는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 암을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0097] 서열번호 5는 PD-L2의 제3 돌연변이체를 정의하는 아미노산 서열이다:

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYLCDIIYGVAWDDKYLTLKVKASYRKINTHILKVP
ETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFS
CVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPIEGRMDPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
[0098] TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

[0099] 서열번호 6은 PD-L2의 제4 돌연변이체를 정의하는 아미노산 서열이다:

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLE
EQLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYLCDIDYGVADDDKDLTLKVKASYRKINTHILKVP
ETDEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFS
CVFWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPIEGRMDPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL

[0100] TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

[0101] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 무력화된 활성화 부위를 갖는 PD-L2의 돌연변이체이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 5와 적어도 60%, 62%, 65%, 67%, 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 6과 적어도 60%, 62%, 65%, 67%, 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 또는 99 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 5와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 6과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 5인 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 6인 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 Ile 105, Val 108, Gly 107, Ala 109, Trp 110, 및 Asp 111로 이루어진 군으로부터 각각 선택되는 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0102] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 억제 부위와 유사한 결합 부위를 통해서만 PD-1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 활성화 부위와 유사한 결합 부위를 갖지 않는다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1을 억제한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1 억제를 통해 면역 세포를 억제한다. 면역 세포의 비제한적인 예는 T 세포(예컨대, Treg), B 세포, 대식세포 및 신경교세포(예컨대, 성상교세포, 소교세포 또는 희소돌기아교세포)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 자가면역 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0103] 서열번호 7은 링커 영역 상의 PD-L2의 제5 돌연변이체를 정의하는 아미노산 서열이다:

IDTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEE
QLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVDWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPET
DEVELTCQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSCV
FWNTHVRELTLASIDLQSQMEPRTHPIEGRMDPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV

[0104] DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK.

[0105] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 7과 적어도 60%, 62%, 65%, 67%, 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0106] 일부 실시양태에서, PD-1 및 면역 반응을 활성화시키는, PD-L2의 억제 부위를 차단하거나 무력화시키는 폴리펩티드가 기재된다. 예컨대, 도 2b에 도시된 바와 같이, PD-L2의 활성화 부위를 차단하는 폴리펩티드는 PD-1로부터 억제 신호를 유도할 수 있다. 또한, 도 2c에 도시된 바와 같이, PD-L2의 억제 부위를 차단하는 폴리펩티드는 PD-1로부터 활성화 신호를 유도할 수 있다.

[0107] 서열번호 11은 PD-L2에 결합하는 제1 폴리펩티드를 정의하는 아미노산 서열이다:

[0108] TSESFVLNWYRMSPS.

[0109] 서열번호 12는 PD-L2에 결합하는 제2 폴리펩티드를 정의하는 아미노산 서열이다:

[0110] FSNTSESFVLNWYRM.

[0111] 서열번호 13은 PD-L2에 결합하는 제3 폴리펩티드를 정의하는 아미노산 서열이다:

[0112] ESFVLNWYRMSP.

[0113] 일부 실시양태에서, PD-L2의 억제 부위를 차단하는 폴리펩티드가 기재된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 11과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 12와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 13과 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 11인 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 12인 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 13인 아미노산 서열을 포함한다.

[0114] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 억제 부위를 차단함으로써 PD-1을 활성화시킨다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1 활성화를 통해 면역 세포를 활성화시킨다. 면역 세포의 비제한적인 예는 T 세포(예컨대, Treg), B 세포, 대식세포 및 신경교세포(예컨대, 성상교세포, 소교세포 또는 희소돌기아교세포)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시키는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 암을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0115] 서열번호 14는 PD-L2에 결합하는 제4 폴리펩티드를 정의하는 아미노산 서열이다:

[0116] TYLCGAISLAPKAQI.

[0117] 일부 실시양태에서, PD-L2의 활성화 부위를 차단하는 폴리펩티드가 기재된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 14와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 서열번호 14인 아미노산 서열을 포함한다.

[0118] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-L2의 활성화 부위를 차단함으로써 PD-1을 억제한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1 억제를 통해 면역 세포를 억제한다. 면역 세포의 비제한적인 예는 T 세포(예컨대, Treg), B 세포, 대식세포 및 신경교세포(예컨대, 성상교세포, 소교세포 또는 희소돌기아교세포)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 자가면역 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0119] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 당업자에게 알려진 방식으로 변형될 수 있다. 예컨대, 폴리펩티드는 펩티드모방체로서 사용될 수 있다. 폴리펩티드는 이량체를 형성할 수 있다.

[0120] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 페길화될 수 있다. 페길화는 다양한 메커니즘에 의해 순환계로부터 폴리펩티드 제거를 지연시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 페길화는 단백질분해 효소에 의한 분해를 억제하고, 겉보기 분자 크기를 증가시켜 신장 여과 속도를 감소시킨다. 따라서, PEG 기반 변형은 순환 시간 및 폴리펩티드의 생체이용률을 연장하는 데 유용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 선형 PEG 분자로 페길화된다. 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 분지형 PEG 분자로 페길화된다. 본 발명은 또한 아미노-, 카르복시- 및 측쇄-페길화된 폴리펩티드를 제공한다. PEG 모이어티는 5 kDa보다 큰 분자량을 갖는 PEG 분자일 수 있다. 예컨대, 분자량은 5 kDa 내지 100 kDa(예컨대, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 kDa), 보다 바람직하게는 10 kDa 내지 50 kDa(예컨대, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 또는 50 kDa)일 수 있다. 페길화된 폴리펩티드의 합성 방법은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0121] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 검출 가능한 마커에 부착된다. 한 실시양태에서, 검출 가능한 마커는 폴리펩티드의 C-말단에 부착된다. 또 다른 실시양태에서, 검출 가능한 표지는 N-말단에 부착된다. 검출 가능한 마커는 표지된 폴리펩티드의 검출을 용이하게 하는 방사성 동위원소, 형광기, 화학발광 표지, 비색 표지, 효소 표지 및 친화성 모이어티(예컨대, 비오틴)와 같으나 이에 제한되지 않는 화학적 표지일 수 있다. 본 발명은 또한 플루오레세인 및 로다민 접합체와 같으나 이에 제한되지 않는 염료 표지된 폴리펩티드를 제공한다. 다른 화학적 표지 및 화학적 표지를 폴리펩티드에 부착하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0122] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 캐리어 분자에 부착된다. 폴리펩티드는 또한 캐리어에 결합된 적어도 하나의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 단편의 접합체로서 사용될 수 있다. 캐리어는 본 발명의 폴리펩티드에 대한 고체상 지지체를 제공할 수 있다. 캐리어는 글리코사미노글리칸, 프로테오글리칸, 또는 알부민과 같으나 이에 제한되지 않는 생물학적 캐리어일 수 있거나, 폴리알킬렌글리콜 또는 합성 크로마토그래피 지지체와 같으나 이에 제한되지 않는 합성 중합체일 수 있다. 다른 캐리어는 오브알부민, 인간 혈청 알부민, 다른 단백질 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0123] 한 측면에서, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산이 기재된다. 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 발현 벡터가 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열을 포함하고, 핵산 서열이 프로모터에 작동 가능하게 연결되는 재조합 DNA 기술 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 발현 벡터는, 예컨대 형질전환, 형질감염 등의 방법 및 폴리펩티드의 발현을 허용하는 적합한 숙주 세포에 의해 전달될 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포는 적절한 조건 하에서 배양되고 폴리펩티드가 발현된다. 한 실시양태에서, 숙주 세포는 인간 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는 포유동물 세포이다. 또 다른 실시양태에서, 숙주 세포는 박테리아, 진균 또는 곤충 세포이다. 한 실시양태에서, 폴리펩티드는 배양물로부터 회수되며, 회수는 폴리펩티드의 정제를 유도하는 단계를 포함할 수 있다. 폴리펩티드가 번역 후 변형될 수 있는 경우 재조합 기술에 의한 폴리펩티드의 제조가 유리할 수 있다. 또한, 합성 및 재조합 DNA 기술의 조합을 이용하여 폴리펩티드의 아미드 및 에스테르 유도체를 생성할 수 있을 뿐만 아니라 원하는 폴리펩티드의 단편을 생성한 다음 당업자에게 잘 알려진 방법으로 조립할 수 있다.

