

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2020-0093518
(43) 공개일자 2020년08월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G16H 50/30 (2018.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
G06F 16/28 (2019.01) *G16H 50/20* (2018.01)
G16H 50/50 (2018.01) *G16H 50/70* (2018.01)
- (52) CPC특허분류
G16H 50/30 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7004659
(22) 출원일자(국제) 2018년07월20일
심사청구일자 2020년03월19일
(85) 번역문제출일자 2020년02월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/043074
(87) 국제공개번호 WO 2019/018757
국제공개일자 2019년01월24일
(30) 우선권주장
62/535,605 2017년07월21일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
파운데이션 메디신 인코포레이티드
미국 메사추세츠 02141 케임브리지 세컨드 스트리트 150
- (72) 발명자
쿠밍스, 크레이그 안토니
미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
리, 안
미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장덕순, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 148 항

(54) 발명의 명칭 암에 대한 치료 및 진단 방법**(57) 요약**

본 발명은 암에 대한 치료학적, 진단학적 및 예후적 방법을 제공한다. 본 발명은, 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터의 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수 또는 최대 체세포 대립유전자 빈도(MSAF)에 기초하여, 암을 치료하는 방법, 암을 앓는 개체가 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)를 포함하는 치료에 반응할지를 결정하는 방법, 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)를 포함하는 치료에 대한 암을 앓는 개체의 반응성을 예측하는 방법, 암을 앓는 개체에 대한 치료제를 선택하는 방법, 암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 방법 및 암을 앓는 개체의 반응을 모니터링하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/2827 (2013.01)
C12Q 1/6869 (2018.05)
G01N 33/57492 (2013.01)
G06F 16/285 (2019.01)
G16H 50/20 (2018.01)
G16H 50/50 (2018.01)
G16H 50/70 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/55 (2013.01)

(72) 발명자

폴, 새라 마가렛

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

슐레이프만, 에리카 베스

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

샤메스, 데이빗

미국 94080-4990 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

파브리izio, 데이빗

미국 02141 매사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

리버, 다니엘

미국 02141 매사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

오토, 제프리 앨런

미국 02141 매사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

케네디, 마크

미국 02141 매사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

클락, 트레비스

미국 02141 매사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

립슨, 도론

미국 02141 매사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

헤, 지에

미국 02141 매사추세츠주 케임브리지 세컨드 스트리트 150

중, 산

미국 02478 매사추세츠주 벨몬트 메이플 스트리트 80

(30) 우선권주장

62/553,034	2017년08월31일	미국(US)
62/652,843	2018년04월04일	미국(US)
62/680,516	2018년06월04일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

PD-L1 축 결합 길항제(PD-L1 axis binding antagonist)를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하는(identifying) 방법으로서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 혈액 종양 돌연변이 부담(blood tumor mutational burden: bTMB) 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 상기 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별하는, 방법.

청구항 2

암을 앓는 개체에 대한 치료제를 선택하는 방법으로서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 상기 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별하는, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 샘플로부터 결정된 bTMB 점수는 상기 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높고, 상기 방법은 상기 개체에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 샘플로부터 결정된 bTMB 점수는 상기 기준 bTMB 점수보다 낮은, 방법.

청구항 5

암을 앓는 개체를 치료하는 방법으로서,

(a) 상기 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계로서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은, 상기 결정하는 단계, 및

(b) 상기 개체에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 6

암을 앓는 개체를 치료하는 방법으로서, 상기 개체에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함하되, 상기 투여 전에 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수가 상기 개체로부터의 샘플로부터 결정된, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 상기 암을 앓는 개체의 기준 집단에서의 bTMB 점수이고, 상기 개체의 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 상기 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 상기 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성의 유의차에 기초하여 개체의 제1 하위집단 및 제2 하위집단의 각각을 유의미하게 분리시키는, 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존율(progression-free survival: PFS)의 증가인, 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 치료에 대한 반응성은 전체 생존율(overall survival: OS)의 증가인, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 예비배정된 bTMB 점수인, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 4 내지 30인, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 8 내지 30인, 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 10 내지 20인, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 10인, 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 기준 bTMB 점수는 16인, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 이상인, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 내지 100인, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 이상인, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 내지 100인, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 미만인, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 미만인, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 bTMB 점수 또는 상기 기준 bTMB 점수는 서열분석된 염기의 한정된 수에 대해 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시되는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 100kb 내지 약 10Mb인, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 1.1Mb인, 방법.

청구항 26

제24항에 있어서, 상기 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 0.8Mb인, 방법.

청구항 27

제23항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 체세포 돌연변이의 수는 (i) 계수된 단일 뉴클레오타이드 변이체(single nucleotide variant: SNV)의 수 또는 (ii) 상기 계수된 SNV의 수와 인델 돌연변이(indel mutation)의 수의 합인, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 체세포 돌연변이의 수는 상기 계수된 SNV의 수인, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 bTMB 점수 또는 상기 기준 bTMB 점수는 동등 bTMB 값인, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 동등 bTMB 값은 전장 엑솜 서열분석(whole-exome sequencing: WES)에 의해 결정되는, 방법.

청구항 31

제1항 내지 제4항 및 제7항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 상기 치료로부터의 이익은 OS의 증가인, 방법.

청구항 32

제1항 내지 제4항 및 제7항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 상기 치료로부터의 이익은 PFS의 증가인, 방법.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 상기 치료로부터의 이익은 OS 및 PFS의 증가인, 방법.

청구항 34

제3항 또는 제5항에 있어서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 최대 체세포 대립유전자 빈도(maximum somatic allele frequency: MSAF)를 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 샘플로부터의 MSAF는 1% 이상인, 방법.

청구항 35

제6항에 있어서, 상기 투여 전에 상기 개체로부터의 샘플은 1% 이상의 MSAF를 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 36

제3항 또는 제5항에 있어서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 샘플로부터의 MSAF는 1% 미만인, 방법.

청구항 37

제6항에 있어서, 상기 투여 전에 상기 개체로부터의 샘플은 1% 미만의 MSAF를 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 38

제4항에 있어서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 샘플로부터의 MSAF는 1% 이상인 것으로 결정되었고, 상기 방법은 PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 유효량의 항암 치료제를 상기 개체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 39

제4항에 있어서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 샘플로부터의 MSAF는 1% 미만인 것으로 결정되었고, 상기 방법은 유효량의 PD-L1 측 결합 길항제를 상기 개체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 40

제34항, 제36항, 제38항 및 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MSAF의 결정은 상기 bTMB 점수의 결정 전인, 방법.

청구항 41

제35항 또는 제37항에 있어서, 상기 MSAF는 상기 bTMB 점수 전에 결정된, 방법.

청구항 42

제7항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 상기 기준 집단에서 약 5% 이상의 유병률을 갖는, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 상기 기준 집단에서 약 5% 내지 약 75%의 유병률을 갖는, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 샘플로부터의 bTMB 점수는 상기 기준 집단에서 약 20% 내지 약 30%의 유병률을 갖는, 방법.

청구항 45

제1항 내지 제5항, 제7항 내지 제34항, 제36항, 제38항, 제40항 및 제42항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체로부터의 종양 샘플로부터 조직 종양 돌연변이 부담(tissue tumor mutational burden: tTMB) 점수를 결정하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 46

제6항 내지 제30항, 제35항, 제37항 및 제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 투여 전에 tTMB 점수가 상기 개체로부터의 샘플로부터 결정된, 방법.

청구항 47

제45항 또는 제46항에 있어서, 기준 tTMB 점수에 있거나 이보다 높은 상기 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 상기 개체를 PD-L1 측 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별하는, 방법.

청구항 48

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터 결정된 tTMB 점수는 기준 tTMB 점수에 있거나 이보다 높은, 방법.

청구항 49

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터 결정된 tTMB 점수는 기준 tTMB보다 낮은, 방법.

청구항 50

제45항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 상기 암을 앓는 개체의 기준 집단에서의 tTMB 점수이고, 상기 개체의 집단은 PD-L1 측 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 측 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 상기 비-PD-L1 측 결합 길항제 치료제는

PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는, 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성의 유의차에 기초하여 개체의 제1 하위집단 및 제2 하위집단의 각각을 유의미하게 분리시키는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 치료에 대한 반응성은 PFS의 증가, OS의 증가, 및/또는 전체 반응률(ORR)의 증가인, 방법.

청구항 53

제45항 내지 제48항 및 제50항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 샘플은 체세포 돌연변이의 기준 수준에 비해 체세포 돌연변이의 수준이 증가된 것으로 결정된, 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 종양 샘플은 표 1에 기재된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 기준 수준에 비해 표 1에 기재된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 수준이 증가된 것으로 결정된, 방법.

청구항 55

제53항 또는 제54항에 있어서, 상기 체세포 돌연변이는 단백질 변경 체세포 돌연변이 또는 동의 돌연변이인, 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 체세포 돌연변이는 단백질 변경 체세포 돌연변이인, 방법.

청구항 57

제53항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 체세포 돌연변이는 치환, 결실, 및/또는 삽입인, 방법.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 치환, 결실, 및/또는 삽입은 코딩 영역에 있는, 방법.

청구항 59

제57항 또는 제58항에 있어서, 상기 결실 및/또는 삽입은 인델인, 방법.

청구항 60

제47항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 예비배정된 tTMB 점수인, 방법.

청구항 61

제47항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 메가염기당 약 5 내지 약 50 돌연변이 (mut/Mb)인, 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 약 8 내지 약 30 mut/Mb인, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 약 10 내지 약 20 mut/Mb인, 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 약 10 mut/Mb인, 방법.

청구항 65

제63항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 약 16 mut/Mb인, 방법.

청구항 66

제63항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 약 20 mut/Mb인, 방법.

청구항 67

제45항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 5 mut/Mb 이상인, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 5 내지 약 100 mut/Mb인, 방법.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 10 mut/Mb 이상인, 방법.

청구항 70

제68항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 10 내지 약 100 mut/Mb인, 방법.

청구항 71

제67항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 16 mut/Mb 이상인, 방법.

청구항 72

제71항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 약 16 mut/Mb인, 방법.

청구항 73

제67항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 20 mut/Mb 이상인, 방법.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 기준 tTMB 점수는 약 20 mut/Mb인, 방법.

청구항 75

제45항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 tTMB 점수 또는 상기 기준 tTMB 점수는 서열분석된 염기의 한정된 수마다 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시되는, 방법.

청구항 76

제75항에 있어서, 상기 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 100kb 내지 약 10Mb인, 방법.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 1.1Mb인, 방법.

청구항 78

제45항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 tTMB 점수 또는 상기 기준 tTMB 점수는 동등 tTMB 값인, 방법.

청구항 79

제78항에 있어서, 상기 동등 tTMB 값은 전장 엑솜 서열분석(WES)에 의해 결정되는, 방법.

청구항 80

제1항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서의 종양 세포의 1% 미만으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 81

제1항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서의 종양 세포의 1% 이상으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 82

제81항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서의 종양 세포의 1% 내지 5% 미만으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 83

제81항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서의 종양 세포의 5% 이상으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서의 종양 세포의 5% 내지 50% 미만으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 85

제81항 또는 제83항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플에서의 종양 세포의 50% 이상으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 86

제1항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 1% 미만을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 87

제1항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 1% 이상을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 1% 내지 5% 미만을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 89

제87항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 5% 이상을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 5% 내지 10% 미만을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 91

제87항 또는 제89항에 있어서, 상기 환자로부터 얻은 종양 샘플은 상기 종양 샘플의 10% 이상을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정된, 방법.

청구항 92

제1항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합

인, 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 샘플은 보관소 샘플, 새로운 샘플 또는 동결된 샘플인, 방법.

청구항 94

제1항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 폐암, 신장암, 방광암, 유방암, 결장직장암, 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 근상식육종, 머켈 세포 암 또는 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 95

제94항에 있어서, 상기 암은 폐암, 방광암, 흑색종, 신장암, 결장직장암 또는 두경부암인, 방법.

청구항 96

제95항에 있어서, 상기 폐암은 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer: NSCLC)인, 방법.

청구항 97

제95항에 있어서, 상기 방광암은 방광 요로상피(전이성 세포) 암종인, 방법.

청구항 98

제95항에 있어서, 상기 흑색종은 피부 흑색종인, 방법.

청구항 99

제95항에 있어서, 상기 신장암은 신장 요로상피 암종인, 방법.

청구항 100

제95항에 있어서, 상기 결장직장암은 결장 선암인, 방법.

청구항 101

제95항에 있어서, 상기 두경부암은 두경부 편평 세포 암종(head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC)인, 방법.

청구항 102

제1항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-L1 측 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제 및 PD-L2 결합 길항제로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 103

제102항에 있어서, 상기 PD-L1 측 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제인, 방법.

청구항 104

제103항에 있어서, 상기 PD-L1 결합 길항제는 리간드 결합 파트너 중 하나 이상에 대한 PD-L1의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 105

제104항에 있어서, 상기 PD-L1 결합 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 106

제104항에 있어서, 상기 PD-L1 결합 길항제는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 107

제104항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 다에 대한 PD-L1의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 108

제103항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체인, 방법.

청구항 109

제108항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙(MPDL3280A), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736(더발루맙) 및 MSB0010718C(아벨루맙)로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 110

제108항 또는 제109항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) GFTFSDSWIH(서열번호 19)의 HVR-H1 서열;
- (b) AWISPYGGSTYYADSVKG(서열번호 20)의 HVR-H2 서열;
- (c) RHWPGGFDY(서열번호 21)의 HVR-H3 서열;
- (d) RASQDVSTAVA(서열번호 22)의 HVR-L1 서열;
- (e) SASFLYS(서열번호 23)의 HVR-L2 서열; 및
- (f) QQYLYHPAT(서열번호 24)의 HVR-L3 서열의 추가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 111

제108항 내지 제110항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인;
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는
- (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 112

제111항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인;
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는
- (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 113

제112항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 96%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인;
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 96%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는
- (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 114

제113항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인;
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는
- (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 115

제114항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인;
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는
- (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 116

제115항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인;
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는
- (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 117

제115항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인;
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인; 또는
- (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 118

제117항에 있어서, 상기 항-PD-L1 항체는,

- (a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인; 및
- (b) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 119

제118항에 있어서, 상기 항체는 아테졸리주맵(MPD3280A)인, 방법.

청구항 120

제102항에 있어서, 상기 PD-L1 측 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제인, 방법.

청구항 121

제120항에 있어서, 상기 PD-1 결합 길항제는 리간드 결합 파트너 중 하나 이상에 대한 PD-1의 결합을 저해하는,

방법.

청구항 122

제121항에 있어서, 상기 PD-1 결합 길항제는 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 123

제121항에 있어서, 상기 PD-1 결합 길항제는 PD-L2에 대한 PD-1의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 124

제121항 내지 제123항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 다에 대한 PD-1의 결합을 저해하는, 방법.

청구항 125

제121항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체인, 방법.

청구항 126

제125항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체는 MDX-1106(니볼루맵), MK-3475(팸브롤리주맵), MEDI-0680(AMP-514), PDR001, REGN2810 및 BGB-108로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 127

제120항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질인, 방법.

청구항 128

제127항에 있어서, 상기 Fc-융합 단백질은 AMP-224인, 방법.

청구항 129

제7항, 제8항 및 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 비-PD-L1 축 결합 길항제는 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료 또는 세포독성제인, 방법.

청구항 130

제38항에 있어서, 상기 PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제는 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료 또는 세포독성제인, 방법.

청구항 131

제1항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 암에 대해 이전에 치료되지 않는, 방법.

청구항 132

제131항에 있어서, 상기 개체는 이전에 PD-L1 축 결합 길항제가 투여되지 않는, 방법.

청구항 133

제3항, 제5항, 제6항 및 제39항 중 어느 한 항에 있어서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료는 단일치료인, 방법.