[0124] 인간 세포에서 핵산 서열 전달 및 폴리펩티드 발현에 적합한 발현 벡터는 당업계에 공지되어 있다. 비제한적인 예는 플라스미드, 바이러스 또는 박테리아 벡터이다.

[0125] 폴리펩티드는 또한 폴리펩티드 합성을 서비스로 제공하는 회사(예컨대, BACHEM Bioscience, Inc., King of Prussia, Pennsylvania; AnaSpec, Inc., San Jose, California)에 의해 상업적으로 제조될 수 있다. 퍼킨-엘러 어플라이드 바이오시스템스(Perkin-Elmer Applied Biosystems)에서 제조된 것과 같은 자동화된 폴리펩티드 합성 기계도 사용될 수 있다.

[0126] 본원에 기재된 방법에 유용한 폴리펩티드는 일단 화학적 또는 재조합 기술에 의해 단리되거나 합성되면 정제된다. C_4-, C_2- 또는 C_{18}-실리카와 같으나 이에 제한되지 않는 알킬화된 실리카 컬럼을 사용하는 역상 고압 액체 크로마토그래피("HPLC")를 포함하여 정제 목적을 위한 표준 방법을 이용할 수 있다. 이 방법에서는 일반적으로 유기 함량이 증가하는 구배 이동상을 사용하여 정제를 수행한다(예컨대, 일반적으로 소량의 트리플루오로아세트산을 함유하는 수성 버퍼 중의 아세토니트릴). 대안적으로, 이온 교환 크로마토그래피를 이용하여 전하를 기준으로 폴리펩티드 화합물을 분리할 수도 있다. 폴리펩티드 화합물의 순도는 HPLC로 확인된 피크의 개수로 진단될 수 있다. 일부 실시양태에서, 유용한 수준의 폴리펩티드 순도는 HPLC 크로마토그램에서 단일 피크를 초래할 수 있다. 한 실시양태에서, 관심 폴리펩티드는 HPLC 컬럼의 투입 물질의 적어도 94.99%이다. 또 다른 실시양태에서, 관심 폴리펩티드는 HPLC 컬럼의 투입 물질의 적어도 96.99%이다. 한 실시양태에서, 관심 폴리펩티드는 HPLC 컬럼의 투입 물질의 97% 내지 99.5%이다.

[0127] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드가 면역 반응에 효과를 나타내는지의 여부를 결정하는 방법은 루시퍼라제 검정이다. 일부 실시양태에서, 저캇 PD-1 세포가 루시퍼라제 검정에 사용된다.

[0128] **약학 조성물**

[0129] 한 측면에서, 본원에 개시된 하나 이상의 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물이 기재된다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 약학 조성물에서 리포솜에 캡슐화된다.

[0130] 일부 실시양태에서, 이온 교환제, 알루미나, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 비-알부민 혈청 단백질, 버퍼 물질(예컨대, 포스페이트, 글리신, 소르브산, 칼륨 소르베이트), 및 포화 식물성 지방산의 부분 글리세리드 혼합물, 물, 염 또는 전해질(예컨대, 프로타민 술페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연염, 콜로이드성 실리카, 삼규산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스 기반 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 중합체 및 양모 지방)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 담체가 약학 조성물에 사용될 수 있다. 이러한 변형은 겉보기 친화성을 증가시키고 폴리펩티드의 안정성을 변화시킬 수 있다. 각각의 담체에 결합된 폴리펩티드 단편의 수는 다양할 수 있지만, 전형적으로 담채 분자당 약 4 내지 8개의 폴리펩티드 단편이 표준 커플링 조건 하에서 결합된다.

[0131] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 또한 염 형태로 제조되고 저장될 수 있다. 폴리펩티드의 다양한 염 형태는 또

한 당업계에 알려진 임의의 다양한 방법, 예컨대 다양한 이온 교환 크로마토그래피 방법을 이용하여 형성되거나 상호교환될 수 있다. 조성물에 사용될 수 있는 양이온 카운터 이온은 아민(예컨대, 암모늄 이온), 금속 이온, 특히 알칼리 금속의 1가, 2가 또는 3가 이온(예컨대, 나트륨, 칼륨, 리튬 및 세슘); 알칼리 토금속(예컨대, 칼슘, 마그네슘, 바륨); 전이 금속(예컨대, 철, 망간, 아연, 카드뮴 및 몰리브덴); 알루미늄과 같은 다른 금속; 및 이들의 가능한 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본원에 기재된 조성물에 사용될 수 있는 음이온 카운터 이온은 클로라이드, 플루오라이드, 아세테이트, 트리플루오로아세테이트, 포스페이트, 술페이트, 카르보네이트, 시트레이트, 아스코르베이트, 소르베이트, 글루타레이트, 케토글루타레이트 및 이들의 가능한 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본원에 기재된 폴리펩티드 화합물의 트리플루오로아세테이트 염은 전형적으로 HPLC를 이용하여 트리플루오로아세트산 버퍼에서 정제하는 동안 형성된다. 일반적으로 생체내 사용에는 적합하지 않지만, 본원에 기재된 폴리펩티드의 트리플루오로아세테이트 염 형태는 관심 폴리펩티드 화합물의 다양한 시험관내 세포 배양 연구, 검정 또는 활성 또는 효능 시험에 편리하게 사용될 수 있다. 이어서, 폴리펩티드는 이온 교환 방법에 의해 트리플루오로아세테이트 염으로부터 전환되거나 약학 또는 식이 보충제 조성물에 허용되는 염 형태로 합성될 수 있다.

[0132] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 다양한 경로 또는 방식에 의해 전달될 수 있다. 이는 비경구, 경구, 기관내, 설하, 폐, 국소, 직장, 비강, 협측, 설하, 질 또는 이식 저장소를 통한 투여를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이식된 저장소는 기계적, 삼투성 또는 다른 수단으로 기능할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "비경구"는 정맥내, 두개내, 복강내, 척추주위, 관절주위, 골막, 피하, 피내, 동맥내, 근육내, 관절내, 윤활막내, 흉골내, 척수강내, 및 병변 내 주사 또는 주입 기술을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이러한 조성물은 비경구 투여용으로 제형화되며, 대부분 정맥내, 두개내 또는 동맥내 투여용으로 제형화된다. 일반적으로, 투여가 정맥내 또는 동맥내인 경우, 약학 조성물은 분리된 용량으로 볼루스로 제공될 수 있다.

[0133] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 멸균 주사용 제제, 예컨대 멸균 주사용 수성 현탁액 형태일 수 있다. 이 현탁액은 적합한 분산제 또는 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 멸균 주사용 제제는 또한 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매 중 멸균 주사용 용액 또는 현탁액, 예컨대 1,3-부탄디올 중 용액일 수 있다. 사용될 수 있는 허용되는 용매는 만니톨, 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 또한, 멸균 고정 오일은 일반적으로 용매 또는 현탁 매질로 사용된다. 이러한 목적을 위해, 합성 모노글리세리드 또는 디글리세리드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 순한 고정 오일을 사용할 수 있다. 올레산 및 이의 글리세리드 유도체와 같은 지방산은 올리브유 또는 피마자유와 같은 천연 약학적으로 허용되는 오일과 마찬가지로 주사제 제조에 유용하다.

[0134] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 캡슐, 정제, 캐플릿, 환제, 수성 현탁액 및 용액, 또는 시럽을 통해 경구 투여될 수 있다. 경구용 정제의 경우, 락토스, 옥수수 전분을 포함하지만 이에 제한되지 않는 담체를 사용할 수 있다. 마그네슘 스테아레이트와 같지만 이에 제한되지 않는 윤활제도 때때로 첨가된다. 캡슐 형태의 경구 투여의 경우, 유용한 희석제는 락토스 및 건조 옥수수 전분을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 장기간 발현이 필요한 경우, 지연 또는 지속 방출을 위해 캡슐, 정제, 환제 및 캐플릿이 제형화될 수 있다. 대안적으로, 경구 수성 현탁액이 투여되어야 하는 경우, 폴리펩티드는 유화제 및/또는 현탁화제와 유리하게 조합된다. 원하는 경우, 특정 감미제 및/또는 향미제 및/또는 착색제가 첨가될 수 있다. 한 실시양태에서, 경구 투여용 제제는 소화계에 의한 폴리펩티드 화합물의 가수분해를 방지하거나 억제하여 혈류로의 흡수를 허용하는 혼합물로 본원에 기재된 폴리펩티드를 제공한다.

[0135] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 점막으로(예컨대, 질 또는 직장으로) 투여될 수 있다. 이들 용량은 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드를 적합한 비-자극성 부형제와 혼합함으로써 제조될 수 있으며, 이는 실온에서는 고체이지만 체온에서는 액체이므로 관련 체강에서 상태를 액체 형태로 변화시켜 활성 화합물을 방출할 것이다. 이러한 용매의 예는 코코아 버터, 밀랍 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 그러나, 비강 또는 폐 전달과 같은 다른 점막 부위의 경우, 코 점막을 통해 흡수되거나 폐로 흡입될 수 있다. 이러한 투여 방식은 전형적으로 조성물이 용액, 액체 현탁액 또는 분말의 형태로 제공되고, 이어서 에어로졸 또는 액적 또는 입자의 현탁액을 생성하도록 공기, 산소, 질소 또는 이들의 조합과 같은 기체와 혼합될 것을 요구한다. 이들 제조는 약학적 제형 분야의 잘 알려진 기술에 따라 수행된다. 이들 제제는 벤질 알콜 또는 다른 적합한 보존제, 생체이용률을 향상시키기 위한 흡수 촉진제, 플루오로카본 및 당업계에 공지된 가용화제 또는 분산제를 사용하여 식염수 중 용액으로 제조될 수 있다.

[0136] 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 하나 이상의 추가 치료제를 추가로 포함한다.

[0137] 예시적인 추가 치료제는 시토카인, 화학치료제, 방사성핵종, 다른 면역치료제, 효소, 항생제, 항바이러스제(예컨대, HIV 또는 B형 또는 C형 간염 치료를 위해 단독으로 또는 뉴클레오시드와 조합하여 프로테아제 억제제), 항-기생충(예컨대, 기생충 또는 원생동물), 성장 인자, 성장 억제제, 호르몬, 호르몬 길항제, 항체 및 이의 생체활성 단편(예컨대, 인간화, 단쇄 및 키메라 항체), 항원 및 백신 제형(애주번트 포함), 폴리펩티드 약물, 소염제, 선천성 면역계를 활성화시키기 위해 Toll 유사 수용체(CpG 올리고뉴클레오티드를 포함하지만 이에 제한되지 않음)에 결합하는 리간드, 적응 면역계를 동원하고 최적화하는 분자, 세포독성 T 림프구, NK 세포 및 헬퍼 T 세포의 작용을 활성화시키거나 상향조절하는 다른 분자, 및 억제 또는 조절 T 세포를 불활성화시키거나 하향조절하는 다른 분자를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0138] 추가 치료제는 치료될 병태, 장애 또는 질환에 따라 선택된다. 예컨대, 본원에 기재된 폴리펩티드는 면역 반응을 향상 또는 촉진하거나 면역 반응을 감소 또는 억제하는 기능을 하는 하나 이상의 추가 작용제와 공동투여될 수 있다.

[0139] *화학치료제*

[0140] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 폴리펩티드는 하나 이상의 화학치료제 또는 프로-아폽토시스제와 조합될 수 있다. 대표적인 화학치료제는 암사크린, 블레오마이신, 부술판, 카페시타빈, 카르보플라틴, 카르무스틴, 클로람부실, 시스플라틴, 클라드리빈, 클로파라빈, 크리산타스파제, 사이클로포스파미드, 시타라빈, 다카르바진, 닥티노마이신, 다우노루비신, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에토포시드, 플루다라빈, 플루오로우라실, 젬시타빈, 히드록시카르바미드, 이다루비신, 이포스파미드, 이리노테칸, 류코보린, 리포솜 독소루비신, 리포솜 다우노루비신, 로무스틴, 멜팔란, 메르캅토퓨린, 메스나, 메토트렉세이트, 미토마이신, 미톡산트론, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 페메트렉시드, 펜토스타틴, 프로카르바진, 랄티트렉세드, 사트라플라틴, 스트렙토조신, 테가푸르-우라실, 테모졸로미드, 테니포시드, 티오테파, 티오구아닌, 토포테칸, 트레오술판, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 비노렐빈 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 대표적인 프로-아폽토시스제는 플루다라빈타우로스포린, 사이클로헥시미드, 악티노마이신 D, 락토실세라미드, 15d-PGJ(2) 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0141] *면역억제제*

[0142] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 폴리펩티드는 다른 면역 치료제, 면역 조절제, 공동자극 활성화 효능제, 다른 시토카인 및 케모카인 및 인자, 백신, 종양 용해성 바이러스, 세포 요법, 소분자 및 표적 요법, 화학 요법 및 방사선 요법과 조합하여 사용된다. 일부 실시양태에서, 면역 조절제는 항-PD1, 항-CTLA4, 항-TIM3 및 항-LAG3과 같으나 이에 제한되지 않는 체크 포인트 억제제를 포함한다. 일부 실시양태에서, 공동자극 활성화 효능제는 항-OX40, 항-GITR 등을 포함한다. 일부 실시양태에서, 세포 요법은 조작된 T 세포, CAR-T, TCR-T 세포 등을 포함한다.

[0143] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 폴리펩티드는 다른 면역 치료제, 면역 조절제, 생물제제(예컨대, 항체), 백신, 소분자 및 표적 요법, 소염, 세포 요법(예컨대, 조작된 Treg 및 다른 유형의 세포), 화학 요법, 방사선 요법과 조합하여 사용된다.

[0144] 일부 실시양태에서, 단독으로 또는 다른 작용제와 조합하여 사용되는 본원에 개시된 폴리펩티드는 정맥내, 근육내 또는 다른 비경구 수단에 의해 환자에게 생체내 투여된다. 또한, 비강내 적용, 흡입, 직장, 질, 국소, 경구 또는 임플란트로 투여될 수 있다.

[0145] 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 면역 억제제이다. 면역억제제는 다른 림프구 표면 마커(예컨대, CD40 및 알파-4 인테그린) 또는 시토카인에 대한 항체, 융합 단백질(예컨대, CTLA-4-Ig(Orencia®) 및 TNFR-Ig(Enbrel®)), TNF-α 차단제, 예컨대 엔브렐, 레미카드, 심지아 및 후미라, 사이클로포스파미드("CTX")(예컨대, Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, 및 Revimmune™), 메토트렉세이트("MTX")(예컨대, Rheumatrex® 및 Trexall®), 벨리무맙(예컨대, Benlysta®), 다른 면역억제제제(예컨대, 사이클로스포린 A, FK506 유사 화합물, 라파마이신 화합물 및 스테로이드), 항증식제, 세포독성제, 및 면역억제에 도움이 될 수 있는 다른 화합물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0146] 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 체크포인트 억제제일 수 있다. 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 CTLA-4-Ig(아바타셉트)와 같은 CTLA-4 융합 단백질일 수 있다. CTLA-4-Ig 융합 단백질은 항원 제시 세포 상의

CD80/CD86(B7-1/B7-2)에 결합하기 위해 T 세포 상의 공동자극 수용체인 CD28과 경쟁할 수 있으므로 T 세포 활성화를 억제하는 기능을 한다. 또 다른 실시양태에서, 추가 치료제는 벨라타셉트로 알려진 CTLA-4-Ig 융합 단백질이다. 벨라타셉트는 생체내에서 CD86에 대한 결합력을 현저하게 증가시킬 수 있는 2개의 아미노산 치환(L104E 및 A29Y)을 함유한다. 또 다른 실시양태에서, 추가 치료제는 Maxy-4이다.