청구항 134

제1항 내지 제133항 중 어느 한 항에 있어서, 유효량의 추가 치료제를 상기 개체에게 투여하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 135

제134항에 있어서, 상기 추가 치료제는 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료

또는 세포독성제인, 방법.

청구항 136

제1항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체는 인간인, 방법.

청구항 137

PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하기 위한 키트로서,

(a) 상기 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하기 위한 시약; 및, 선택적으로,

(b) PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하기 위한 시약을 사용하기 위한 설명서로서, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 상기 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별하는, 상기 설명서를 포함하는, 키트.

청구항 138

PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 후보인 암을 앓는 개체를 식별하기 위한 검정법으로서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 것을 포함하되, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 상기 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별하는, 검정법.

청구항 139

암을 앓는 개체를 치료하는 데 사용하기 위한 PD-L1 축 결합 길항제로서, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 상기 개체로부터의 샘플로부터 결정된, PD-L1 축 결합 길항제.

청구항 140

암을 앓는 개체를 치료하기 위한 약제의 제조에서의 PD-L1 축 결합 길항제의 용도로서, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 상기 개체로부터의 샘플로부터 결정된, 용도.

청구항 141

제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 방법은 PD-L1 축 결합 길항제에 의한 치료에 대한 개체의 반응을 모니터링하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 142

제141항에 있어서, 상기 모니터링은,

(a) 상기 PD-L1 축 결합 길항제의 투여 이후의 시점에서 상기 개체로부터 얻은 추가의 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계; 및

(b) 추가의 샘플에서의 상기 bTMB 점수를 기준 bTMB 점수와 비교하여, 상기 PD-L1 축 결합 길항제에 의한 치료에 대한 상기 개체의 반응을 모니터링하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 143

암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 방법으로서, 상기 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 포함하되, 기준 MSAF이거나 이보다 높은 샘플로부터의 MSAF는 상기 개체를 불량한 예후를 가질 수 있는 사람으로서 식별하는, 방법.

청구항 144

PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 대한 암을 앓는 개체의 반응을 모니터링하는 방법으로서,

(a) 상기 항암 치료제의 투여 이후의 시점에서 상기 개체로부터 얻은 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계; 및

(b) 상기 샘플에서의 상기 bTMB 점수를 기준 bTMB 점수와 비교하여, 상기 항암 치료제에 의한 치료에 대한 상기

개체의 반응을 모니터링하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 145

암을 앓는 개체에서 질환 진행을 예측하는 방법으로서, 상기 개체로부터 얻은 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플에서의 bTMB 점수는 상기 개체를 질환 진행을 더 나타낼 것 같은 사람으로 식별하는, 방법.

청구항 146

암을 앓는 개체에서 질환 진행을 예측하는 방법으로서, 상기 개체로부터 얻은 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 포함하되, 기준 MSAF이거나 이보다 높은 샘플에서의 MSAF는 상기 개체를 질환 진행을 더 나타낼 것 같은 사람으로서 식별하는, 방법.

청구항 147

제145항 또는 제146항에 있어서, 상기 질환 진행은 종양 부담의 증가인, 방법.

청구항 148

제147항에 있어서, 상기 종양 부담의 증가는 가장 긴 직경 합(sum of longest diameter: SLD)의 증가를 특징으로 하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)를 사용한 암의 치료를 위한 진단학적, 치료학적 및 예후적 방법이 본 명세서에 제공된다. 특히, 본 발명은 환자 선택 및 진단에 대한 방법, 치료 방법 및 진단학적 키트를 제공한다.

배경 기술

[0002] 암은 인간 건강에 대한 가장 치명적인 위협 중 하나로 있다. 미국에서, 암은 매년 거의 130만 명의 새로운 환자에 영향을 미치고, 심장 질환 후 사망의 제2 주요 원인이며, 4건의 사망 중 대략 1건을 차지한다. 암이 5년 내 사망의 제1 원인으로 심혈관 질환을 능가할 수 있다고 또한 예측된다. 고형 종양은 이들 사망 중 대부분의 원인이다. 소정의 암의 의학 치료에서 상당한 진전이 있지만, 모든 암에 대한 전체 5년 생존율은 과거 20년에 불과 약 10% 개선되었다. 악성 고형 종양은 특히 전이하고 조절되지 않는 방식으로 신속히 성장하여서, 이의 때 맞춘 검출 및 치료가 극도로 어렵게 한다. 암의 치료의 상당한 진전에도 불구하고, 개선된 진단학적 방법이 여전히 추구된다.

[0003] 최근의 연구는 조직 생검으로부터 종양 신생항원성의 측정치인 종양 돌연변이 부담(tumor mutational burden: TMB)의 분석이 일련의 종양 유형에 걸쳐 PD-L1 축 결합 길항제로 치료된 환자에 대한 결과를 예측하는 데 임상 유용성을 나타낸다는 것을 제한한다. 그러나, 일부 환자는, 예를 들어, 이의 건강한 상태로 인해 체세포 돌연변이 분석에 대한 종양 샘플을 얻도록 생검을 받기에 적합하지 않거나 생검을 받으려 하지 않는다.

[0004] 따라서, 종양 조직 생검을 요하지 않으면서 환자 샘플에서 TMB의 분석이 가능하게 하는 직각의 비침습성 진단학적 접근법에 대한 충족되지 않은 수요가 존재한다.

발명의 내용

[0005] 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하기 위한 치료학적, 진단학적 및 예후적 방법 및 조성물을 제공한다.

[0006] 일 양상에서, 본 발명은 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시 저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합)를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하는(identifying) 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을

수 있는 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 면역 관문 저해제는 PD-L1 축 결합 길항제이다.

- [0007] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체에 대한 치료제를 선택하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합)를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 면역 관문 저해제는 PD-L1 축 결합 길항제이다.
- [0008] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 결정된 bTMB 점수는 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높고, 상기 방법은 개체에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 결정된 bTMB 점수는 기준 bTMB 점수보다 낮다.
- [0009] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 (a) 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계(여기서, 샘플로부터의 bTMB 점수는 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높음), 및 (b) 개체에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0010] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체에게 유효량의 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합)를 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 투여 전에 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 개체로부터의 샘플로부터 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 면역 관문 저해제는 PD-L1 축 결합 길항제이다.
- [0011] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 암을 앓는 개체의 기준 집단에서의 bTMB 점수이고, 개체의 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 여기서 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체) 또는 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체))를 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 암을 앓는 개체의 기준 집단에서의 bTMB 점수이고, 개체의 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 여기서 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성의 유의차에 기초하여 개체의 제1 하위집단 및 제2 하위집단의 각각을 유의미하게 분리시킨다. 몇몇 실시형태에서, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존율(progression-free survival: PFS)의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, 치료에 대한 반응성은 전체 생존율(overall survival: OS)의 증가이다.
- [0012] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 예비배정된 bTMB 점수이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 4 내지 30(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 내지 약 26.7 mut/Mb)이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 8 내지 30(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 내지 약 26.7 mut/Mb)이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 10 내지 20(예를 들어, 약 9 mut/Mb 내지 약 17.8 mut/Mb)이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 10(예를 들어, 약 9 mut/Mb)이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 16(예를 들어, 약 14 mut/Mb)이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수는 20(예를 들어, 약 17.8 mut/Mb)이다.
- [0013] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 이상(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 이상)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 내지 100(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 내지 약 88.9 mut/Mb)이다.
- [0014] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 이상(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 이상)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 내지 100(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 내지 약 88.9 mut/Mb)이다.
- [0015] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 미만(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 미만)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 미만(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 미만)이다.

- [0016] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, 약 100kb 내지 약 10Mb, 약 200kb 내지 약 10Mb, 약 300kb 내지 약 10Mb, 약 400kb 내지 약 10Mb, 약 500kb 내지 약 10Mb, 약 600kb 내지 약 10Mb, 약 700kb 내지 약 10Mb, 약 800kb 내지 약 10Mb, 약 900kb 내지 약 10Mb, 약 1Mb 내지 약 10Mb, 약 100kb 내지 약 5Mb, 약 200kb 내지 약 5Mb, 약 300kb 내지 약 5Mb, 약 400kb 내지 약 5Mb, 약 500kb 내지 약 5Mb, 약 600kb 내지 약 5Mb, 약 700kb 내지 약 5Mb, 약 800kb 내지 약 5Mb, 약 900kb 내지 약 5Mb, 또는 약 1Mb 내지 약 5Mb, 약 100kb 내지 약 2Mb, 약 200kb 내지 약 2Mb, 약 300kb 내지 약 2Mb, 약 400kb 내지 약 2Mb, 약 500kb 내지 약 2Mb, 약 600kb 내지 약 2Mb, 약 700kb 내지 약 2Mb, 약 800kb 내지 약 2Mb(예를 들어, FOUNDATIONONE CDX(상표명) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 800kb(예를 들어, 약 795kb)), 예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 약 900kb 내지 약 2Mb, 또는 약 1Mb 내지 약 2Mb, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 대해 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 100kb, 약 200kb, 약 300kb, 약 400kb, 약 500kb, 약 600kb, 약 700kb, 약 800kb, 약 900kb, 약 1Mb, 약 2Mb, 약 3Mb, 약 4Mb, 약 5Mb, 약 6Mb, 약 7Mb, 약 8Mb, 약 9Mb 또는 약 10Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이의 수는 계수된 단일 뉴클레오타이드 변이체(single nucleotide variant: SNV)의 수 또는 계수된 SNV의 수와 인델(indel) 돌연변이의 수의 합이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이의 수는 계수된 SNV의 수이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이의 수는 동의 및 비동의 SNV 및/또는 인델의 수이다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는, 예를 들어, 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 바와 같이 동등 bTMB 값이다.
- [0017] 또 다른 양상에서, 본 발명은 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합)을 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 동등 bTMB 값을 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 동등 bTMB 값이거나 이보다 높은 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 개체를 면역 관문 저해제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 면역 관문 저해제는 PD-L1 축 결합 길항제이다.
- [0018] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체에 대한 치료제를 선택하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 동등 bTMB 값을 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 동등 bTMB 값이거나 이보다 높은 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 개체를 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합)를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 면역 관문 저해제는 PD-L1 축 결합 길항제이다.
- [0019] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 결정된 동등 bTMB 값은 기준 동등 bTMB 값이거나 이보다 높고, 상기 방법은 개체에게 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 결정된 동등 bTMB 값은 기준 동등 bTMB 값보다 낮다.
- [0020] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 (a) 개체로부터의 샘플로부터 동등 bTMB 값을 결정하는 단계(여기서, 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 기준 동등 bTMB 값이거나 이보다 높음), 및 (b) 유효량의 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합)를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 면역 관문 저해제는 PD-L1 축 결합 길항제이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)에 의한 치료에 대한 개체의 반응을 모니터링하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 모니터링은 (a) 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)의 투여 이후의 시점에 개체로부터 얻은 추가의 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계; 및 (b) 추가의 샘플에서의 bTMB 점수를 기준 bTMB 점수와 비교하여, 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)에 의한 치료에 대한 개체에서의 반응을 모니터링하는 단계를 포함한다.
- [0021] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체에게 유효량의 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체)

또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합)을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 투여 전에 기준 동등 bTMB 값이거나 이보다 높은 동등 bTMB 값은 개체로부터의 샘플로부터 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 면역 관문 저해제는 PD-L1 축 결합 길항제이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)에 의한 치료에 대한 개체의 반응을 모니터링하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 모니터링은 (a) 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)의 투여 이후의 시점에 개체로부터 얻은 추가의 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계; 및 (b) 추가의 샘플에서의 bTMB 점수를 기준 bTMB 점수와 비교하여, 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)에 의한 치료에 대한 개체에서의 반응을 모니터링하는 단계를 포함한다.

[0022] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 MSAF이거나 이보다 높은 샘플로부터의 MSAF는 개체를 불량한 예후를 가질 수 있는 사람으로서 식별한다.

[0023] 또 다른 양상에서, 본 발명은 PD-L1 축 결합 길항제를 갖는 항암 치료제에 의한 치료에 대한 암을 앓는 개체의 반응을 모니터링하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 (a) 개체에 대한 항암 치료제의 투여 이후의 시점에 개체로부터 얻은 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계; 및 (b) 샘플에서의 bTMB 점수를 기준 bTMB 점수와 비교하여서, 항암 치료제에 의한 치료에 대한 개체에서의 반응을 모니터링하는 단계를 포함한다.

[0024] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체에서 질환 진행을 예측하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체로부터 얻은 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플에서의 bTMB 점수는 개체를 질환 진행을 더 나타낼 것 같은 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은 종양 부담의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 부담의 증가는 가장 긴 직경 합(sum of longest diameter: SLD)의 증가를 특징으로 한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 종양 조직학에 의해 평가된 바와 같이 편평 형태학의 증가를 특징으로 한다. 다른 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 종양 조직학에 의해 평가된 바와 같이 비편평 형태학의 증가를 특징으로 한다.

[0025] 더 추가의 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체에서 질환 진행을 예측하는 방법을 특징으로 하고, 상기 방법은 개체로부터 얻은 샘플에서 MSAF를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 MSAF이거나 이보다 높은 샘플에서의 MSAF는 개체를 질환 진행을 더 나타낼 것 같은 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은 종양 부담의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 부담의 증가는 가장 긴 직경 합(SLD)의 증가를 특징으로 한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 종양 조직학에 의해 평가된 바와 같이 편평 형태학의 증가를 특징으로 한다. 다른 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 종양 조직학에 의해 평가된 바와 같이 비편평 형태학의 증가를 특징으로 한다. 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 기준 동등 bTMB 값은 예비배정된 동등 bTMB 값이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 동등 bTMB 값은 4 내지 30(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 내지 약 26.7 mut/Mb)의 기준 bTMB 점수에 상응한다. 몇몇 실시형태에서, 기준 동등 bTMB 값은 8 내지 30(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 내지 약 26.7 mut/Mb)의 기준 bTMB 점수에 상응한다. 몇몇 실시형태에서, 기준 동등 bTMB 값은 10 내지 20(예를 들어, 약 9 mut/Mb 내지 약 17.8 mut/Mb)의 기준 bTMB 점수에 상응한다. 몇몇 실시형태에서, 기준 동등 bTMB 값은 10(예를 들어, 약 9 mut/Mb)의 기준 bTMB 점수에 상응한다. 몇몇 실시형태에서, 기준 동등 bTMB 값은 16(예를 들어, 약 14 mut/Mb)의 기준 bTMB 점수에 상응한다. 몇몇 실시형태에서, 기준 동등 bTMB 값은 20(예를 들어, 약 17.8 mut/Mb)의 기준 bTMB 점수에 상응한다.

[0026] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 4 이상(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 이상)의 기준 bTMB 점수에 상응한다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 4 내지 100(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 내지 약 88.9 mut/Mb)이다.

[0027] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 8 이상(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 이상)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 8 내지 100(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 내지 약 88.9 mut/Mb)이다.

[0028] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 4 미만(예를 들어, 약 3.6 mut/Mb 미만)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 동등 bTMB 값은 8 미만(예를 들어, 약 7.1 mut/Mb 미만)이다.

[0029] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터의 이익은 OS의 증가이다. 이전의 양상 중 어느 하나의 다른 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터의 이

익은 PFS의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터의 이익은 OS 및 PFS의 증가이다.

- [0030] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 최대 체세포 대립유전자 빈도(maximum somatic allele frequency: MSAF)를 결정하는 단계를 더 포함하되, 여기서 샘플로부터의 MSAF는 1% 이상이다. 몇몇 실시형태에서, 투여 전에 개체로부터의 샘플은 1% 이상의 MSAF를 갖는 것으로 결정된다.
- [0031] 이전의 양상 중 어느 하나의 다른 실시형태에서, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 더 포함하되, 여기서 샘플로부터의 MSAF는 1% 미만이다. 몇몇 실시형태에서, 투여 전에 개체로부터의 샘플은 1% 미만의 MSAF를 갖는 것으로 결정된다.
- [0032] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 더 포함하되, 여기서 샘플로부터의 MSAF는 1% 이상인 것으로 결정되었고, 상기 방법은 PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 유효량의 항암 치료제를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0033] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 더 포함하되, 여기서 샘플로부터의 MSAF는 1% 미만인 것으로 결정되었고, 상기 방법은 유효량의 PD-L1 축 결합 길항제를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0034] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, MSAF의 결정은 tTMB 점수의 결정 전이다. 몇몇 실시형태에서, MSAF는 tTMB 점수 전에 결정된다.
- [0035] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 tTMB 점수는 기준 집단에서 약 5% 이상의 유병률을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 tTMB 점수는 기준 집단에서 약 5% 내지 약 75%의 유병률을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터의 tTMB 점수는 기준 집단에서 약 20% 내지 약 30%의 유병률을 갖는다.
- [0036] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체로부터의 종양 샘플로부터 조직 종양 돌연변이 부담(tTMB) 점수를 결정하는 단계를 더 포함한다. 이전의 양상 중 어느 하나의 다른 실시형태에서, 투여 전에 tTMB 점수는 개체로부터의 샘플로부터 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수에 있거나 이보다 높은 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람을 확인한다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터 결정된 tTMB 점수는 기준 tTMB 점수에 있거나 이보다 높다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터 결정된 tTMB 점수는 기준 tTMB보다 낮다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 암을 앓는 개체의 기준 집단에서의 tTMB 점수이고, 개체의 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성의 유의차에 기초하여 개체의 제1 하위집단 및 제2 하위집단의 각각을 유의미하게 분리시킨다. 몇몇 실시형태에서, 치료에 대한 반응성은 PFS의 증가, OS의 증가, 및/또는 전체 반응률(ORR)의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플은 체세포 돌연변이의 기준 수준에 비해 체세포 돌연변이의 수준이 증가된 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플은 표 1에 기재된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 기준 수준에 비해 표 1에 기재된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 수준이 증가된 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이는 단백질 변경 체세포 돌연변이 또는 동의 돌연변이이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이는 단백질 변경 체세포 돌연변이이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이는 치환, 결실, 및/또는 삽입이다. 몇몇 실시형태에서, 치환, 결실, 및/또는 삽입은 코딩 영역에 있다. 몇몇 실시형태에서, 결실 및/또는 삽입은 인텔이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 예비배정된 tTMB 점수이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 메가염기당 약 5 내지 약 50 돌연변이(mut/Mb)이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 약 8 내지 약 30 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 약 10 내지 약 20 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 약 10 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 약 16 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 약 20 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 5 mut/Mb 이상이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 5 내지 약 100 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 10 mut/Mb 이상이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 10 내지 약 100 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 16 mut/Mb 이상이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 약 16 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 20 mut/Mb 이상이다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 약 20 mut/Mb이다. 몇몇 실시형태에서, tTMB 점수 또는 기준 tTMB 점수는 서열분석된 염기의 한정된 수마다 계수된 체세포 돌연변이

이의 수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 100kb 내지 약 10Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 0.8Mb이다. 몇몇 실시형태에서, 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 1.1Mb이다. 몇몇 실시형태에서, tTMB 점수 또는 기준 tTMB 점수는 동등 tTMB 값이다. 몇몇 실시형태에서, 동등 tTMB 값은 전장 엑스 서열분석(WES)에 의해 결정된다.

[0037] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 1% 미만으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 이전의 양상 중 어느 하나의 다른 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 1% 이상으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 1% 내지 5% 미만으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 5% 이상으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 5% 내지 50% 미만으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 50% 이상으로 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다.

[0038] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 1% 미만을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 이전의 양상 중 어느 하나의 다른 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 1% 초과를 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 1% 내지 5% 미만을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 5% 초과를 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 5% 내지 10% 미만을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 10% 초과를 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖도록 결정된다.

[0039] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 샘플은 진혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플은 보관소 샘플, 새로운 샘플 또는 동결된 샘플이다.

[0040] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 암은 폐암, 신장암, 방광암, 유방암, 결장직장암, 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종, 두경부암, 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 군상식육종, 머털 세포 암 또는 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 암은 폐암, 방광암, 흑색종, 신장암, 결장직장암 또는 두경부암이다. 몇몇 실시형태에서, 폐암은 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer: NSCLC)이다. 몇몇 실시형태에서, 방광암은 방광 요로상피(전이성 세포) 암종이다. 몇몇 실시형태에서, 흑색종은 피부 흑색종이다. 몇몇 실시형태에서, 신장암은 신장 요로상피 암종이다. 몇몇 실시형태에서, 결장직장암은 결장 선암이다. 몇몇 실시형태에서, 두경부암은 두경부 편평 세포 암종(head and neck squamous cell carcinoma: HNSCC)이다.

[0041] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제 및 PD-L2 결합 길항제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 리간드 결합 파트너 중 하나 이상에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 다에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙(MPD3280A), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736(더발루맙) 및 MSB0010718C(아벨루맙)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) GFTFSDSWIH(서열번호 19)의 HVR-H1 서열; (b) AWISPYGGSTYYADSVKG(서열번호 20)의 HVR-H2 서열; (c) RHWPGGFDY(서열번호 21)의 HVR-H3 서열; (d) RASQDVSTAVA(서열번호 22)의 HVR-L1 서열; (e) SASFLYS(서열번호 23)의 HVR-L2 서열; 및 (f) QQVLYHPAT(서열번호 24)의 HVR-L3 서열의 추가변 영역을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인; (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인; (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열

동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 96%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인; (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 96%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인; (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 97%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인; (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 98%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변(VH) 도메인; (b) 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변(VL) 도메인; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인; (b) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인; 또는 (c) (a)에서와 같은 VH 도메인 및 (b)에서와 같은 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 (a) 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인; 및 (b) 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 아테줄리주맙(MPD3280A)이다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 몇몇 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 리간드 결합 파트너 중 하나 이상에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 다에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 MDX-1106(니볼루맙), MK-3475(켄트루리주맙), CT-011(피딜리주맙), MEDI-0680(AMP-514), PDR001, REGN2810 및 BGB-108로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 몇몇 실시형태에서, Fc-융합 단백질은 AMP-224이다.

- [0042] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 비-PD-L1 축 결합 길항제는 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료 또는 세포독성제이다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제는 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료 또는 세포독성제이다.
- [0043] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 개체는 암에 대해 이전에 치료되지 않았다. 몇몇 실시형태에서, 개체는 이전에 PD-L1 축 결합 길항제가 투여되지 않았다.
- [0044] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료는 단일치료이다.
- [0045] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 유효량의 추가 치료제를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 추가 치료제는 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료 또는 세포독성제이다.
- [0046] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 개체는 인간이다.
- [0047] 또 다른 양상에서, 본 발명은 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하기 위한 키트를 특징으로 하고, 상기 키트는 (a) 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하기 위한 시약; 및, 선택적으로, (b) PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하기 위한 시약을 사용하기 위한 설명서를 포함하고, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다.
- [0048] 또 다른 양상에서, 본 발명은 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 후보인 암을 앓는 개체를 식별하기 위한 검정을 특징으로 하고, 상기 검정은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 것을 포함하고, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다.

[0049] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하는 데 사용하기 위한 PD-L1 측 결합 길항제를 특징으로 하고, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 개체로부터의 샘플로부터 결정된다.

[0050] 또 다른 양상에서, 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하기 위한 약제의 제조에서의 PD-L1 측 결합 길항제의 용도를 제공하고, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 개체로부터의 샘플로부터 결정된다.

[0051] 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는, 예를 들어, 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 바와 같이 동등 bTMB 값이다.

도면의 간단한 설명

[0052] **도 1a**는, 표시된 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수에 기초한, 진단학적 양성(Dx+)인 POPLAR 연구(임상 실험 번호: NCT01903993)에서 환자에서의 무진행 생존율(PFS)에 대한 위험 비율(HR)을 나타낸 그래프이다. ITT, 치료 의향; BEP, 바이오마커 평가 가능한 집단. 계층화된 HR은 ITT에 대해 도시되어 있지만, 비계층화된 HR은 BEP 및 표시된 기준 bTMB 점수를 갖는 하위그룹에 대해 도시되어 있다.

도 1b는, 표시된 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수에 기초한, Dx+인 POPLAR 연구에서 환자에서의 전체 생존율(OS)에 대한 HR을 나타낸 그래프이다. 이 도면은 비계층화된 위험 비율을 보여준다.

도 1c는 ITT, BEP, bTMB <16 및 bTMB ≥16 하위그룹에서 OS를 보여주는 포레스트 선도를 갖는 표이다.

도 1d는 아테졸리주맙 및 도세탁셀 치료 아암에서 bTMB <16 및 bTMB ≥16 하위그룹에서 PFS의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 1e 및 **도 1f**는 아테졸리주맙 및 도세탁셀 치료 아암에서 bTMB ≥16 하위그룹(**도 1e**) 및 bTMB <16 하위그룹(**도 1f**)(*P* 상호작용 = 0.34)에서 POPLAR 연구에서 OS에 대한 카플란-마이어 곡선을 나타낸 일련의 그래프이다. 상호작용 *P* 값은 치료의 기간, bTMB 하위그룹 및 하위그룹 상호작용에 의한 치료를 포함하는 비계층화된 비례 Cox 모델로부터이다.

도 2a는, 표시된 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수에 기초한, 진단학적 양성(Dx+)인 OAK 연구(임상 실험 번호: NCT02008227)에서 환자에서의 PFS에 대한 HR을 나타낸 그래프이다.

도 2b는, 표시된 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수에 기초한, 진단학적 양성(Dx+)인 OAK 연구에서 환자에서의 OS에 대한 HR을 나타낸 그래프이다.

도 2c는 PFS HR과 bTMB 점수 값(≥4: n=441; ≥5: n=403; ≥6: n=371; ≥7: n=340; ≥8: n=302; ≥9: n=272; ≥10: n=251; ≥11: n=235; ≥12: n=211; ≥13: n=200; ≥14: n=188; ≥15: n=166; ≥16: n=158; ≥17: n=147; ≥18: n=136; ≥19: n=121; ≥20: n=105; ≥21: n=97; ≥22: n=84; ≥23: n=76; ≥24: n=69; ≥25: n=62; ≥26: n=54 환자) 사이의 관계의 다변량 적응 회귀 스플라인(multivariate adaptive regression spline: MARS) 분석을 나타낸 그래프이다.

도 3a는 POPLAR 연구의 아테졸리주맙(MPD3280A) 치료 아암(검정) 및 도세탁셀 대조군 아암(회색)에서 환자(nBEP = 211 환자)의 BEP의 PFS의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이고, 각각의 아암은 bTMB 점수에 따라 계층화된다. 18의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 환자는 실선(Dx+)으로 표시되고, 18의 기준 bTMB 점수보다 낮은 bTMB를 갖는 환자는 파선(Dx-)으로 표시된다. 주어진 시점에 BEP의 각각의 하위그룹 내에 PFS 사건을 갖지 않는 환자의 수를 수록한 표가 또한 기재되어 있다. 각각의 열에 대한 시점은 상기 그래프의 x-축을 따라 나타난 시간에 상응한다. 18의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 이 집단에서 대략 20%의 유병률을 가졌다(nITT = 287, 환자 샘플(모든) = 273; 환자 샘플(실험실 오차에 의해 오염된 샘플을 배제) = 265; nDx+ = 52; HR = 0.57; PFS의 상호작용 *p*-값 = 0.11). *EGFR* 또는 *ALK*에서의 돌연변이에 양성인 환자 샘플은 분석으로부터 배제되지 않았다. 1%보다 낮은 최대 체세포 대립유전자 빈도(MSAF)를 갖는 환자 샘플은 분석으로부터 배제되었다. 서열 커버리지는 800 이상이었다.

도 3b는 도세탁셀(대조군)과 비교된 아테졸리주맙에 의해 치료된 POPLAR 연구에서 환자에서의 PFS에 대한 HR을 보여주는 포레스트 선도를 갖는 표이다. HR은, 18의 기준 bTMB 점수("컷오프 값")이거나 이보다 높고(Dx+), 18의 컷오프 값보다 낮고(Dx-), bTMB 점수로 정의된 환자의 하위그룹에 걸쳐 수록된다.

도 4a는 OAK 연구의 아테졸리주맵 치료 아암(검정) 및 도세탁셀 대조군 아암(회색)에서 환자의 BEP의 PFS(nBEP = 583 환자)의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이고, 각각의 아암은 bTMB 점수에 따라 계층화된다. 18의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 환자는 실선(Dx+)으로 표시되고, 18의 기준 bTMB 점수보다 낮은 bTMB를 갖는 환자는 파선(Dx-)으로 표시된다. 주어진 시점에 BEP의 각각의 하위그룹 내에 PFS 사건을 갖지 않는 환자의 수를 수록한 표가 또한 표시된다. 각각의 열에 대한 시점은 상기 그래프의 x-축을 따라 나타난 시간에 상응한다. 18의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 *EGFR* 또는 *ALK*에서 돌연변이가 없는 집단에서 대략 20%의 유병률을 가졌다(nITT = 850, 환자 샘플(모든) = 803; 환자 샘플(실험실 오차에 의해 오염된 샘플 배제) = 777; *EGFR* 또는 *ALK*에서 돌연변이가 없는 환자 샘플 = 697; nDx+ = 132; HR = 0.66; PFS의 상호작용 p-값 = 0.068). 1%보다 낮은 MSAF를 갖는 환자 샘플은 분석으로부터 배제되었다. 서열 커버리지는 800 이상이었다.

도 4b는 도세탁셀(대조군)과 비교된 아테졸리주맵으로 치료된 OAK 실험에서 환자에서 PFS에 대한 HR을 보여주는 포레스트 선도를 갖는 표이다. HR은 18의 기준 bTMB 점수("컷오프 값")이거나 이보다 높은(Dx+) 및 18보다 낮은(Dx-) bTMB 점수에 의해 정의된 환자의 하위그룹에 걸쳐 기재된다.

도 5a는 OAK 연구의 아테졸리주맵 치료 아암(검정) 및 도세탁셀 대조군 아암(회색)에서 환자의 BEP의 PFS(nBEP = 583 환자)의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이고, 각각의 아암은 bTMB 점수에 따라 계층화된다. 16의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 환자는 실선(Dx+)으로 표시되고, 16의 기준 bTMB 점수보다 낮은 bTMB를 갖는 환자는 파선(Dx-)으로 표시된다. 주어진 시점에 BEP의 각각의 하위그룹 내에 PFS 사건을 갖지 않는 환자의 수를 수록한 표가 또한 표시된다. 각각의 열에 대한 시점은 상기 그래프의 x-축을 따라 나타난 시간에 상응한다. 16의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 *EGFR* 또는 *ALK*에서 돌연변이가 없는 집단에서 대략 23%의 유병률을 가졌다(nITT = 850, 환자 샘플(모든) = 803; 환자 샘플(실험실 오차에 의해 오염된 샘플 배제) = 777; *EGFR* 또는 *ALK*에서 돌연변이가 없는 환자 샘플 = 697; nDx+ = 158; HR = 0.65; PFS의 상호작용 p-값 = 0.036). 1%보다 낮은 MSAF를 갖는 환자 샘플은 분석으로부터 배제되었다. 서열 커버리지는 800 이상이었다.

도 5b는 도세탁셀(대조군)과 비교된 아테졸리주맵으로 치료된 OAK 연구에서 환자에서 PFS에 대한 HR을 보여주는 포레스트 선도를 갖는 표이다. HR은 16의 기준 bTMB 점수("컷오프 값")이거나 이보다 높은(Dx+) 및 16보다 낮은(Dx-) bTMB 점수에 의해 정의된 환자의 하위그룹에 걸쳐 기재된다.