[0147] 또 다른 실시양태에서, 추가 치료제는 CTX이다. 사이토포스판으로도 알려진 CTX(Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, 및 Revimmune™의 일반 명칭)는 옥사조포린 그룹으로부터의 질소 머스타드 알킬화제이다. 다양한 유형의 암 및 일부 자가면역 장애를 치료하는 데 사용할 수 있다. CTX는 신장 루푸스 환자의 미만성 증식성 사구체신염에 사용되는 1차 약물이다.

[0148] 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 이를 필요로 하는 환자에서 항-이중 가닥 DNA("항-ds DNA") 자가 항체의 혈액 또는 혈청 수준을 감소시키고/시키거나 단백뇨를 감소시키기에 유효한 양으로 투여될 수 있다.

[0149] 또 다른 실시양태에서, 추가 치료제는 혈청 내 아데노신의 양을 증가시킬 수 있다(예컨대, WO 08/147482 참조). 예컨대, 제2 치료제는 CD73-Ig, 재조합 CD73, 또는 CD73의 발현을 증가시키는 또 다른 작용제(예컨대, 시토카인, 모노클로날 항체 또는 소분자)일 수 있다(예컨대, WO 04/084933 참조). 또 다른 실시양태에서, 추가 치료제는 인터페론-베타이다.

[0150] 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 Th1, Th17, Th22, 및/또는 IL-1β, TNF-α, TGF-베타, IFN-γ, IL-18 IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21, 및 MMP를 포함하지만 이를 제한되지 않는 염증 분자를 분비하거나 다른 세포가 이를 분비하도록 유발하는 다른 세포에 의한 분화, 증식, 활성, 시토카인 생성, 및/또는 시토카인 분비를 억제하거나 감소시키는 소분자일 수 있다. 다른 실시양태에서, 추가 치료제는 Treg와 상호작용하거나, Treg 활성을 향상시키거나, Treg에 의한 IL-10 분비를 촉진 또는 향상시키거나, Treg의 수를 증가시키거나, Treg의 억제 능력을 증가시키거나, 이들의 조합을 이루는 소분자이다.

[0151] 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 항체, 예컨대 IL-6, IL-23, IL-22, 또는 IL-21과 같은 전염증성 분자에 대한 기능 차단 항체이다.

[0152] 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 추가 치료제는 리보핵산을 포함한다.

[0153] **질환 치료 방법**

[0154] 또 다른 측면에서, 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0155] ITK는 면역 반응에서 중요한 역할을 한다. PD-1 신호의 유형은 ITK 및 SHP2의 균형에 따라 달라진다. 일부 실시양태에서, 도 4에 도시된 바와 같이, PD-1 신호 유형은 ITK-SHP2 비율에 따라 달라진다. 일부 실시양태에서, 도 4에 도시된 바와 같이, ITK보다 SHP2가 더 많은 경우, 억제 신호가 생성된다. 일부 실시양태에서, SHP2보다 ITK가 더 많은 경우, 자극 신호가 생성된다. 일부 실시양태에서, 암 치료에 유용한 ITK 활성화제가 기재된다. 다른 실시양태에서, 자가면역 질환 치료에 유용한 ITK 억제제가 기재된다. 일부 실시양태에서, ITK 활성화제는 소분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산이다. 일부 실시양태에서, ITK 억제제는 소분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산이다.

[0156] 또 다른 측면에서, 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 ITK 활성화제 또는 억제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0157] 일부 실시양태에서, 질환은 암 또는 자가면역 질환이다.

[0158] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 면역 세포에서 PD-1을 조절한다. 면역 세포의 비제한적인 예는 T 세포(예컨대, Treg), B 세포, 대식세포 및 신경교세포(예컨대, 성상교세포, 소교세포 또는 희소돌기아교세포)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 Treg이다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1 신호전달을 활성화시킨다. 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 PD-1 신호전달을 억제한다. 본 발명자들은 놀랍게도 일부 실시양태에서는 폴리펩티드가 면역 반응을 활성화시키는 반면, 다른 실시양태에서는 폴리펩티드가 면역 반응을 억제한다는 것을 발견하였다.

[0159] 일부 실시양태에서, ITK 활성화제는 면역 반응의 유도, 촉진 또는 향상을 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 유도, 촉진, 또는 향상시킬 수 있다. 다른 실시양태에서, ITK 억제제는 면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방할 수 있다. 일부 실시양태에서, ITK 활성화제는 소

분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산이다. 일부 실시양태에서, ITK 억제제는 소분자 화합물, 폴리펩티드, 또는 핵산이다.

[0160] 일부 실시양태에서, PD-1의 억제 부위에 결합하는 소분자가 또한 기재된다. 일부 실시양태에서, PD-1의 억제 부위에 결합하는 소분자는 면역 반응의 감소, 억제, 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 감소, 억제, 또는 예방할 수 있다. 일부 실시양태에서, PD-1의 억제 부위에 결합하는 소분자는 자가면역 질환을 치료하는 데 유용할 수 있다.

[0161] *암*

[0162] 일부 실시양태에서, 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드의 유효량을 투여함으로써 PD-1 신호전달을 조절하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 암의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 활성화제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다.

[0163] 일부 실시양태에서, 암은 방광암, 뇌암, 유방암, 자궁경부암, 결장직장암, 식도암, 신장암, 간암, 폐암, 비인두암, 췌장암, 전립선암, 피부암, 위암, 자궁암, 난소암, 고환암, 성인 T 세포 백혈병/림프종 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0164] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 백혈병을 치료하는 데 유용하다. 일부 실시양태에서, PD-1을 활성화시키는 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 백혈병을 치료하는 데 유용하다. 이들 실시양태에서, PD-1을 활성화시키는 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 면역 반응 자극 치료제로서 생체내 및 생체외에서 유용하다. PD-1을 활성화시키는 능력은 더욱 강력한 면역 반응을 가능하게 한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 또한 T 세포와 관련된 면역 자극 또는 활성화 반응을 자극하거나 향상시키는 데 유용하다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 PD-1을 선택적으로 활성화시킴으로써 백혈병을 치료하기 위해 숙주에서 면역 반응을 자극하거나 향상시키는 데 유용하다. 이들 실시양태에서, 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 대상체에서 T 세포를 자극하는 데 효과적인 양으로 대상체에게 투여될 수 있다. 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물로 치료될 수 있는 백혈병의 유형은 급성 골수성 백혈병("AML"), 만성 골수성 백혈병("CML"), 급성 림프구성 백혈병("ALL"), 만성 림프구성 백혈병("CLL"), 성인 T 세포 백혈병/림프종("ATLL"), 및 만성 골수단구성 백혈병("CMML")을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0165] 일부 실시양태에서, ATLL은 거의 독점적으로 성인에게서 진단되며, 평균 연령은 60대 중반이다. 일부 실시양태에서, ATLL에는 4가지 유형이 있다: (1) 급성, (2) 만성, (3) 무증상, 및 (4) 림프종성. 일부 실시양태에서, 급성 ATLL은 가장 일반적인 형태이며, 높은 백혈구 수, 고칼슘혈증, 장기종대 및 높은 락토스 디히드로게나제를 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 림프종성 ATLL은 순환 림프구가 1% 미만인 림프절에서 나타난다. 일부 실시양태에서, 만성 및 무증상 ATLL은 덜 공격적인 임상 경과를 특징으로 하며 장기 생존을 가능하게 한다. 일부 실시양태에서, 급성 및 림프종성 ATLL의 4년 생존율은 5% 미만이다. 일부 실시양태에서, ATLL의 만성 및 무증상 형태는 각각 26.9% 및 62%의 4년 생존율을 갖는다. 일부 실시양태에서, 성인 T 세포 백혈병/림프종은 HTLV-1에 의해 유발된다.