도 5c는 아테졸리주맵 및 도세탁셀 치료 아암에서 bTMB <16 및 bTMB ≥16 하위그룹에서의 OS의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이다. 치료의 기간, bTMB 하위그룹 및 하위그룹 상호작용에 의한 치료를 포함하는 비계층화된 비례 cox 모델로부터의 상호작용 p-값이 나타난다.

도 5d는 ITT, BEP, bTMB ≥16, 및 bTMB <16 하위그룹에서 도세탁셀(대조군)과 비교된 아테졸리주맵으로 치료된 OAK 연구에서 환자에서의 OS에 대한 비계층화된 HR을 보여주는 포레스트 선도를 갖는 표이다.

도 6a는 OAK 연구의 아테졸리주맵 치료 아암(검정) 및 도세탁셀 대조군 아암(회색)에서 환자의 BEP의 PFS(nBEP = 583 환자)의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이고, 각각의 아암은 bTMB 점수에 따라 계층화된다. 14의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 환자는 실선(Dx+)으로 표시되고, 14의 기준 bTMB 점수보다 낮은 bTMB를 갖는 환자는 파선(Dx-)으로 표시된다. 주어진 시점에 BEP의 각각의 하위그룹 내에 PFS 사건을 갖지 않는 환자의 수를 수록한 표가 또한 표시된다. 각각의 열에 대한 시점은 상기 그래프의 x-축을 따라 나타난 시간에 상응한다. 14의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 *EGFR* 또는 *ALK*에서 돌연변이가 없는 집단에서 대략 27%의 유병률을 가졌다(nITT = 850, 환자 샘플(모든) = 803; 환자 샘플(실험실 오차에 의해 오염된 샘플 배제) = 777; *EGFR* 또는 *ALK*에서 돌연변이가 없는 환자 샘플 = 697; nDx+ = 188; HR = 0.68; PFS의 상호작용 p-값 = 0.047). 1%보다 낮은 MSAF를 갖는 환자 샘플은 분석으로부터 배제되었다. 서열 커버리지는 800 이상이었다.

도 6b는 도세탁셀(대조군)과 비교된 아테졸리주맵으로 치료된 OAK 실험에서 환자에서 PFS에 대한 HR을 보여주는 포레스트 선도를 갖는 표이다. HR은 14의 기준 bTMB 점수("컷오프 값")이거나 이보다 높은(Dx+) 및 14보다 낮은(Dx-) bTMB 점수에 의해 정의된 환자의 하위그룹에 걸쳐 기재된다.

도 7a는 POPLAR 및 OAK 연구의 아테졸리주맵 치료 아암(검정) 및 도세탁셀 대조군 아암(회색)에서 환자의 조합된 BEP의 PFS(nBEP = 775 환자; HR = 0.62)의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이고, 각각의 아암은 bTMB 점수에 따라 계층화된다. 14의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 환자는 실선(Dx+)으로 표시

되고, 14의 기준 bTMB 점수보다 낮은 bTMB를 갖는 환자는 파선(Dx-)으로 표시된다. 주어진 시점에 BEP의 각각의 하위그룹 내에 PFS 사건을 갖지 않는 환자의 수를 수록한 표가 또한 표시된다. 각각의 열에 대한 시점은 상기 그래프의 x-축을 따라 나타난 시간에 상응한다. 1%보다 낮은 MSAF를 갖는 환자 샘플은 분석으로부터 배제되었다. 서열 커버리지는 800 이상이었다.

도 7b는 도세탁셀(대조군)과 비교된 아테졸리주맵으로 치료된 POPLAR 및 OAK 연구에서 환자에서 PFS에 대한 HR을 보여주는 포레스트 선도를 갖는 표이다. HR은 14의 기준 bTMB 점수("컷오프 값")이거나 이보다 높은(Dx+) 및 14보다 낮은(Dx-) bTMB 점수에 의해 정의된 환자의 하위그룹에 걸쳐 기재된다.

도 8은 OAK에서 BEP 및 bTMB 하위그룹에서의 최고로 확인된 객관적인 반응률(ORR)을 나타낸 그래프이다. ORR은 아테졸리주맵 및 도세탁셀 치료 아암에서 BEP, bTMB <16, 및 bTMB ≥16 하위그룹에 대해 작도되었다.

도 9a는 OAK에서 상호 배타적인 PD-L1 IHC 하위그룹에 의한 bTMB 사분위를 나타낸 표이다.

도 9B는, bTMB 및 IHC 데이터를 갖는 229명의 환자 중에서, 30명이 Ventana PD-L1(SP142) 검정에 의해 측정된 바와 같이 bTMB ≥16 및 TC3 또는 IC3 PD-L1 발현; bTMB ≥16(n=156); TC3 또는 IC3(n=103) 둘 다라는 것을 보여주는 벤 다이어그램이다.

도 9c 및 **도 9d**는 OAK 연구에서 bTMB 수준과 다양한 PD-L1 발현 하위그룹 사이의 중첩을 보여주는 벤 다이어그램이다. 벤 다이어그램은 Ventana PD-L1 SP142 검정에 의해 측정된 바와 같은 높은 bTMB(≥16)와 TC1/2/3 또는 IC1/2/3(도 9c) 및 TC2/3 또는 IC2/3(도 9d) PD-L1 발현 사이의 중첩을 보여준다.

도 9e는 PD-L1 IHC 하위그룹에 따라 그룹화된 각각의 샘플에 대해 작도된 원시 bTMB 점수를 나타낸 그래프이다. 박스 및 선은 각각의 PD-L1 하위그룹에 대해 25%, 50% 및 75% 사분위수를 나타낸다. 개별 관찰은 열린 점으로 표시된다. 각각의 상호 배타적인 IHC 하위그룹 내에, 하부 및 상부 힌지는 제1 및 제3 사분위수에 상응하고; 사이에서의 막대는 중앙치를 나타낸다. 상부 휘스커는 힌지로부터 힌지로부터의 1.5 * 사분위수내 범위(inter-quartile range: IQR)보다 더 멀리 않은 가장 큰 값으로 연장된다(여기서, IQR은 제1 사분위수와 제3 사분위수 사이의 거리임). 하부 휘스커는 힌지로부터 힌지의 기껏해야 1.5 * IQR의 가장 작은 값으로 연장된다.

도 10은 비편평 및 편평 종양을 갖는 OAK 연구로부터의 환자의 확률 밀도를 나타낸 그래프이다. 이 분석은 EGFR 및 ALK 돌연변이체 종양을 배제하였다. 비편평 조직학을 갖는 종양에 대한 평균 bTMB 계수치는 11.2 돌연변이이고, 편평 조직학을 갖는 종양에 대한 평균 bTMB 계수치는 12.4 돌연변이이다.

도 11a 및 **도 11b**는 FOUNDATIONONE(등록상표)(F1) TMB 흐름도에 대해 bTMB 한계치 ≥10(약 9 mut/Mb와 동등)(도 11a) 및 ≥16(약 14 mut/Mb와 동등)(도 11b)의 합치 분석을 나타낸 그래프이다. 합치는 DNA 추출후 샘플을 분할하고 이전에 검증된 F1 흐름도, 및 bTMB 흐름도를 평가함으로써 확립되었다. 각각의 흐름도는 후속하는 TMB 값을 계산하도록 명확한 파이프라인을 이용한다. ≥16의 (본 명세서에서 "컷오프" 또는 "컷-오프"라 상호 호환되어 칭해지는) bTMB 컷-포인트를 사용하여, 46개 중 41개의 샘플은 진양성이고, 23개 중 23개는 진음성이었다(도 11b). 4개의 위음성 샘플은 모두 F1 TMB에서 계수되고 bTMB 검정에서 생략되는(이는 후속하여 bTMB 계수치를 감소시킴) 삽입 또는 결실을 가졌다. 도 11a 및 도 11b에서의 그래프는 상이한 사분면이 덮히면서 동일한 산점도에 상응한다.

도 11c는 도 11b에 도시된 바와 같이 각각의 검정에서 분할된 ctDNA 샘플 실행으로부터 bTMB 컴퓨터 파이프라인에 대한 F1 컴퓨터 파이프라인을 사용하여 계산된 TMB의 비료를 위한 다양한 컷-포인트에 대한 PPA 및 NPA를 나타낸 표이다.

도 11d는 4 내지 20의 bTMB 컷포인트의 범위에 걸쳐 bTMB에 대한 민감도 및 1-특이성 값의 수신자 조작자 곡선(ROC) 분석을 나타낸 그래프이다. 샘플은 DNA 추출후 분할되고, 이전에 검증된 F1 흐름도, 및 bTMB 흐름도에서 평가되었다. 각각의 흐름도는 후속하는 TMB 값을 계산하도록 명확한 파이프라인을 이용한다. 선도는 민감도(PPA) 대 1-특이성(1-NPA)을 나타낸다. 1-특이성은 긍정 오류율에 동등하고, 특이성은 진양성율에 동등하다. F1 검정에 의해 평가된 바와 같은 TMB는 면역 시스템이 마주치는 잠재적인 신생항원을 모두 포괄적으로 조사하지 않는다. 오히려, 비무작위 암 특이적 유전자 세트의 코딩 영역의 서열분석 및 단일-뉴클레오타이드 변이체(SNV)의 확인에 의해, TMB는 계놈에서 돌연변이율을 반영하고, 신생항원 부담에 대한 대리로서 작용할 수 있다.

도 11e는 플랫폼 둘 다에 대한 적절한 데이터를 갖는 환자에 대해 POPLAR(N=74) 및 OAK(N=224)에서 조직 TMB(tTMB) 및 bTMB의 쌍별 비교를 나타낸 그래프이다. 검출된 돌연변이의 수는 왼쪽 패널에서 그래프의 각각의 축에 표시되고: tTMB에 대해, 돌연변이 계수치는 AF ≥5%에서의 SNV 및 삽입 및 결실(인델)을 포함하고; bTMB에

대해, 돌연변이 계수치는 $AF \geq 0.5\%$ 에서 오직 SNV를 포함한다. 스피어만 상관관계 = 0.59, (95% CI: 0.49, 0.67). 파선은 ≥ 16 컷-포인트를 나타낸다. PPA 및 NPA는 오른쪽 패널에서 표에 나타난다.

도 11f는 플랫폼(N=259) 둘 다로부터 적절한 데이터(SNP 일치된, 통과된 QC)에 대한 적절한 데이터(SNP 일치된, 통과된 QC)를 갖는 POPLAR 및 OAK로부터의 환자에서 tTMB 및 bTMB의 쌍별 비교를 나타낸 그래프이다. 검출된 돌연변이의 수는 각각의 축에 표시되고: tTMB 돌연변이에 대해, 계수치는 $AF \geq 5\%$ 에서의 SNV 및 삽입 및 결실(인델)을 포함하고; bTMB 돌연변이에 대해, 계수치는 $AF \geq 0.5\%$ 에서 오직 SNV를 포함한다. 스피어만 순위 상관관계 = 0.64(95% CI: 0.56, 0.71). 파선은 ≥ 16 컷-포인트를 나타낸다. PPA는 64%(95% CI: 54, 74)이고, NPA는 88%(95% CI: 83, 92)이었다. 하나의 샘플은 매우 높은 bTMB(152) 및 tTMB(133)를 가지므로 제시 목적을 위해 그래프로부터 생략되었다.

도 11g는 tTMB(오직 SNV) 및 bTMB의 쌍별 비교를 나타낸 그래프이다. tTMB 컴퓨터 알고리즘은 인텔 및 SNV 둘 다를 계수하지만, bTMB 컴퓨터 알고리즘은 오직 SNV를 계수한다. 따라서, 본 발명자들은 오직 SNV(N = 258; 스피어만 상관관계 = 0.65; 95% CI: 0.57, 0.71)를 이용하여 2개의 측정치 사이의 상관관계를 비교하였다. 하나의 샘플은 매우 높은 bTMB(152) 및 tTMB(133)를 가지므로 제시 목적을 위해 그래프로부터 생략되었다.

도 11h는 분할 ctDNA 샘플(N=69)로부터의 bTMB 검정에 대한 F1 검정을 이용하여 계산된 TMB(돌연변이의 수)의 비교를 나타낸 그래프이다. bTMB가 아니라 F1 TMB에 대해 한계치보다 높은 4개의 부조화 샘플은 F1 TMB 계산에서 포함되지만, bTMB 계산에서 생략된 인텔에 의해 주로 설명된다.

도 11i는 FOUNDATIONACT(등록상표)(FACT) 검정 및 bTMB 검정의 비교로부터의 PPA 및 PPV를 나타낸 표이다. 샘플은 분할되고 검정 둘 다에 따라 분석되고, bTMB 검정에 의해 또한 FACT 검정으로부터의 체세포 변이체의 합치는 PPA를 계산하기 위해 이용되었다. FACT 검정에 의해 또한 검출된 bTMB 검정의 FACT 제한된 영역에 존재하는 체세포 변이체는 PPV를 계산하기 위해 이용되었다. 데이터는 개별 변이체를 분석함으로써 전체 합치, 및 2개의 검정 사이의 완전한 합치를 갖는 모든 평가된 샘플의 퍼센트에 따라 작도되었다. 검정 둘 다 사이의 중첩하는 베이트가 놓인 영역에서 공유된 변이체의 백분율은 93%이다. 적어도 1%로 대립유전자 빈도 컷오프를 제한하는 것은 99%로의 합치를 증가시킨다.

도 11j는 FACT 및 bTMB에 대한 중첩 영역에서 관찰된 일치 변이체에 대한 변이체 대립유전자 빈도(VAF)를 나타낸 일련의 그래프이다. 비검출된 변이체에 대해, VAF는 0.0이다. 공지된 인공물은 배제된다. 상부 패널(N=202)은 bTMB 및 FACT에서 일치된 변이체의 완전 분포를 나타내고; 하부 패널은 낮은 대립유전자 빈도 변이체의 근접도를 보여준다.

도 11k는 조직으로부터 유래된 높은(30 초과) 전체 돌연변이 계수치를 갖는 환자에 대한 조직과 혈액 샘플 사이의 TMB 계수치의 비교를 나타낸 그래프이다. 샘플은 증가하는 tTMB의 차수로 배열된다.

도 11l 및 **도 11m**은 샘플 수집과 MSAF 사이의 시간에 대한 혈액/조직 TMB 일치를 나타낸 일련의 그래프이다. 중앙 조직 샘플 수집과 혈액 샘플 수집 사이의 bTMB-tTMB 일치(공유된 변이체의 백분율로서) 및 간격(log 척도에서의 일)(도 11l) 및 MSAF(도 11m) 사이의 쌍별 상관관계가 나타난다. 도 11l에서, 파선은 100일을 나타낸다; 스피어만 상관관계(부트스트랩 95% CI)는 전체 -0.25(-0.37, -0.13); 혈액 전에 <100일에 수집된 조직 샘플에 대해 0.06(-0.18, 0.3); 및 혈액 전에 ≥ 100 일에 수집된 조직 샘플에 대해 -0.3(-0.42, -0.16)이었다. 도 11m에서, 스피어만 상관관계(부트스트랩)은 0.30(95% CI: 0.19, 0.41)이었다.

도 11n은 tTMB 및 bTMB 검정에 의해 검출된 SNV를 보여주는 벤 다이어그램이다.

도 12는 cfDNA 유입의 인자로서 중앙치 엑손 커버리지를 나타낸 그래프이다. 1,076개의 임상 샘플의 분석에서, 100%는 20ng 이상의 cfDNA가 라이브러리 작제에 대한 유입으로서 사용될 때 >800x 중앙치 엑손 커버리지를 달성하였다.

도 13a 및 **도 13b**는 bTMB 및 MSAF의 정확성 분석을 나타낸 그래프이다. 정확성은 검정 결과의 재현성, ≥ 10 (약 9 mut/Mb와 동등) 및 ≥ 16 (약 14 mut/Mb와 동등)의 2개의 명확한 bTMB 한계치, 및 MSAF에 의해 예측된 1% 순환 종양 DNA(ctDNA)의 품질 관리 미터법에 따라 평가되었다. bTMB 정확성 연구를 위해, 임상적으로 의미 있는 bTMB 값의 범위에 이르는 적어도 3중 샘플을 갖는 40개의 복제품 그룹은 주요 콜과 비교되었다. MSAF 정확성 연구를 위해, 임상적으로 의미 있는 값의 범위에 이르는 적어도 3중 샘플을 갖는 37개의 복제품 그룹은 주요 콜과 비교되었다. 각각의 데이터 점은 상이한 복제품을 나타낸다.

도 14는 MSAF에 의해 예측된 샘플에서의 중앙 함량의 함수로서 ≥ 10 및 ≥ 16 의 한계치에 따른 bTMB 검정의 재현

성을 나타낸다. 적어도 80%의 재현성은 ≥ 10 ("bTMB 10") 및 ≥ 16 ("bTMB 16")의 bTMB 컷-포인트 둘 다에 대해 적어도 1% MSAF로 달성되었다.

도 15는 패널 크기에 대한 모의된 검정 성능을 나타낸 그래프이다. TMB 검정의 모의된 민감도 및 특이성은 이의 계산에 사용된 패널의 크기에 따라 나타난다. 이 값을 생성하기 위해, TMB 값은 The Cancer Genome Atlas로부터의 25개의 환자 샘플에서 전장 엑솔 서열분석(WES) 데이터로부터 계산되었다. 각각의 환자는 100 mut/Mb로부터 1 mut/Mb로의 TMB 값의 범위를 나타내도록 선택되었다. 추가적으로, TMB 값은 5Mb로부터 50kb로의 게놈 영역을 제한함으로써 WES 데이터의 무작위 샘플링으로부터 계산되었다. 각각의 제한된 표적 영역 내에서, 전체 25000만 개의 무작위 샘플링은 동등 tTMB 값을 계산하기 위한 Poisson 분포로서 수행되었다. 14 mut/Mb(bTMB 검정에서 16 전체 돌연변이)의 컷-포인트를 사용한, WES 유래된 TMB 값과 일치된 결과를 유지시킨 표적 제한된 TMB 값의 분획은 각각의 각자의 모의된 패널 크기에 대해 컴퓨팅되었다. 결과는 Foundation Medicine 데이터베이스 (n=19,320)를 사용하여 비소세포 폐암을 갖는 환자로부터 유래된 TMB 값의 실제 분포와 비교되었다. 민감도는 모든 진양성 및 위음성의 합으로 나눈 진양성의 분획으로 계산되고, 특이성은 모든 진음성 및 긍정 오류의 합으로 나눈 진음성의 수로서 계산되었다. 작도된 값은 이 분석으로부터 유래된 결과를 나타내고, 음영 영역은 적어도 80% 민감도 및 특이성을 유지시키는 데 필요한 패널의 크기를 나타낸다.

도 16는 다양한 커버리지 수준에서 bTMB 및 MSAF 변동 계수(CV)의 분포를 나타낸 그래프이다. 정확성을 유지시키는 데 필요한 최소 커버리지를 평가하기 위해, bTMB 점수 ≥ 10 및 MSAF $\geq 1\%$ 를 갖는 8개의 상이한 샘플로부터의 80개의 반복실험물의 인실리코 다운샘플링은 800x 내지 2000x의 범위에 이르는 중앙치 서열 커버리지를 달성하도록 수행되었다. bTMB 및 MSAF 값에 대한 %CV는 다양한 서열 커버리지에서 다운샘플링된 시편으로부터 계산되었다. 최소 커버리지는, bTMB 및 MSAF 값의 $\leq 30\%$ CV로 정의된 바와 같이 정확성을 여전히 달성한, 다운샘플링 활동으로부터 하한으로서 정의된다. bTMB 및 MSAF 값의 정확성을 유지시키기 위한 최소 서열 커버리지는 800x 아래로 확인되었다.

도 17은 OAK 연구에서 bTMB 점수에 대한 혈장 샘플로부터 추출된 cfDNA의 질량의 쌍별 비교를 나타낸 그래프이다. bTMB 점수는 혈장으로부터 추출된 전체 cfDNA에 대해 작도된다. 전체 추출된 cfDNA와 bTMB 점수 사이에 작지만 통계적으로 유의미한 양의 스피어만 상관관계가 있었다(스피어만 $r = 0.15$, [95% CI: 0.07, 0.23]).

도 18a 및 **도 18b**는 bTMB와 MSAF 사이의(도 18a) 및 bTMB와 가장 긴 직경 합(SLD) 사이의(도 18b) 상관관계를 나타낸 일련의 그래프이다.

도 19는 B-FIRST 실험으로부터의 중간 분석의 환자 집단을 나타낸 개략적 다이어그램이다.

도 20은 B-FIRST 실험의 중간 분석 집단으로부터의 기준치 인구통계학 및 임상 특징을 나타낸 표이다.

도 21은 B-FIRST 실험의 중간 분석 집단에서 bTMB 하위그룹에 의한 ORR을 나타낸 표이다.

도 22는 중간 분석 집단에서 bTMB 하위그룹에 의해 기준치로부터 최대 가장 긴 직경 합(SLD) 감소를 나타낸 그래프이다. ^a 15명의 환자는 1% 미만의 MSAF를 가졌다; ^b 유효한 샘플이 없는 4명의 환자. 기준치후 표적 병변 측정을 갖는 환자만이 그래프에 표시된다(n = 70).

도 23a 및 **도 23b**는 B-FIRST 실험의 중간 분석 집단의 bTMB <16(도 23a) 및 bTMB ≥ 16 (도 23b) 하위그룹에 대한 bTMB 하위그룹에 의한 시간에 걸친 종양 부담의 변화를 나타낸 일련의 그래프이다.

도 24는 B-FIRST 실험의 중간 분석 집단의 bTMB <16 및 bTMB ≥ 16 하위그룹의 PFS의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 25는 B-FIRST 실험의 중간 분석 집단의 bTMB 컷오프 점수에 의한 PFS의 포레스트 선도를 나타낸 그래프이다.

^a 비계층화된 위험 비율(90% CI).

도 26a는 B-FIRST 실험의 중간 분석 집단의 bTMB <16 및 bTMB ≥ 16 하위그룹의 OS의 카플란-마이어 곡선을 나타낸 그래프이다.

도 26b는 B-FIRST 실험의 중간 분석 집단의 bTMB 컷오프 점수에 의한 OS의 포레스트 선도를 나타낸 그래프이다.

^b 비계층화된 위험 비율(90% CI).

도 27은 B-FIRST 실험의 안전성 평가 가능한 중간 분석 집단의 10% 이상에서 관찰된 AE를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0053]

I. 도입

[0054]

본 발명은 암에 대한 치료학적, 진단학적 및 예후적 방법 및 조성물을 제공한다. 본 발명은, 적어도 부분적으로, 개체로부터 얻은 샘플에서 체세포 돌연변이의 전체 수를 결정하고 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수를 도출하는 것이 암을 앓는 개체를 진단하는 것; 암을 앓는 개체가 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙(MPD3280A)), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 반응할 것 같은지를 결정하는 것; 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제의 치료학적 효율을 최적화하는 것; 및 암을 앓는 개체에 대한 치료제를 선택하는 것에 대해 암을 앓는 개체의 치료에서 바이오마커(예를 들어, 예측적 바이오마커)로서 사용될 수 있다는 발견에 기초한다. 본 발명은 또한 암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 방법, 및 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙(MPD3280A)), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 치료에 대한 개체의 반응을 모니터링하는 방법을 제공한다.

[0055]

II. 정의

[0056]

본 명세서에 기재된 발명의 양상 및 실시형태가 양상 및 실시형태를 "포함하는", "이들로 이루어진" 및 "이들로 본질적으로 이루어진"을 포함한다고 이해되어야 한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 단수 형태의 표현은, 달리 표시되지 않는 한, 복수의 지시대상을 포함한다.

[0057]

용어 "약"은 본 명세서에서 사용된 바와 같이 이 기술 분야에서 당업자에게 용이하게 공지된 각각의 값에 대한 일반 오류 범위를 지칭한다. 본 명세서에서 "약" 값 또는 매개변수의 언급은 특히 그 값 또는 매개변수에 관한 실시형태를 포함한다(그리고 이를 기재한다). 예를 들어, "약 X"를 기술하는 설명은 "X"의 설명을 포함한다.

[0058]

본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "혈액 종양 돌연변이적 부담 점수", "혈액 종양 돌연변이 부담 점수" 및 "bTMB 점수"(이들의 각각은 상호 호환되어 사용될 수 있음)는 개체(예를 들어, 암의 위험에 있거나 이를 앓는 개체)로부터 얻은 혈액 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)에서 검출된 체세포 돌연변이의 수를 반영하는 숫자 값을 지칭한다. bTMB 점수는, 예를 들어, 전장 게놈 또는 엑솜 기초로 또는 게놈 또는 엑솜의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에 기초하여 측정될 수 있다. 소정의 실시형태에서, bTMB 점수는 유전자간 서열에 기초하여 측정될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑솜의 하위집단에 기초하여 측정된 bTMB 점수는 전장 게놈 또는 엑솜 bTMB 점수를 결정하도록 외삽될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트는 전체 게놈 또는 전체 엑솜을 포함하지 않는다. 다른 실시형태에서, 하위게놈 간격의 세트는 전체 게놈 또는 전체 엑솜을 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트는 복수의 유전자를 포함하고, 이 유전자는 돌연변이체 형태에서 세포 분열, 성장 또는 생존에 대한 효과와 연관되거나, 암과 연관된다. 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트는 적어도 약 50개 이상, 약 100개 이상, 약 150개 이상, 약 200개 이상, 약 250개 이상, 약 300개 이상, 약 350개 이상, 약 400개 이상, 약 450개 이상 또는 약 500개 이상의 유전자를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트는 약 1Mb(예를 들어, 약 1.1Mb, 예를 들어, 약 1.125Mb)를 포괄한다.

[0059]

몇몇 실시형태에서, bTMB 점수는 샘플에서의 무세포 DNA(cfDNA)에서의 체세포 돌연변이의 수의 측정으로부터 결정된다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수는 샘플에서의 순환 종양 DNA(ctDNA)에서의 체세포 돌연변이의 수의 측정으로부터 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이의 수는 계수된 단일 뉴클레오타이드 변이체(SNV)의 수 또는 SNV의 수와 계수된 인텔 돌연변이의 수의 합이다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수는 종양에서의 축적된 체세포 돌연변이의 수를 지칭한다. bTMB 점수는 따라서 종양발생(예를 들어, 종양) 세포에서 신생항원의 수에 대한 대리로서 사용될 수 있다. bTMB 점수는 종양발생(예를 들어, 종양) 세포에서 신생항원의 수에 대한 대리인 종양 내의 돌연변이의 속도에 대한 대리물로서 또한 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어,

아테졸리주맵)를 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수보다 낮은 bTMB 점수는 개체를 PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제를 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 아테졸리주맵)를 포함하는 치료에 대한 암을 앓는 개체의 반응을 모니터링하도록 사용될 수 있다.

[0060] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "기준 bTMB 점수"는 또 다른 bTMB 점수가, 예를 들어, 진단학적, 예측적, 예후적, 및/또는 치료학적 결정을 하도록 비교되는 bTMB 점수를 지칭한다. 예를 들어, 기준 bTMB 점수는 기준 샘플, 기준 집단, 및/또는 미리 결정된 값에서의 bTMB 점수일 수 있다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 컷오프 값이거나 이보다 높은, 및/또는 컷오프 값보다 낮은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성과 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성 사이의 유의차에 기초하여 동일한 기준 집단에서, 기준 집단에서의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단, 및 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단을 유의미하게 분리시키는 컷오프 값이다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성은 컷오프 값이거나 이보다 높은 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성에 비해 유의미하게 개선된다. 몇몇 경우에, 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성은 컷오프 값보다 낮은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성에 비해 유의미하게 개선된다.

[0061] 기준 bTMB 점수에 대한 숫자 값이 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia: ALL), 급성 골수구성 백혈병(acute myelocytic leukemia: AML), 만성 골수구성 백혈병(chronic myelocytic leukemia: CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia: CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(non-Hodgkin lymphoma: NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(multiple myeloma: MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(gastrointestinal stromal tumor: GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(myelodysplastic syndrome: MDS), 골수증식성 장애(myeloproliferative disorder: MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤�혈막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핏지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간 세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만 세포종, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)의 유형, bTMB 점수를 측정하기 위해 사용된 방법론, 및/또는 bTMB 점수를 생성하기 위해 사용된 통계 방법에 따라 변할 수 있다고 당업자에 의해 이해될 것이다.

[0062] 용어 "동등 bTMB 값"은 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시되는 bTMB 점수에 상응하는 숫자 값을 지칭한다. 일반적으로, bTMB 점수가 서열분석된 게놈 영역의 크기와 직선으로 관련된다고 이해되어야 한다. 이러한 동등 bTMB 값은 bTMB 점수와 비교된 종양 돌연변이 부담의 동등한 정도를 나타내고, 예를 들어, 면역 관문 저해제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵)에 대한 암 환자의 반응을 예측하도록 본 명세서에 기재된 방법에서 상호 호환되어 사용될 수 있다. 예로서, 몇몇 실시형태에서, 동등 bTMB 값은 서열분석된 염기의 수로 체세포 변이체(예를 들어, 체세포 돌연변이)의 계수치를 나눔으로써 계산될 수 있는 정규화된 bTMB 값이다. 예를 들어, 동등 bTMB 값은, 예를 들어, 메가염기당 돌연변이의 수로서 표시될 수 있다. 예를 들어, (약 1.1Mb에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 결정된 바와 같은) 약 25의 bTMB 점수는 약 23 돌연변이/Mb의 동등 bTMB 값에 상응한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이 bTMB

점수(예를 들어, 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시되는 bTMB 점수)가 상이한 방법론(예를 들어, 전장 엑솜 서열분석 또는 전장 게놈 서열분석)을 이용하여 얻은 동등 bTMB 값을 포함한다고 이해되어야 한다. 예로서, 전장 엑솜 패널에 대해, 표적 영역은 대략 50Mb일 수 있고, 약 500 개의 체세포 돌연변이가 검출된 샘플은 약 10 돌연변이/Mb의 동등 bTMB 값을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑솜의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 30% 미만(예를 들어, 약 30% 미만, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 또는 미만만큼 벗어난다. 예를 들어, 문헌[Chalmers et al. *Genome Medicine* 9:34, 2017]을 참조한다.

[0063] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 각각 상호 호환되어 사용될 수 있는 용어 "최대 체세포 대립유전자 빈도" 및 "MSAF"는, 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 검출된 분획 또는 백분율로서 표시되는, 약 40% 미만(예를 들어, 40% 미만, 30%, 20%, 10%, 5% 또는 1%)의 대립유전자 (즉, 체세포 돌연변이(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인텔 돌연변이)를 갖는 유전자의 변이체)의 가장 높은 빈도를 지칭한다. 체세포 돌연변이에 대한 대립유전자 빈도는, 인간 게놈의 특정한 영역으로 정렬된 전체 판독에 대한 체세포 돌연변이를 나타내는, 서열 판독의 수를 나눔으로써 계산될 수 있다. 몇몇 경우에, MSAF는 샘플에서 약 20% 미만의 가장 큰 체세포 대립유전자 빈도로부터 도출된다. 몇몇 실시형태에서, 값은 대립유전자를 보유하는 대상체로부터의 샘플에서의 모든 cfDNA의 분획이다. 몇몇 실시형태에서, 값은 그 대립유전자를 보유하는 대상체로부터의 샘플에서의 ctDNA의 분획이다. 몇몇 실시형태에서, 값은 샘플에서의 종양 함량의 전체 양을 예측하도록 사용된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 샘플로부터 검출된 각각의 체세포 변이에 대한 대립유전자 빈도를 결정하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 다수의 체세포 변이를 갖는 샘플은, 아마도 암(예를 들어, 종양)에서의 이의 원래의 클론 빈도에 따라, 체세포 대립유전자 빈도의 분포로서 이 변이를 제시할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 값은 유전자의 미리 결정된 세트, 예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트의 코딩 영역의 함수로서 표시된다. 다른 실시형태에서, 그 값은 서열분석된 하위게놈 간격, 예를 들어, 서열분석된 코딩 하위게놈 간격의 함수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, MSAF는 암을 앓는 개체에 대한 예측을 제공하도록 사용될 수 있다.