[0166] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 ATLL을 치료하는 데 유용하다. 일부 실시양태에서, PD-1을 활성화시키는 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 ATLL을 치료하는 데 유용하다. 일부 실시양태에서, ATLL 세포는 활성화된 헬퍼/유도자 T 세포 표현형을 나타내지만 강한 면역억제 활성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, PD-1을 활성화시키는 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 ATLL 세포의 면역억제 반응을 감소시킨다. 다른 실시양태에서, PD-1을 활성화시키는 본원에 개시된 폴리펩티드 및 조성물은 ATLL 세포의 강력한 면역억제 활성을 극복하기 위해 면역 자극 반응을 증가시킨다.

[0167] *자가면역 질환*

[0168] 일부 실시양태에서, 자가면역 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드의 유효량을 투여함으로써 PD-1 신호전달을 조절하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 자가면역 질환의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 유효량의 ITK 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환을 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다.

[0169] 자가면역 질환의 비제한적인 예는 이완불능증, 애디슨병, 성인형 스틸병, 무감마글로불린혈증, 원형 탈모증, 아밀로이드증, 강직성 척추염, 항사구체 기저막 질환, 항세뇨관 기저막 항체 신염, 항인지질 증후군, 자가면역 혈

관부종, 자가면역 자율신경 장애, 자가면역 뇌척수염, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 자가면역 췌장염, 자가면역 망막병증, 자가면역 두드러기, 축삭 및 뉴런 신경병증, 발로병, 베체트병, 양성 점막 유천포창, 수포성 유천포창, 캐슬만병, 복강병, 샤가스병, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, 만성 재발성 다초점 골수염, 처그-스트라우스 증후군, 호산구성 육아종증, 반흔성 유천포창, 코건 증후군, 저온 응집소 질환, 선천성 심장 차단, 콕사키 심근염, CREST 증후군, 크론병, 포진성 피부염, 피부근염, 데빅병(시신경척수염), 원판상 루푸스, 드레슬러 증후군, 자궁내막증, 호산구성 식도염, 호산구성 근막염, 결절성 홍반, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 에반스 증후군, 섬유근통, 섬유성 폐포염, 거대세포 동맥염(측두 동맥염), 거대세포 심근염, 사구체신염, 굿파스처 증후군, 다발혈관염을 동반한 육아종증, 그레이브스 질환, 길랭-바레 증후군, 하시모토 갑상선염, 용혈성 빈혈, 헤노흐-쇤라인 자반증, 임신 유천포창, 화농성 한선염(전위 여드름), 저감마글로불린혈증, IgA 신장병증, IgG4 관련된 경화성 질환, 면역 혈소판감소성 자반증, 봉입체 근염, 간질성 방광염, 소아 관절염, 소아 당뇨병(제1형 당뇨병), 소아 근염, 가와사키병, 램버트-이튼 증후군, 백혈구파괴 혈관염, 편평태선, 경화 태선, 목질 결막염, 선형 IgA 질환, 루푸스, 만성 라임병, 메니에르병, 현미경적 다발혈관염, 혼합 결합 조직병, 무렌 궤양, 무하-하버만 질환, 다초점 운동 신경병증, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 근염, 기면증, 신생아 루푸스, 시신경척수염, 호중구감소증, 눈 반흔성 유천포창, 시신경염, 회문성 류머티즘, 소아 자가면역 신경정신 장애, 부종양 소뇌 변성, 발작성 야간 혈색소뇨증, 패리롬버그 증후군, 평면부염(말초 포도막염), 파소나지-터너 증후군, 천포창, 말초 신경병증, 정맥주위 뇌척수염, 악성 빈혈, POEMS 증후군, 결절성 다발동맥염, 제I형 다선 증후군, 제II형 다선 증후군, 제III형 다선 증후군, 류마티스성 다발근통, 다발근염, 심근경색후 증후군, 심낭막절개술후 증후군, 원발성 담즙성 간경변, 원발성 경화성 담관염, 프로게스테론 피부염, 건선, 건선성 관절염, 순수 적혈구 무형성증, 괴저성 농피증, 레이노 현상, 반응성 관절염, 반사 교감신경 이상증, 재발성 다발연골염, 하지 불안 증후군, 후복막 섬유증, 류마티스열, 류마티스 관절염, 유육종증, 슈미트 증후군, 공막염, 경피증, 쇼그렌 증후군, 정자 및 고환 자가면역, 강직 인간 증후군, 아급성 세균성 심내막염, 수삭 증후군, 교감성 안염, 타카야스 동맥염, 측두 동맥염(거대세포 동맥염), 혈소판감소성 자반증, 톨로사-헌트 증후군, 횡단 척수염, 궤양성 대장염, 미분화 결합 조직 질환, 포도막염, 혈관염, 백반증, 보그트-코야나기-하라다 질환, 및 이들의 조합을 포함한다.

[0170] **등가물**

[0171] 하기의 대표적인 실시예는 본 발명을 예시하는 데 도움을 주기 위한 것이며, 본 발명의 범위를 제한하려는 의도가 없으며, 제한하는 것으로 해석되어서도 안 된다. 실제로, 본원에 도시되고 기재된 것 외에 본 발명의 다양한 변형 및 이의 많은 추가 실시양태는 하기의 실시예 및 과학 문헌 및 본원에 인용된 특허 문헌에 대한 참조를 포함하여 본 문서의 전체 내용으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 인용된 참조문헌의 내용은 최신 기술을 설명하는 데 도움을 주기 위해 본원에 참조로 포함된다는 것도 이해해야 한다. 하기의 실시예는 본 발명의 다양한 실시양태 및 등가물을 실시하는 데 적용될 수 있는 중요한 추가 정보, 예시 및 지침을 포함한다.

[0172] **실시예**

[0173] **실시예 1. 생물학적 검정**

[0174] 저캇-PD-1-NFAT 리포터 세포주(BPS Bioscience)("PD-1 리포터 세포")를 공급업체의 사양에 따라 배양하였다. PD-1 리포터 세포를 384 웰 플레이트에 20,000개 세포/웰로 분배하였다. 그룹 1 세포는 처리되지 않았다. 그룹 2 및 3 세포는 T 세포 확장 및 활성화(100:1 V/V 세포:비드 비율)를 위해 Gibco™ Dynabeads™ 인간 T-활성화제 CD3/CD28을 사용하여 활성화되었다. 활성화 전, 그룹 3 세포를 서열번호 14의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드와 5배 과량의 양으로 15분 동안 사전 인큐베이션하였다. 모든 세포는 5% CO_2와 함께 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션되었다.

[0175] 24시간 인큐베이션 후, 루시퍼라제 시약(One-Step, Thermo Fisher Scientific)을 1:1 V/V 비율로 첨가하고, 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 발광은 바리오스캔 인스트루먼트(Varioscan Instrument, Thermo Fisher Scientific)에서 100 ms 설정으로 측정되었다. 3가지 세포 그룹의 RLU가 도 1에 나타나 있다.