[0064] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 상호 호환되어 사용될 수 있는 용어 "조직 종양 돌연변이 부담 점수" 및 "tTMB 점수"는 종양 조직 샘플(예를 들어, 포르말린 고정된 및 파라핀 포매된(formalin-fixed and paraffin-embedded: FFPE) 종양 샘플, 보관소 종양 샘플, 새로운 종양 샘플 또는 동결된 종양 샘플)에서 검출된 유전자의 미리 결정된 세트에서(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트의 코딩 영역에서) 미리 선택된 단위당(예를 들어, 메가염기당) 변형(예를 들어, 하나 이상의 변형, 예를 들어, 하나 이상의 체세포 변형)의 수준(예를 들어, 수)에 관한 것이다. tTMB 점수는, 예를 들어, 전장 게놈 또는 엑솜 기준으로, 또는 게놈 또는 엑솜의 하위집단의 기준으로 측정될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 게놈 또는 엑솜의 하위집단의 기준으로 측정된 tTMB 점수는 전장 게놈 또는 엑솜 돌연변이 로드를 결정하도록 외삽될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, tTMB 점수는 개체(예를 들어, 동물(예를 들어, 인간)) 내에 축적된 체세포 돌연변이의 수준을 지칭한다. tTMB 점수는 암(예를 들어, 폐암, 예를 들어, NSCLC)을 앓는 환자에서의 축적된 체세포 돌연변이를 지칭할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, tTMB 점수는 개체의 전장 게놈에서의 축적된 돌연변이를 지칭한다. 몇몇 실시형태에서, tTMB 점수는 개체로부터 수집된 특정한 조직 샘플(예를 들어, 종양 조직 샘플 생검, 예를 들어, 폐암 종양 샘플, 예를 들어, NSCLC 종양 샘플) 내에 축적된 돌연변이를 지칭한다.

[0065] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "기준 tTMB 점수"는, 예를 들어, 진단학적, 예측적, 예후적, 및/또는 치료학적 결정을 하도록 또 다른 tTMB 점수가 비교되는 tTMB 점수를 지칭한다. 예를 들어, 기준 tTMB 점수는 기준 샘플, 기준 집단, 및/또는 미리 결정된 값에서의 tTMB 점수일 수 있다. 몇몇 경우에, 기준 tTMB 점수는 컷오프 값이거나 이보다 높은, 및/또는 컷오프 값보다 낮은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성과 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성 사이의 유의차에 기초하여 동일한 기준 집단에서, 기준 집단에서의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체(예를 들어, 환자)의 제1 하위집단, 및 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체(예를 들어, 환자)의 제2 하위집단을 유의미하게 분리시키는 컷오프 값이다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성은 컷오프 값이거나 이보다 높은 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성에 비해 유의미하게 개선된다. 몇몇 경우에, 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한

개체의 치료에 대한 반응성은 컷오프 값보다 낮은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 개체의 치료에 대한 반응성에 비해 유의미하게 개선된다.

[0066]

기준 tTMB 점수에 대한 숫자 값이 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC) 또는 소세포 폐암), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종 또는 신장 세포 암종(RCC)), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종(예를 들어, 국소 진행성 또는 전이성 요로상피 암종, 예를 들어, 1선(1L) 또는 2선 또는 더 고차의(2L+) 국소 진행성 또는 전이성 요로상피 암종)), 유방암(예를 들어, 인간 표피 성장 인자 수용체-2(HER2)+ 유방암 또는 호르몬 수용체 양성(HR+) 유방암), 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 피부 암(예를 들어, 피부의 편평 세포 암종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL)), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤회막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 용모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핏지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)의 유형, tTMB 점수를 측정하기 위해 사용된 방법론, 및/또는 tTMB 점수를 생성하기 위해 사용된 통계 방법에 따라 변할 수 있다고 당업자에 의해 이해될 것이다.

[0067]

용어 "동등 tTMB 값"은 서열분석된 염기의 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 의해 체세포 변이체(예를 들어, 체세포 돌연변이)의 계수치를 나눔으로써 계산될 수 있는 tTMB 점수에 상응하는 숫자 값을 지칭한다. 일반적으로, tTMB 점수가 서열분석된 게놈 영역의 크기와 직선으로 관련된다고 이해되어야 한다. 이러한 동등 tTMB 값은 tTMB 점수와 비교된 종양 돌연변이 부담의 동등한 정도를 나타내고, 예를 들어, 면역 관문 저해제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵)에 대한 암 환자의 반응을 예측하도록 본 명세서에 기재된 방법에서 상호 호환되어 사용될 수 있다. 예로서, 몇몇 실시형태에서, 동등 tTMB 값은 서열분석된 염기의 수로 체세포 변이체(예를 들어, 체세포 돌연변이)의 계수치를 나눔으로써 계산될 수 있는 정규화된 tTMB 값이다. 예를 들어, 동등 tTMB 값은 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시될 수 있다. 예를 들어, (약 1.1Mb에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 결정된 바와 같은) 약 25의 tTMB 점수는 약 23 돌연변이/Mb의 동등 tTMB 값에 상응한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이 tTMB 점수(예를 들어, 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시되는 TMB 점수)가 상이한 방법론(예를 들어, 전장 엑솜 서열분석 또는 전장 게놈 서열분석)을 이용하여 얻은 동등 tTMB 값을 포함한다고 이해되어야 한다. 예로서, 전장 엑솜 패널에 대해, 표적 영역은 대략 50Mb일 수 있고, 약 500개의 체세포 돌연변이가 검출된 샘플은 약 10 돌연변이/Mb의 tTMB 점수와 동등한 tTMB 값이다. 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑솜의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 tTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 tTMB 점수로부터 약 30% 미만(예를 들어, 약 30% 미만, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 또는 미만만큼 벗어난다. 예를 들어, 문헌[Chalmers et al. *Genome Medicine* 9:34, 2017]을 참조한다.

[0068]

용어 "체세포 돌연변이" 또는 "체세포 변경"은 체조직(예를 들어, 생식선 밖의 세포)에서 생기는 유전자 변경을 지칭한다. 유전자 변경의 예는 점 돌연변이(예를 들어, 또 다른 것에 대한 단일 뉴클레오타이드의 교환(예를 들어, 침묵 돌연변이, 미스센스 돌연변이 및 넌센스 돌연변이)), 삽입 및 결실(예를 들어, 하나 이상의 뉴클레오타이드의 추가 및/또는 제거(예를 들어, 인델)), 중복, 유전자 중복, 카피수 변경(CNA), 재배열 및 스플라이스

변이체를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 몇몇 실시형태에서, 인텔은 하나 이상의 뉴클레오타이드(예를 들어, 약 1개 내지 40개의 뉴클레오타이드)의 프레임시프트 돌연변이 또는 인프레임 돌연변이일 수 있다. 특정한 돌연변이의 존재는 질환 상태(예를 들어, 암, 예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL)), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 적색종, 윤회막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 췌장교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양과 연관될 수 있다.

[0069] 소정의 실시형태에서, 체세포 변이는 침묵 돌연변이(예를 들어, 동의 변경)이다. 다른 실시형태에서, 체세포 변이는 비동의 단일 뉴클레오타이드 변이체(SNV)이다. 다른 실시형태에서, 체세포 변이는 패신저 돌연변이(예를 들어, 클론의 일치성에 대한 검출 가능한 효과를 갖지 않는 변경)이다. 소정의 실시형태에서, 체세포 변이는 불확실한 의미의 변이체(variant of unknown significance: VUS), 예를 들어, 병원성이 확인되지 않고 배제되지 않을 수 있는 변경이다. 소정의 실시형태에서, 체세포 변이는 암 표현형과 연관된 것으로 확인되지 않는다.

[0070] 소정의 실시형태에서, 체세포 변이는 세포 분열, 성장 또는 생존에 대한 효과와 연관되지 않거나 연관된 것으로 공지되지 않는다. 다른 실시형태에서, 체세포 변이는 세포 분열, 성장 또는 생존에 대한 효과와 연관된다.

[0071] 소정의 실시형태에서, 다수의 체세포 변이는 하위-게놈 간격에서 하나 이상의 기능적 변이를 배제한다.

[0072] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 각각 상호 호환되어 사용될 수 있는 용어 "하위-게놈 간격" 및 "하위게놈 간격"은 게놈 서열의 일부를 지칭한다. 몇몇 실시형태에서, 하위게놈 간격은 단일 뉴클레오타이드 위치, 예를 들어, (긍정적으로 또는 부정적으로) 종양 표현형과 연관된 뉴클레오타이드 위치 변이체일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 하위게놈 간격은 하나 초과 뉴클레오타이드 위치를 포함한다. 이러한 실시형태는 적어도 2개, 5개, 10개, 50개, 100개, 150개 또는 250개의 뉴클레오타이드 위치의 길이의 서열을 포함한다. 하위게놈 간격은 전체 유전자, 또는 이의 미리 선택된 일부, 예를 들어, 코딩 영역(또는 이의 일부), 미리 선택된 인트론(또는 이의 일부) 또는 엑손(또는 이의 일부)을 포함할 수 있다. 하위게놈 간격은 천연 발생, 예를 들어, 게놈 DNA, 핵산의 단편의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다. 예를 들어, 하위게놈 간격은 서열분석 반응으로 처리된 게놈 DNA의 단편에 상응할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 하위게놈 간격은 게놈 소스로부터의 연속 서열이다. 다른 실시형태에서, 하위게놈 간격은 게놈에서 인접하지 않은 서열을 포함하고, 예를 들어, 이것은 cDNA에서 엑손-엑손 연결부에서 형성된 연결부를 포함할 수 있다.

[0073] 실시형태에서, 하위게놈 간격은 단일 뉴클레오타이드 위치; 유전자내 영역 또는 유전자간 영역; 엑손 또는 인트론, 또는 이의 단편, 전형적으로 엑손 서열 또는 이의 단편; 코딩 영역 또는 비코딩 영역, 예를 들어, 촉진자, 인핸서, 5' 비번역된 영역(5' UTR) 또는 3' 비번역된 영역(3' UTR), 또는 이의 단편; cDNA 또는 이의 단편; SNV; SNP; 체세포 돌연변이, 생식선 돌연변이 또는 둘 다; 변경, 예를 들어, 점 또는 단일 돌연변이; 결실 돌연변이(예를 들어, 인프레임 결실, 유전자내 결실, 전장 유전자 결실); 삽입 돌연변이(예를 들어, 유전자내 삽입); 역위 돌연변이(예를 들어, 염색체내 역위); 연결 돌연변이; 연결된 삽입 돌연변이; 인버티드 중복 돌연변이; 탠덤 중복(예를 들어, 염색체내 탠덤 중복); 전좌(예를 들어, 염색체 전좌, 비상호 전좌); 재배열(예를 들어, 게놈 재배열(예를 들어, 하나 이상의 인트론, 또는 이의 단편의 재배열; 재배열된 인트론은 5'- 및/또는 3'-UTR을 포함할 수 있음)); 유전자 카피수의 변화; 유전자 발현의 변화; RNA 수준의 변화; 또는 이들의 조합을

포함하거나 이들로 이루어진다.

- [0074] "유전자의 카피수"는 특정한 유전자 산물을 코딩하는 세포에서 DNA 서열의 수를 지칭한다. 일반적으로, 주어진 유전자에 대해, 포유류는 각각의 유전자의 2개의 카피를 갖는다. 카피수는, 예를 들어, 유전자 증폭 또는 증복에 의해 증가되거나, 결실에 의해 감소될 수 있다.
- [0075] 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은 기준 서열(예를 들어, 야생형 또는 비돌연변이된 서열)과 비교하여 세포 분열, 성장 또는 생존에 대한 효과를 갖는(예를 들어, 세포 분열, 성장 또는 생존을 촉진하는) 변경이다. 소정의 실시형태에서, 기능적 변경은 기능적 변경의 데이터베이스, 예를 들어, COSMIC 데이터베이스(문헌[Forbes et al. *Nucl. Acids Res.* 43 (D1): D805-D811, 2015(본 명세서에서 그 전문이 참고로 인용됨) 참조)에서의 포함에 의해 그대로 확인된다. 다른 실시형태에서, 기능적 변경은 (예를 들어, COSMIC 데이터베이스에서의 공지된 체세포 변경으로 생기는) 공지된 기능적 상태를 갖는 변경이다. 소정의 실시형태에서, 기능적 변경은 아마도 기능적 상태를 갖는 변경(예를 들어, 종양 억제자 유전자에서의 결부)이다. 소정의 실시형태에서, 기능적 변경은 드라이버 돌연변이(예를 들어, 세포 생존율 또는 재생성을 증가시킴으로써, 예를 들어, 이의 미세환경에서 클론에 선택적 이점을 주는 변경)이다. 다른 실시형태에서, 기능적 변경은 클론 팽창을 초래할 수 있는 변경이다. 소정의 실시형태에서, 기능적 변경은 하기 중 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 6개를 초래할 수 있는 변경이다: (a) 성장 신호에서의 자촉성; (b) 성장방지 신호에 대한 예를 들어 비민감도의 감소; (c) 아포토시스의 감소; (d) 복제 가능성의 증가; (e) 지속적인 혈관신생; 또는 (f) 조직 침윤 또는 전이.
- [0076] 소정의 실시형태에서, 기능적 변경은 패신저 돌연변이가 아니다(예를 들어, 세포의 클론의 일치성에 대한 검출 가능한 효과를 갖지 않는 변경이 아님). 소정의 실시형태에서, 기능적 변경은 불확실한 의미의 변이체(VUS)가 아니다(예를 들어, 병원성이 확인되지 않고 배제되지 않을 수 있는 변경이 아님).
- [0077] 소정의 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서의 미리 선택된 종양 유전자에서의 복수(예를 들어, 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 초과)의 기능적 변경은 배제된다. 소정의 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서의 미리 선택된 유전자(예를 들어, 종양 유전자)에서의 모든 기능적 변경은 배제된다. 소정의 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서의 복수의 미리 선택된 유전자(예를 들어, 종양 유전자)에서의 복수의 기능적 변경은 배제된다. 소정의 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서의 모든 유전자(예를 들어, 종양 유전자)에서의 모든 기능적 변경은 배제된다.
- [0078] 소정의 실시형태에서, 다수의 체세포 변경은 하위-게놈 간격에서 생식선 돌연변이를 배제한다.
- [0079] 소정의 실시형태에서, 생식선 변경은 SNP, 염기 치환, 삽입, 결실, 인델, 또는 침묵 돌연변이(예를 들어, 동의 돌연변이)이다.
- [0080] 소정의 실시형태에서, 생식선 변경은 일치된 정상 서열과의 비교를 사용하지 않는 방법의 사용에 의해 배제된다. 다른 실시형태에서, 생식선 변경은 체강-생식선-접합성(somatic-germline-zygosity: SGZ) 알고리즘과 같은 알고리즘의 사용을 포함하는 방법에 의해 배제된다(문헌[Sun et al. *Cancer Research* 2014; 74(19S):1893-1893] 참조). 소정의 실시형태에서, 생식선 변경은 생식선 변경의 데이터베이스, 예를 들어, dbSNP 데이터베이스에서의 포함에 의해 그러므로 확인된다(문헌[Sherry et al. *Nucleic Acids Res.* 29(1): 308-311, 2001](본 명세서에서 그 전문이 참고로 인용됨) 참조). 다른 실시형태에서, 생식선 변경은 ExAC 데이터베이스의 2개 이상의 계수치에서의 포함에 의해 그러므로 확인된다(문헌[Exome Aggregation Consortium et al. *bioRxiv preprint*, October 30, 2015](본 명세서에서 그 전문이 참고로 인용됨) 참조). 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 1000 Genome Project 데이터베이스에서의 포함에 의해 그러므로 확인된다(McVean et al. *Nature* 491, 56-65, 2012(본 명세서에서 그 전문이 참고로 인용됨)). 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 ESP 데이터베이스에서의 포함에 의해 그러므로 확인된다(Exome Variant Server, NHLBI GO Exome Sequencing Project(ESP)(워싱턴주 시애틀)).
- [0081] 용어 "PD-L1 축 결합 길항제"는, 결과가 복원되거나 증대된 T 세포 기능인, PD-1 신호전달 축에 대한 신호전달로부터 생긴 T 세포 기능이상을 제거하도록, PD-L1 축 결합 파트너와 이의 결합 파트너의 하나 이상의 상호작용을 저해하는 분자를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제 및 PD-1 결합 길항제, 및 PD-L1과 PD-1 사이의 상호작용(예를 들어, PD-L2-Fc 융합)을 방해하는 분자를 포함한다.
- [0082] 용어 "기능이상"은 면역 기능이상의 맥락에서 항원 자극에 대한 면역 반응성의 감소의 상태를 지칭한다. 상기 용어는 항원 인식이 발생할 수 있지만, 뒤이은 면역 반응이 감염 또는 종양 성장을 조절하기에 비효과적인 "탈진" 및/또는 "아네르기" 둘 다의 혼한 요소를 포함한다.

- [0083] 용어 "기능이상적"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 또한 항원 인식에 대한 불응성 또는 비반응성, 구체적으로, 항원 인식을 하류 T 세포 효과기 기능, 예컨대, 증식, 사이토킨 생성(예를 들어, IL-2) 및/또는 표적 세포 사멸로 변환시키는 능력의 손상을 포함한다.
- [0084] 용어 "아네르기"는 T 세포 수용체를 통해 전달된 불완전한 또는 불충분한 신호로부터 생긴 항원 자극에 대한 비반응성의 상태(예를 들어, Ras 활성화의 부재하의 세포내 Ca^{2+} 의 증가)를 지칭한다. T 세포 아네르기는 또한 동시자극의 부재하에 항원에 의한 자극에 생길 수 있어서, 심지어 동시자극의 맥락에서 항원에 의한 후속하는 활성화에 불응성이 되는 세포를 발생시킨다. 비반응성 상태는 대개 인터류킨-2의 존재에 의해 더 중요해질 수 있다. 아네르기 T 세포는 클론 팽창을 겪고/겪거나, 효과기 기능을 획득하지 않는다.
- [0085] 용어 "탈진"은 많은 만성 감염 및 암 동안 발생하는 지속적인 TCR 신호전달로부터 생기는 T 세포 기능이상의 상태로서 T 세포 탈진을 지칭한다. 이것은 불완전한 또는 결핍 신호전달이 아니라 지속적인 신호전달을 통해 생긴다는 점에서 아네르기와 구별된다. 이것은 불량한 효과기 기능, 저해 수용체의 지속적인 발현 및 기능적 효과기 또는 기억 T 세포의 것과 구별되는 전사 상태로 정의된다. 탈진은 감염 및 종양의 최적 제어를 방지한다. 탈진은 외인성 음성 조절 경로(예를 들어, 면역조절 사이토킨), 및 세포-내인성 음성 조절(동시자극) 경로(PD-1, B7-H3, B7-H4 등) 둘 다로부터 생길 수 있다.
- [0086] "면역원성"은 면역 반응을 유발하는 특정한 물질의 능력을 지칭한다. 종양은 면역원성이고, 종양 면역원성의 증대는 면역 반응에 의한 종양 세포의 청소를 돕는다. 종양 면역원성의 증대의 예는 PD-L1 축 결합 길항제에 의한 치료를 포함한다.
- [0087] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "면역 관문 저해제"는 면역 반응을 조절, 예를 들어, 면역 반응을 하향 조절 또는 저해하도록 적어도 하나의 면역 관문 단백질을 표적화하는 치료제를 지칭한다. 면역 관문 단백질은 당해 분야에 공지되어 있고, 제한 없이, 세포독성 T 림프구 항원 4(CTLA-4), 예정 세포사 1(PD-1), 예정 세포사 리간드 1(PD-L1), 예정 세포사 리간드 2(PD-L2), T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제자(V-domain Ig suppressor of T cell activation: VISTA), B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, 2B4, ICOS, HVEM, CD160, gp49B, PIR-B, KIR 패밀리 수용체, TIM-1, TIM-3, TIM-4, LAG-3, BTLA, SIRP알파(CD47), CD48, 2B4(CD244), B7.1, B7.2, ILT-2, ILT-4, TIGIT, LAG-3, BTLA, IDO, OX40 및 A2aR을 포함한다. 몇몇 경우에, 면역 관문 단백질은 활성화된 T 세포의 표면에서 발현될 수 있다. 본 발명의 방법에서 유용한 면역 관문 저해제로서 작용할 수 있는 치료제는 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, VISTA, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, 2B4, ICOS, HVEM, CD160, gp49B, PIR-B, KIR 패밀리 수용체, TIM-1, TIM-3, TIM-4, LAG-3, BTLA, SIRP알파(CD47), CD48, 2B4(CD244), B7.1, B7.2, ILT-2, ILT-4, TIGIT, LAG-3, BTLA, IDO, OX40 및 A2aR의 하나 이상을 표적화하는 치료제를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제는 하나 이상의 표적화된 면역 관문 단백질의 기능을 증대시키거나 억제한다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 PD-L1 축 결합 길항제이다.
- [0088] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "PD-L1 결합 길항제"는 PD-L1과 이의 결합 파트너, 예컨대, PD-1 및/또는 B7-1 중 하나 이상의 상호작용으로부터 생긴 신호 전달을 감소시키거나, 차단하거나, 저해하거나, 무효화하거나, 방해하는 분자이다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 결합 파트너에 대한 PD-L1의 결합을 저해하는 분자이다. 특정한 양상에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및/또는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 PD-L1과 이의 결합 파트너, 예컨대, PD-1 및/또는 B7-1 중 하나 이상의 상호작용으로부터 생긴 신호 전달을 감소시키거나, 차단하거나, 저해하거나, 무효화하거나, 방해하는 항-PD-L1 항체 및 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 올리고펩타이드, 소분자 길항제, 폴리뉴클레오타이드 길항제 및 다른 분자를 포함한다. 일 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 기능이상 T 세포가 덜 기능이상(예를 들어, 항원 인식에 대한 효과기 반응의 증대)이게 하도록 PD-L1 또는 PD-1을 통해 T 림프구 및 다른 세포에서 발현된 세포 표면 단백질에 의해 또는 이를 통해 매개된 음성 신호를 감소시킨다. 몇몇 실시형태에서, PD-L1 결합 길항제는 항-PD-L1 항체이다. 특정한 양상에서, 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 기재된 YW243.55.S70이다. 또 다른 특정한 양상에서, 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 기재된 MDX-1105이다. 더 또 다른 특정한 양상에서, 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 기재된 MPDL3280A로도 공지된 아테졸리주맙(CAS 등록 번호: 1422185-06-5)이다. 더 또 다른 특정한 양상에서, 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 기재된 MEDI4736(트루발루맙)이다. 더 또 다른 특정한 양상에서, 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 기재된 MSB0010718C(아벨루맙)이다.
- [0089] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "PD-1 결합 길항제"는 PD-L과 이의 결합 파트너, 예컨대, PD-L1 및/또는 PD-L2 중 하나 이상의 상호작용으로부터 생긴 신호 전달을 감소시키거나, 차단하거나, 저해하거나, 무효화하거나,

방해하는 분자이다. 몇몇 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 결합 파트너에 대한 PD-1의 결합을 저해하는 분자이다. 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및/또는 PD-L2에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 예를 들어, PD-1 결합 길항제는 PD-1과 PD-L1 및/또는 PD-L2의 상호작용으로부터 생긴 신호 전달을 감소시키거나, 차단하거나, 저해하거나, 무효화하거나, 방해하는 항-PD-1 항체 및 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 올리고펩타이드, 소분자 길항제, 폴리뉴클레오타이드 길항제 및 다른 분자를 포함한다. 일 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 기능이상 T 세포에 더 적게 기능이상을 부여하도록 PD-1 또는 PD-L1을 통해 T 림프구 및 다른 세포에서 발현된 세포 표면 단백질에 의해 또는 이를 통해 매개된 음성 신호를 감소시킨다. 몇몇 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체이다. 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 본 명세서에 기재된 MDX-1106(니볼루맵)이다. 또 다른 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 본 명세서에 기재된 MK-3475(렘브롤리주맵)이다. 또 다른 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 본 명세서에 기재된 CT-011(피딜리주맵)이다. 또 다른 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 MEDI-0680(AMP-514)이다. 또 다른 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 PDR001이다. 또 다른 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 REGN2810이다. 또 다른 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 BGB-108이다. 또 다른 특정한 양상에서, PD-1 결합 길항제는 본 명세서에 기재된 AMP-224이다.

[0090] 용어 "예정 사멸 리간드 1" 및 "PD-L1"은 본 명세서에서 천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 변이체(즉, PD-L1 폴리펩타이드 변이체), 및 천연 서열 폴리펩타이드 및 폴리펩타이드 변이체의 단편(본 명세서에 추가로 정의됨)을 지칭한다. 본 명세서에 기재된 PD-L1 폴리펩타이드는 다양한 소스, 예컨대, 인간 조직 유형 또는 또 다른 소스로부터 분리되거나, 재조합 또는 합성 방법에 의해 제조된 것일 수 있다.

[0091] "천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드"는 자연으로부터 유래된 상응하는 PD-L1 폴리펩타이드와 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0092] "PD-L1 폴리펩타이드 변이체" 또는 이의 파생어는 본 명세서에 개시된 바와 같은 임의의 천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드 서열과 적어도 약 80%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 본 명세서에 정의된 바와 같은 PD-L1 폴리펩타이드, 일반적으로 활성 PD-L1 폴리펩타이드를 의미한다. 이러한 PD-L1 폴리펩타이드 변이체는 하나 이상의 아미노산 잔기가 천연 아미노산 서열의 N 또는 C 말단에서 첨가되거나 결실된, 예를 들어, PD-L1 폴리펩타이드를 포함한다. 보통, PD-L1 폴리펩타이드 변이체는 본 명세서에 개시된 바와 같은 천연 서열 PD-L1 폴리펩타이드 서열과 적어도 약 80%의 아미노산 서열 동일성, 대안적으로 적어도 약 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%의 아미노산 서열 동일성을 가질 것이다. 보통, PD-L1 폴리펩타이드 변이체는 적어도 약 10개의 아미노산 길이, 대안적으로 적어도 약 20개, 30개, 40개, 50개, 60개, 70개, 80개, 90개, 100개, 110개, 120개, 130개, 140개, 150개, 160개, 170개, 180개, 190개, 200개, 210개, 220개, 230개, 240개, 250개, 260개, 270개, 280개, 281개, 282개, 283개, 284개, 285개, 286개, 287개, 288개 또는 289개 또는 초과인 아미노산 길이이다. 선택적으로, PD-L1 폴리펩타이드 변이체는 천연 PD-L1 폴리펩타이드 서열과 비교하여 1개 이하의 보존적 아미노산 치환, 대안적으로 천연 PD-L1 폴리펩타이드 서열과 비교하여 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 10개 이하의 보존적 아미노산 치환을 가질 것이다.

[0093] 본 명세서에서 상호 호환되어 사용되는 바와 같은 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기, 및/또는 이의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해, 또는 합성 반응에 의해 중합체로 도입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 따라서, 예를 들어, 본 명세서에 정의된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드는, 제한 없이, 단일 및 이중 가닥 DNA, 단일 및 이중 가닥 영역을 포함하는 DNA, 단일 및 이중 가닥 RNA, 및 단일 및 이중 가닥 영역을 포함하는 RNA, 단일 가닥 또는, 더 전형적으로, 이중 가닥일 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하는 하이브리드 분자를 포함하거나, 단일 및 이중 가닥 영역을 포함한다. 또한, 본 명세서에서 사용된 바와 같은 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 RNA 또는 DNA 또는 RNA 및 DNA 둘 다를 포함하는 삼중 가닥 영역을 지칭한다. 이러한 영역에서의 가닥은 동일한 분자 또는 상이한 분자 기원일 수 있다. 그 영역은 분자의 하나 이상의 모두를 포함할 수 있지만, 더 전형적으로 오직 분자의 몇몇의 영역을 포함한다. 삼중 나선 영역의 분자의 하나는 대개 올리고뉴클레오타이드이다. 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 구체적으로 cDNA를 포함한다.

[0094] 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대, 메틸화된 뉴클레오타이드 및 이의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 뉴클레오타이드 구조의 변형은 중합체의 어셈블리 전에 또는 뒤에 부여될 수 있다. 뉴클레오타이드의 서열은 비뉴클레오타이드 성분에 의해 중단될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는, 예컨대, 표지에 의한 집합에 의해 합성 후 추가로 변형될 수 있다. 변형의 다른 유형은, 예를 들어, 유사체, 뉴클레오타이드간 변형을 갖는 천연 발생 뉴클레오타이드, 예를 들어, 비하전된 연결(예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트라이

에스터, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전된 연결(예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로다이에이트 에이트 등)를 갖는 것, 펜던트 모이어티, 예를 들어, 단백질(예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩타이드, 폴리-L-라이신 등)을 함유하는 것, 삽입제(예를 들어, 아크리딘, 소랄렌 등)를 갖는 것, 킬레이터(예를 들어, 금속, 방사능 금속, 붕소, 산화 금속 등)를 함유하는 것, 알킬화제를 함유하는 것, 변형된 연결(예를 들어, 알파 아노머 핵산)을 갖는 것의 하나 이상의 "캡" 치환, 및 폴리뉴클레오타이드(들)의 비변형된 형태를 포함한다. 추가로, 당에 보통 존재하는 임의의 하이드록실기는 추가 뉴클레오타이드에 대한 추가 연결을 제조하도록, 예를 들어, 포스포네이트기, 포스페이트기에 의해 대체되거나, 표준 보호기에 의해 보호되거나, 활성화될 수 있거나, 고체 또는 반고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 1개 내지 20개의 탄소 원자의 아민 또는 유기 캡핑 기 모이어티로 인산화되거나 치환될 수 있다. 다른 하이드록실은 또한 표준 보호기로 탈유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 또한 당해 분야에 일반적으로 공지된 리보스 또는 데옥시리보스 당의 유사한 형태, 예를 들어, 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴-, 2'-플루오로-, 또는 2'-아지도-리보스, 카보사이클릭 당 유사체, α -아노머 당, 에피머 당, 예컨대, 아라비노스, 자일로스 또는 라이속스, 피라노스 당, 퓨라노스 당, 세도헥톨로스, 비환식 유사체, 및 비염기성 뉴클레오사이드 유사체, 예컨대, 메틸 리보사이드를 함유할 수 있다. 하나 이상의 포스포다이에스터 연결은 대안적인 연결기에 의해 대체될 수 있다. 이 대안적인 연결기는 포스페이트가 선택적으로 에테르(-O-) 연결, 아릴, 알케닐, 사이클로알킬, 사이클로알케닐 또는 아탈릴을 함유하는 P(O)S("티오에이트"), P(S)S("다이티오에이트"), (O)NR₂("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH₂("폼아세탈")(여기서, 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H 또는 치환된 또는 비치환된 알킬(1개 내지 20개의 C)임)에 의해 대체된 실시형태를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 폴리뉴클레오타이드에서의 모든 연결이 동일할 필요는 없다. 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형의 하나 이상의 상이한 유형 및/또는 동일한 유형의 다수의 변형을 함유할 수 있다. 이전의 설명은 RNA 및 DNA를 포함하는 본 명세서에서 칭해지는 모든 폴리뉴클레오타이드에 적용된다.