[0176] **실시예 2. 폴리펩티드 설계**

[0177] 도 2 및 3은 본원에 기재된 폴리펩티드의 설계를 나타낸다. 도 2a는 PD-L2가 PD-1에 결합할 때 2개의 상호작용 부위를 가지고 있음을 나타낸다: 하나는 억제 부위이고 다른 하나는 활성화 부위이다. 도 2b는 폴리펩티드가 PD-L2의 활성화 부위를 차단할 때 PD-L2가 억제 부위를 통해서만 PD-1에 결합하고 이에 따라 PD-1로부터 억제 신호를 유도한다는 것을 나타낸다. 또한, 도 2c에 도시된 바와 같이, PD-L2의 억제 부위를 차단하는 폴리펩티드

의 경우, PD-L2는 활성화 부위를 통해서만 PD-1에 결합하고 이에 따라 PD-1로부터 활성화 신호를 유도하였다.

[0178] 도 3은 PD-L2 돌연변이체의 설계를 나타낸다. 도 3a에 도시된 바와 같이, 무력화된 활성화 부위를 갖는 PD-L2의 돌연변이체는 억제 부위를 통해서만 PD-1에 결합하였다. PD-1에 대한 이러한 결합은 PD-1 신호 전달을 통해 면역 반응을 억제할 수 있다. 또한, 도 3b에 도시된 바와 같이, 무력화된 억제 부위를 갖는 PD-L2의 돌연변이체는 활성화 부위를 통해서만 PD-1에 결합하고 PD-1 신호 전달을 통해 면역 반응을 활성화시켰다.

[0179] **실시예 3. ITK 조절**

[0180] 도 4 및 5는 ITK의 조절 및 면역 반응에 대한 이의 효과를 나타낸다. 도 4에 도시된 바와 같이, ITK보다 SHP2가 더 많을 때 억제 신호가 생성되었다. 그러나, SHP2보다 ITK가 더 많으면 자극 신호가 생성되었다. ITK 및 SHP2의 양이 같을 때 면역 반응은 억제되거나 활성화되었다. 도 5는 SHP2가 업스트림 PD-1 경로에 의해 조절되고 ITK가 업스트림 T 세포 수용체(TCR) 경로에 의해 영향을 받는다는 것을 나타낸다. 따라서, ITK 활성화제는 면역 반응을 향상시키는 효과를 갖고, ITK 억제제는 면역 반응을 억제할 수 있다. 도 6(48시간 동안 활성화된 T 세포, Ab/리간드를 갖는 IP)은 PD-1에 결합된 SHP2 및 ITK의 수준을 추가로 나타낸다. 사전 활성화된 1차 마우스 CD4 T 세포를 PD-L1-IgG, PD-L2-IgG 또는 항-PD-1 마우스 차단 항체(클론 RMP1-14)로 처리한 지 5분 후에 PD-1을 비드로 면역 침전시켰다. 웨스턴 블롯("WB") 검정은 상이한 처리 후 PD-1 결합 ITK 및 SHP2의 수준을 결정하는 데 사용되었으며, 대조군 Ab에 비해 PD-L2 후 ITK/SHP2 비율은 증가하고 PD-L1 처리 후 ITK/SHP2 비율은 약간 감소한 것으로 나타났다.

[0181] **실시예 4. PD-L2는 중추 기억 T 세포("Tcm")를 증가시키고 및 T 세포 고갈을 방지함**

[0182] 도 7a에 도시된 바와 같이, 유동 세포 측정으로 분류된 인간 CD4 T 세포(BioIVT)를 72시간 동안 Dyna 비드(Gibco)(항-CD3 및 항-CD28 항체로 코팅됨) 및 IL-2(100 U/mL - R&D Systems)로 자극하였다. 72시간 후, 세포를 25 μg/mL 농도의 PD-L2-IgG로 처리하였다. 대조군 웰은 처리되지 않은 채로 두었다. 처리 48시간 후, 세포를 수집하고, 세척하고, 형광단 표지된 항체로 염색하고, 유동 세포측정으로 분석하였다. Tcm은 $CD45RO^{high}/CD62L^{high}/CD45RA^{low}$로 정의되었다. 고갈된 T 세포 또는 말단 이펙터 T 세포("Tte")는 $CD45RO^{low}/CD62L^{low}/CD45RA^{high}$로 정의되었다. 도 7b-7c에 나타난 바와 같이, PD-L2-IgG 처리는 Tcm의 상당한 증가(*p<0.05, 도 7b) 및 Tte의 상당한 감소(*p<0.05, 도 7c)를 초래하였다.

[0183] **실시예 5. PD-L2는 Tcm 생성 및 고갈 방지에 필요함**

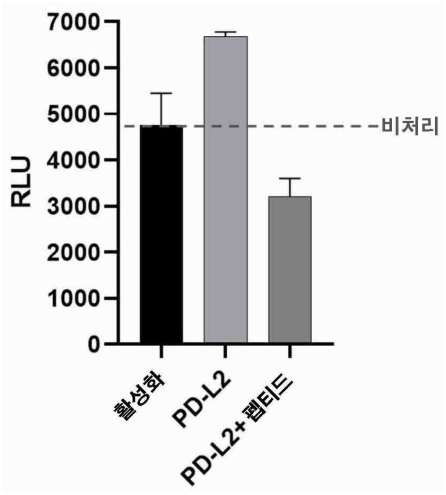
[0184] 도 8a에 도시된 바와 같이, 유동 세포측정으로 분류된 인간 CD4 T 세포(BioIVT)를 24시간 동안 Dyna 비드(Gibco)(항-CD3 및 항-CD28 항체로 코팅됨) 및 IL-2(100 U/mL - R&D Systems)로 자극하였다. 24시간 후, 세포를 100 μg/mL 농도의 항-PD-L2 항체로 처리하거나 처리하지 않은 채로 두었다. 처리 48시간 후, 세포를 수집하고, 세척하고, 형광단 표지된 항체로 염색하고, 유동 세포측정으로 분석하였다. Tcm은 $CD45RO^{high}/CD62L^{high}/CD45RA^{low}$로 정의되었다. Tte는 $CD45RO^{low}/CD62L^{low}/CD45RA^{high}$로 정의되었다. 도 8b-8c에 나타난 바와 같이, 항-PD-L2 항체로 PD-2에 대한 PD-L2 결합을 차단하는 것은 Tcm 생성을 방지하고(****p<0.0001, 도 8b) Tte를 상당히 증가시켰다(도 8c).

[0185] **실시예 6. PD-L2는 CD4 및 CD8 T 세포의 활성화 개시에 필요함**

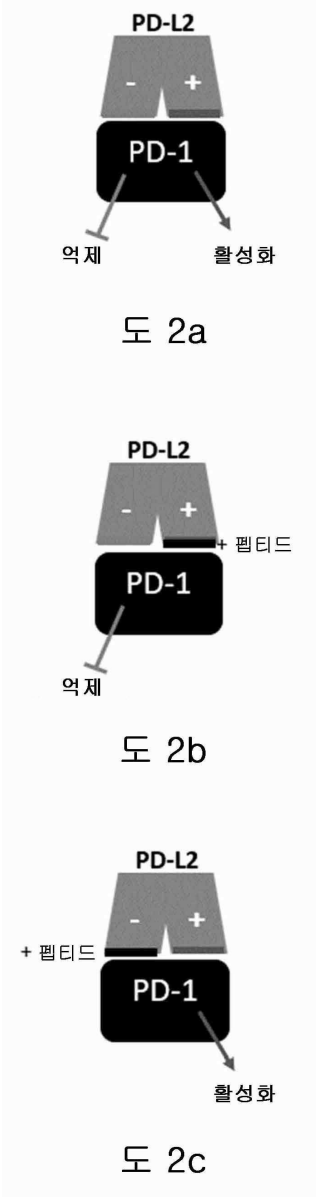
[0186] 유동 세포측정으로 분류된 인간 CD4 및 CD8 T 세포(BioIVT)를 24시간 동안 Dyna 비드(Gibco)(항-CD3 및 항-CD28 항체로 코팅됨) 및 IL-2(100 U/mL - R&D Systems)로 자극하였다. 24시간 후, 세포를 100 μg/mL 농도의 항-PD-L2 항체로 처리하거나 처리하지 않은 채로 두었다. 처리 48시간 후, 세포 및 상청액을 수집하였다. CBA 검정(BD Biosciences)을 이용하여 상층액을 IFNg 및 TNF에 대해 분석하였다. 세포를 세척하고, 형광단 표지된 항체로 염색한 후, 유동 세포측정으로 분석하였다. CD4 T 세포 상의 CD25 발현, CD8 T 세포 내의 그랜자임 B 및 IFNg을 활성화 및 기능성의 척도로 사용하였다. 도 9a에 나타난 바와 같이, 항-PD-L2 처리는 CD4 T 세포에 대한 시토카인 생성을 억제하였을 뿐만 아니라 CD4 T 세포 활성화를 감소시켰다(도 9b에 나타남). 유사하게, PD-L2 차단은 CD8 T 세포 상에서 CD25 발현을 감소시켰고(도 9c에 나타남), 세포내 그랜자임 B 및 IFNg를 감소시켰다(도 9d에 나타남).

도면

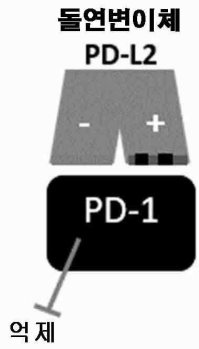
도면1



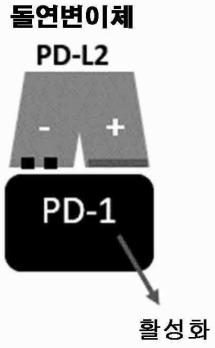
도면2



도면3

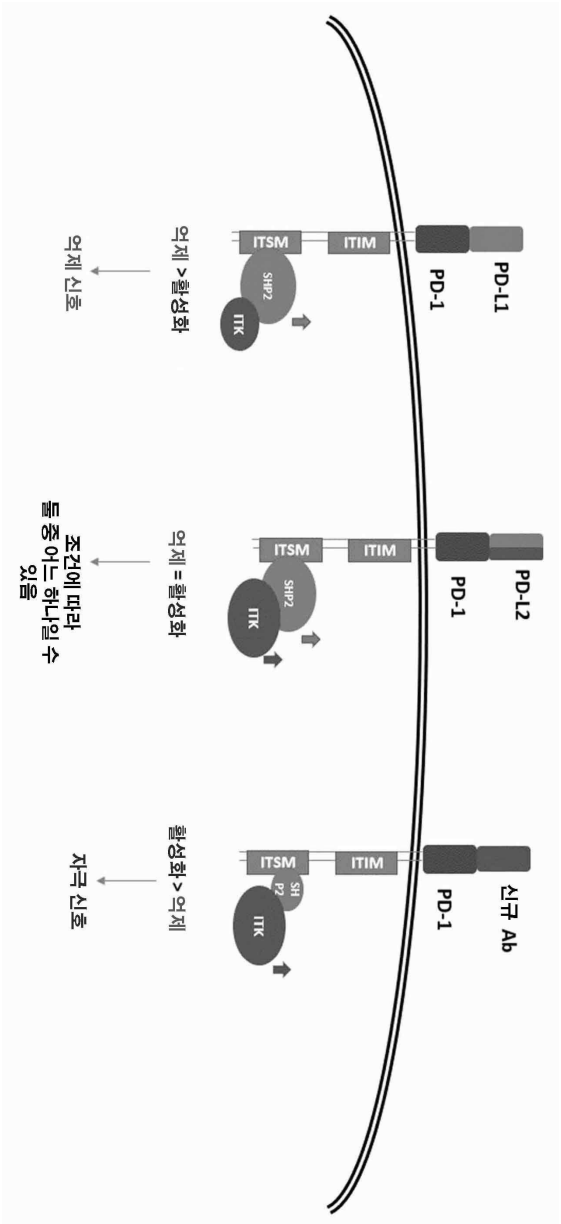


도 3a

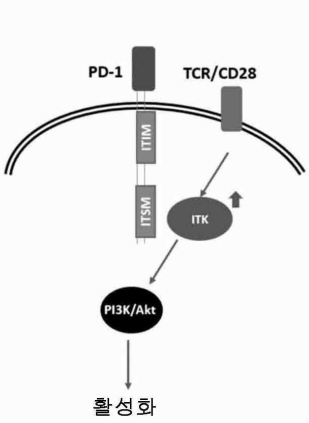


도 3b

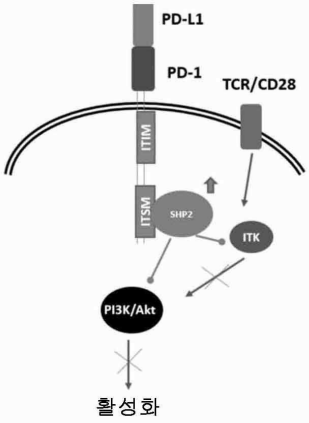
도면4


PD-L1
PD-1
ITSM
ITIM
SHP2
ITK
억제 > 활성화
억제 신호
PD-L2
PD-1
ITSM
ITIM
SHP2
ITK
억제 = 활성화
조건에 따라
둘 중 어느 하나일 수
있음
신규 Ab
PD-1
ITSM
ITIM
SH
P2
ITK
활성화 > 억제
자극 신호

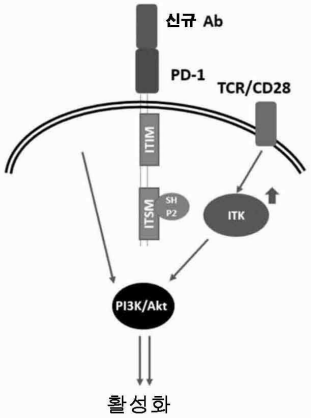
도면5



도 5a

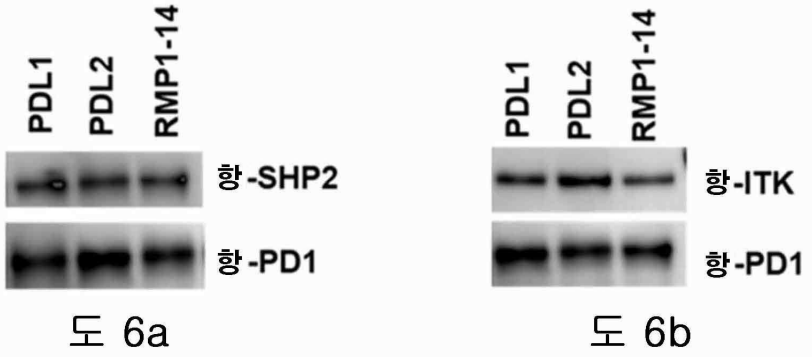


도 5b



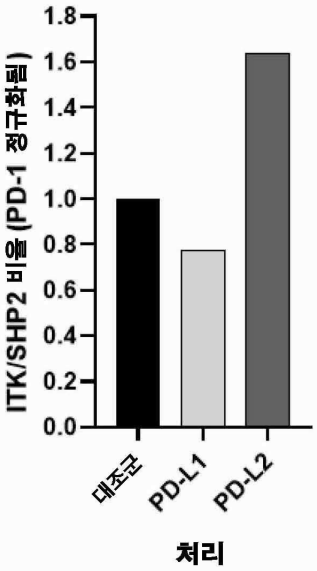
도 5c

도면6



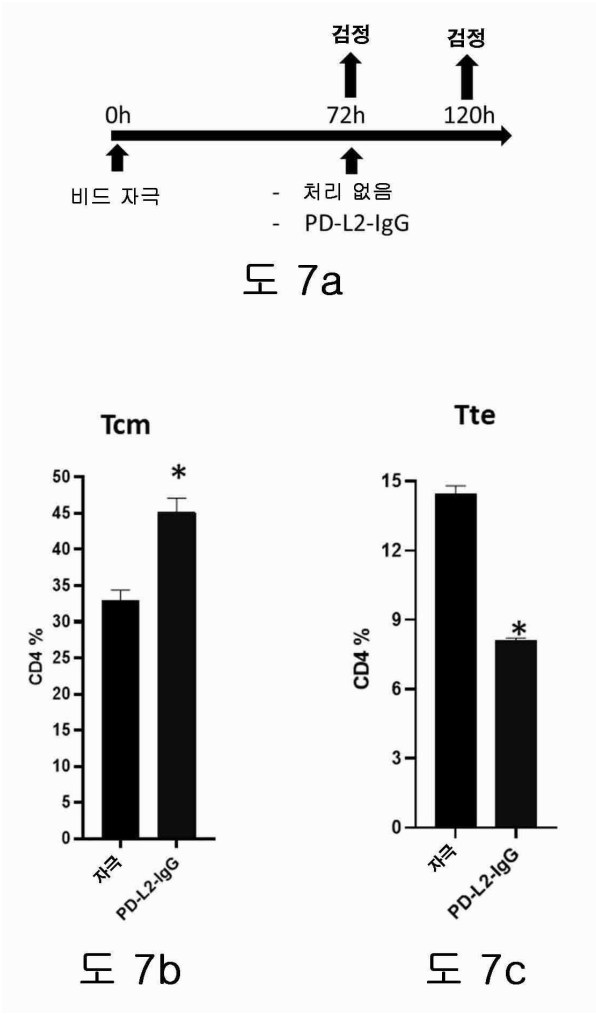
도 6a

도 6b



도 6c

도면7

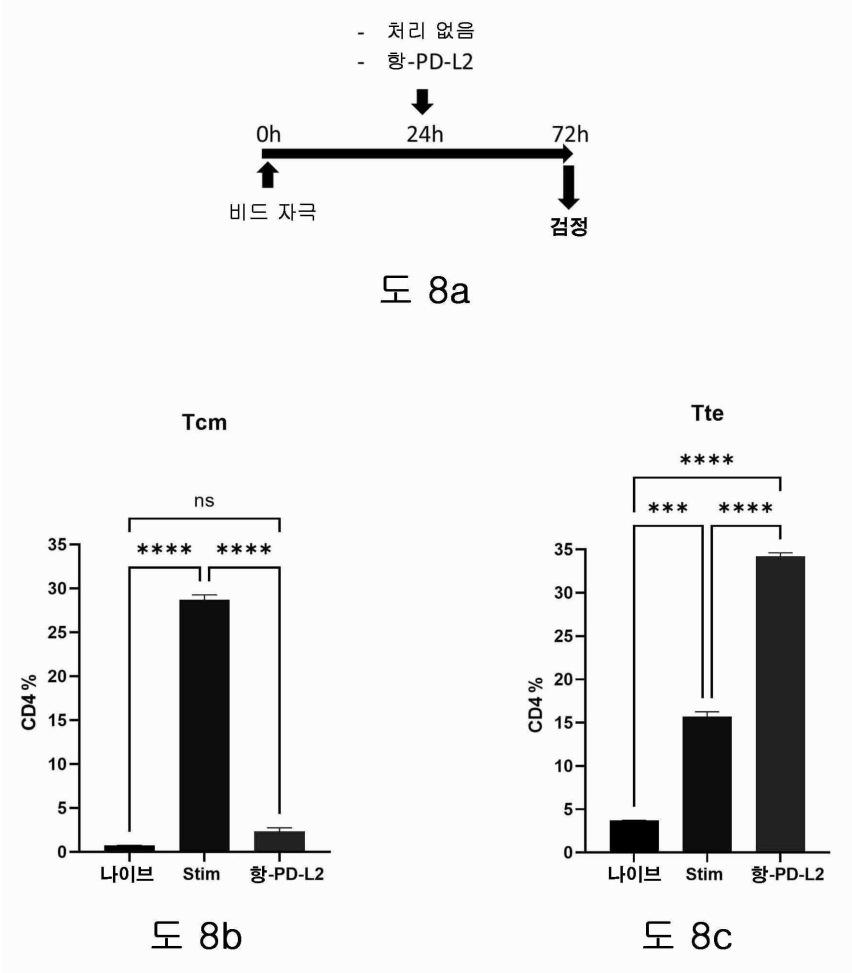


도 7a

도 7b

도 7c

도면8

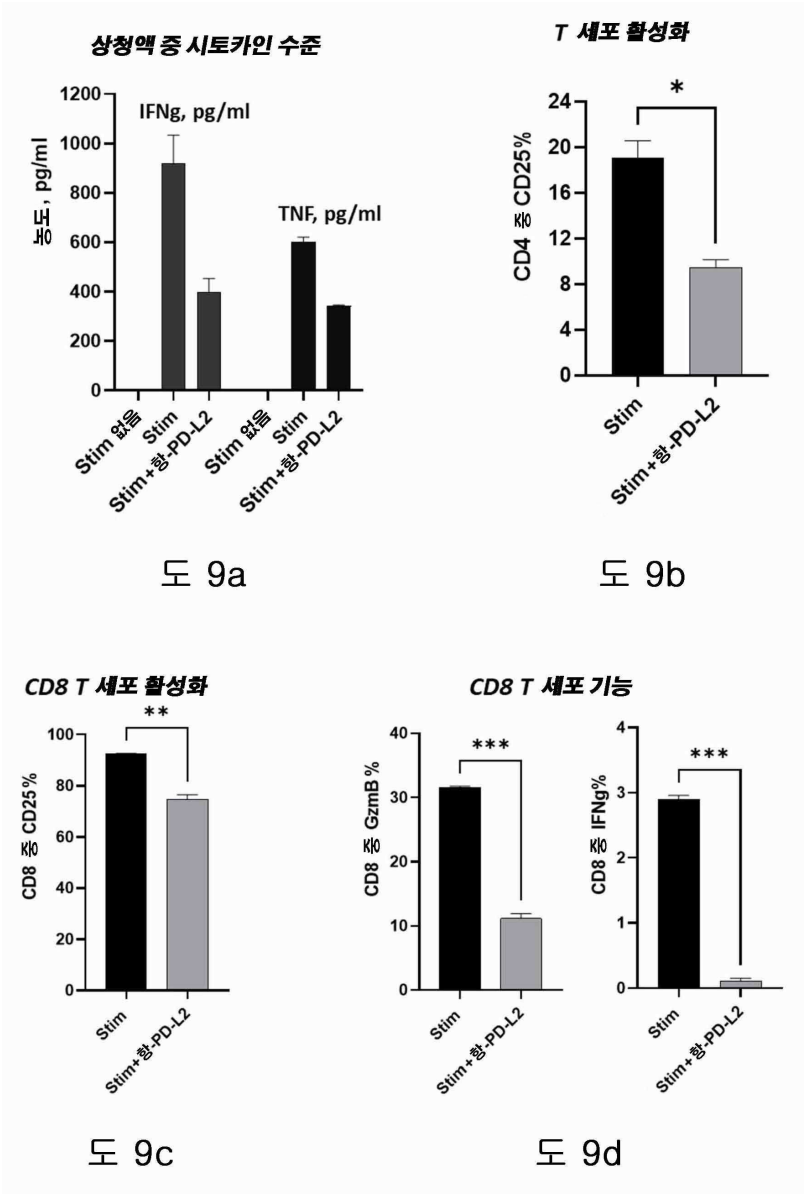


도 8a

도 8b

도 8c

도면9



도 9a 도 9b

도 9c 도 9d

서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

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