- [0095] "올리고뉴클레오타이드"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 일반적으로 반드시는 아니지만 약 250개 미만의 뉴클레오타이드 길이인 짧은 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 올리고뉴클레오타이드는 합성될 수 있다. 용어 "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 상기 설명은 올리고뉴클레오타이드에 동등하게 완전히 적용 가능하다.
- [0096] 용어 "프라이머"는 핵산에 혼성화하고 상보성 핵산의 중합을 허용할 수 있어서, 일반적으로 유리 3'-OH 기를 제공하는 단일 가닥 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다.
- [0097] 용어 "소분자"는 약 2000달톤 이하, 바람직하게 약 500달톤 이하의 분자량을 갖는 임의의 분자를 지칭한다.
- [0098] 용어 "숙주 세포", "숙주 세포주" 및 "숙주 세포 배양"은 상호 교환되어 사용되고, 외인성 핵산이 도입된 세포 및 이러한 세포의 자손을 지칭한다. 숙주 세포는 계대배양의 수와 관련 없이 1차 형질전환된 세포 및 이로부터 유래된 자손을 포함하는 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"를 포함한다. 자손은 모 세포와 핵산 함량이 완전히 동일하지 않을 수 있지만, 돌연변이를 함유할 수 있다. 원래 형질전환된 세포에서 스크리닝되거나 선택된 바와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손은 본 명세서에 포함된다.
- [0099] 용어 "벡터"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 이것이 연결된 또 다른 핵산을 전파시킬 수 있는 핵산 분자를 지칭한다. 상기 용어는 자가 복제 핵산 구조로서의 벡터, 및 이것이 도입된 숙주 세포의 계놈으로 도입된 벡터를 포함한다. 소정의 벡터는 이것이 작동적으로 연결된핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 벡터는 본 명세서에서 "발현 벡터"라 칭해진다.
- [0100] "단리된" 핵산은 천연 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 지칭한다. 단리된 핵산은 보통 핵산 분자를 함유는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함하지만, 핵산 분자는 염색체외로 또는 천연 염색체 위치와 상이한 염색체 위치에서 존재한다.
- [0101] 본 명세서에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 이들이 원하는 항원 결합 활성을 함유하는 한, 단일 클론 항체, 다중클론 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체) 및 항체 단편(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 다양한 항체 구조를 포함한다.
- [0102] "단리된" 항체는 천연 환경의 성분으로부터 확인되고/되거나 분리되고/되거나 회수된 것이다. 천연 환경의 오염 물질 성분은 항체에 대한 조사, 진단학적, 및/또는 치료학적 사용을 방해하는 재료이고, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 (1) 예를 들어, Lowry 방법에 의해 결정된 바와 같이 항체의 95중량% 초과로, 및 몇몇 실시형태에서, 99중량% 초과로; (2) 예를 들어, 스피닝

컵 시퀀네이터(spinning cup sequenator)의 사용에 의해 N 말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개의 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 예를 들어, 쿠마시 블루 또는 은 염색을 사용한 환원 또는 비환원 조건하에 SDS-PAGE에 의해 균질성으로 정제된다. 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않으므로, 단리된 항체는 재조합 세포 내에 인시츄 항체를 포함한다. 그러나, 보통, 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

- [0103] "천연 항체"는 보통 2개의 동일한 경쇄(L) 및 2개의 동일한 중쇄(H)로 이루어진 약 150,000달톤의 이종사합체 당단백질이다. 각각의 경쇄는 하나의 공유 다이설파이드 결합에 의해 중쇄에 연결되지만, 다이설파이드 연결의 수는 상이한 면역글로불린 아이소유형의 중쇄 사이에 변한다. 각각의 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적으로 이격된 사슬내 다이설파이드 브리지를 갖는다. 각각의 중쇄는 하나의 말단에서 가변 도메인(VH), 이어서 다수의 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 하나의 말단에서 가변 도메인(VL) 및 이의 다른 말단에서 불변 도메인을 갖고; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되고, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정한 아미노산 잔기는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 생각된다.
- [0104] 임의의 포유류 종으로부터의 항체(면역글로불린)의 "경쇄"는, 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 카파("κ") 및 람다("λ")라 불리는, 2개의 명확히 구별되는 유형 중 하나로 지정될 수 있다.
- [0105] 용어 "불변 도메인"은 항원 결합 부위를 함유하는 가변 도메인인 면역글로불린의 다른 부분에 대해 더 보존된 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 분자의 부분을 지칭한다. 불변 도메인은 중쇄의 CH1, CH2 및 CH3 도메인(총체적으로, CH) 및 경쇄의 CHL(또는 CL) 도메인을 함유한다.
- [0106] 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노 말단 도메인을 지칭한다. 중쇄의 가변 도메인은 "VH"라 칭해질 수 있다. 경쇄의 가변 도메인은 "VL"이라 칭해질 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로 항체의 가장 가변적인 부분이고, 항원 결합 부위를 함유한다.
- [0107] 용어 "가변적"은 가변 도메인의 소정의 부분이 항체 중에서 서열에서 광범위하게 다르고 특정한 항원에 대해 각각의 특정한 항체의 결합 및 특이성에서 사용된다는 사실을 지칭한다. 그러나, 가변성은 항체의 가변 도메인에 걸쳐 균등하게 분포되지 않는다. 이것은 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 둘 다에서 초가변 영역(hypervariable region: HVR)이라 불리는 3개의 분절로 농축된다. 가변 도메인의 더 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역(framework region: FR)이라 불린다. 각각 천연 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인은, 베타-시트 구조를 연결하고 몇몇 경우에 이의 일부를 형성하는 루프를 형성하는, 3개의 HVR에 의해 연결된, 베타-시트 구성을 주로 채택하는, 4개의 FR 영역을 포함한다. 각각의 사슬에서의 HVR은 FR 영역에 의해 근접하게 밀접하여 함께 보유되고, 다른 사슬로부터의 HVR에 의해, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다(문헌[Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)] 참조). 불변 도메인은 항원에 대한 항체의 결합에 직접 관여되지 않고, 다양한 효과기 기능, 예컨대, 항체 의존적 세포 독성에서 항체의 참여를 나타낸다.
- [0108] 용어 "초가변 영역", "HVR" 또는 "HV"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 서열에서 고가변적이고/이거나 구조적으로 정의된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 HVR; VH에서 3개(H1, H2, H3), 및 VL에서 3개(L1, L2, L3)를 포함한다. 천연 항체에서, H3 및 L3은 6개의 HVR의 최대의 다양성을 나타내고, H3은 특히 항체에 대한 미세한 특이성을 부여하는 데 고유한 역할을 하는 것으로 생각된다. 예를 들어, 문헌[Xu et al., *Immunity* 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, in *Methods in Molecular Biology* 248:1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003)]을 참조한다. 실제로, 오직 중쇄로 이루어진 천연 발생 낙타 항체는 경쇄의 부재하에 기능적이고 안정하다. 예를 들어, 문헌[Hamers-Casterman et al., *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3:733-736 (1996)]을 참조한다.
- [0109] 다수의 HVR 기술은 사용되고 본 명세서에 포함된다. 카바트 상보성 결정 영역(Complementarity Determining Region: CDR)은 서열 가변성에 기초하고, 가장 흔히 사용되는 것이다(Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). 초티아는 대신에 구조 루프의 위치를 지칭한다(Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). AbM HVR은 카바트 HVR과 초티아 구조 루프 사이의 절충을 나타내고, Oxford Molecular의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다. "접촉" HVR은 이용 가능한 복합체 결정 구조의 분석에 기초한다. 이들 HVR의 각각으로부터의 잔기는 하기 기재된다.

루프	카뱃	AbM	효티아	접촉
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35b	H26-H35b	H26-H32	H30-H35b (카뱃 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (효티아 넘버링)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0110]

[0111]

HVR은 하기와 같이 "연장된 HVR"을 포함할 수 있다: VL에서의 24 내지 36 또는 24 내지 34(L1), 46 내지 56 또는 50 내지 56(L2) 및 89 내지 97 또는 89 내지 96(L3) 및 VH에서의 26 내지 35(H1), 50 내지 65 또는 49 내지 65(H2) 및 93 내지 102, 94 내지 102 또는 95 내지 102(H3). 가변 도메인 잔기는 이들 정의의 각각에 대해 상기 카뱃 등에 따라 넘버링된다.

[0112]

"프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본 명세서에 정의된 바와 같은 HVR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

[0113]

용어 "카뱃에서와 같은 가변 도메인 잔기 넘버링" 또는 "카뱃에서와 같은 아미노산 위치 넘버링" 및 이의 파생어는 상기 카뱃 등에서 항체의 모음의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 사용되는 넘버링 시스템을 지칭한다. 이 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 짧아짐, 또는 이것으로의 삽입에 상응하는 더 적거나 추가적인 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 H2의 52번 잔기 후 단일 아미노산 삽입체(카뱃에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 82번 잔기 후 삽입된 잔기(예를 들어, 카뱃에 따른 잔기 82a, 82b 및 82c)를 포함할 수 있다. 잔기의 카뱃 넘버링은 "표준" 카뱃 넘버링된 서열과 항체의 서열의 상동성의 영역에서의 정렬에 의해 주어진 항체에 대해 결정될 수 있다.

[0114]

카뱃 넘버링시스템은 일반적으로 가변 도메인에서의 잔기(경쇄의 대략 1번 내지 107번 잔기 및 중쇄의 1번 내지 113번 잔기)를 언급할 때 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)]). "EU 넘버링 시스템" 또는 "EU 지수"는 일반적으로 번역글로불린 중쇄 불변 영역에서의 잔기를 지칭할 때 사용된다(예를 들어, 상기 카뱃 등이 보고한 EU 지수). "카뱃에서와 같은 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다.

[0115]

용어 "전장 항체", "온전한 항체" 및 "전체 항체"는 하기에 정의된 바와 같은 항체 단편이 아니라 실질적으로 온전한 형태의 항체를 지칭하도록 본 명세서에 상호 호환되어 사용된다. 상기 용어는 특히 Fc 영역을 함유하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.

[0116]

"항체 단편"은 바람직하게는 항원 결합 영역을 포함하는 온전한 항체의 일부를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 단편은 항원 결합 단편이다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 다이아바디; 선형 항체; 단일 사슬 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

[0117]

항체의 과파인 분해는 각각 단일 항원 결합 부위를 갖는 "Fab" 단편이라 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편, 및 잔류 "Fc" 단편을 생성하고, 이의 명칭은 용이하게 결정화하는 이의 능력을 반영한다. 펩신 처리는 2개의 항원 조합 부위를 갖는 F(ab')₂ 단편을 생성하고, 여전히 항원을 가교결합시킬 수 있다. "Fv"는 완전한 항원 결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 2개 사슬 Fv 중은 단단한 비공유 회합으로 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이합체로 이루어진다. 단일 사슬 Fv(scFv) 중에서, 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 도메인은 가요성 펩타이드 링커에 의해 공유 연결될 수 있어서, 경쇄 및 중쇄는 2개 사슬 Fv 중에서의 것과 유사한 "이합체" 구조에서 회합할 수 있다. 각각의 가변 도메인의 3개의 HVR이 VH-VL 이합체의 표면에서 항원 결합 부위를 한정하도록 상호작용하는 것인 이 구성에서이다. 총체적으로, 6개의 HVR은 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 심지어 단일 가변 도메인(또는 항원에 특이적인 3개의 HVR을 오직 포함하는 Fv의 절반)은 전체 결합 부위보다 더 낮은 친화도이지만 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는다.

[0118]

Fab 단편은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 함유하고, 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 함유한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복시 말단에서 적은 잔기의 첨가에 의해 Fab 단편과 다르다. Fab'-SH는 본 명세서에서 Fab'에 대한 지칭이고, 여기서 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)는 유리 티올기를 보유한다. F(ab')₂ 항체 단편은 원래 이들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로서 제조되었다. 항체 단편의 다른 화학 커플링은 또한 공지되어 있다.

[0119]

"단일 사슬 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하고, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩타이드 사슬에 존재한다. 일반적으로, scFv 폴리펩타이드는 scFv가 항원 결합에 대해 원하는 구조를 형성하게

하는 VH 및 VL 도메인 사이에 폴리펩타이드 링커를 더 포함한다. scFv의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌 [Pluckthün, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York, 1994), pp. 269-315]을 참조한다.

[0120] 용어 "다이하바디"는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편을 지칭하고, 이 단편은 동일한 폴리펩타이드 사슬 (VH-VL)에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 동일한 사슬에서 2개의 도메인 사이의 짝짓기를 허용하기에 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 또 다른 사슬의 상보성 도메인과 짝짓기 하고 2개의 항원 결합 부위를 생성하도록 강제된다. 다이하바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있다. 다이하바디 는, 예를 들어, EP 제404,097호; WO 제1993/01161호; 문헌[Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)]에 더 완전히 기재되어 있다. 트라이아 바디 및 테트라바디는 또한 문헌[Hudson et al., *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.

[0121] 항체의 "종류"는 중쇄가 보유하는 불변 도메인 또는 불변 영역의 유형을 지칭한다. 항체의 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 5개의 주요 종류가 있고, 이들 중 몇몇은 하위종류(아이소유형), 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 분할될 수 있다. 항체의 상이한 종류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 라 불린다.

[0122] 용어 "단일클론 항체"는 본 명세서에서 사용된 바와 같이 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 얻은 항체를 지칭하고, 예를 들어, 집단을 포함하는 개체 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 돌연변이, 예를 들어, 천연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 따라서, 수식어 "단일클론"은 별개의 항체의 혼합물이 아닌 것으로 항 체의 특성을 표시한다. 소정의 실시형태에서, 이러한 단일클론 항체는 전형적으로 표적에 결합하는 폴리펩타이 드 서열을 포함하는 항체를 포함하고, 여기서 표적 결합 폴리펩타이드 서열은 복수의 폴리펩타이드 서열로부터 의 단일 표적 결합 폴리펩타이드 서열의 선택을 포함하는 과정에 의해 얻어졌다. 예를 들어, 선택 과정은 복수 의 클론, 예컨대, 하이브리도마 클론, 파지 클론 또는 재조합 DNA 클론의 풀로부터의 고유한 클론의 선택일 수 있다. 선택된 표적 결합 서열이, 예를 들어, 표적에 대한 친화도를 개선하도록, 표적 결합 서열을 인간화하 도록, 세포 배양에서 이의 산물을 개선하도록, 생체내 이의 면역원성을 감소시키도록, 다중특이적 항체 등을 생 성하도록 추가로 변경될 수 있고, 변경된 표적 결합 서열을 포함하는 항체가 또한 본 발명의 단일클론 항체인 것으로 이해되어야 한다. 상이한 결정부위(에피토프)에 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다중클론 항 체 조제와 반대로, 단일클론 항체 조제의 각각의 단일클론 항체는 항원에서의 단일 결정부위에 대해 지향된다. 이의 특이성 이외에, 단일클론 항체 조제는 이것이 다른 면역글로불린에 의해 전형적으로 오염되지 않는다는 점 에서 유리하다.

[0123] 수식어 "단일클론"은 항체의 특징을 실질적으로 균질한 항체 집단으로부터 얻는 것으로 나타내고, 임의의 특정 한 방법에 의한 항체의 제조를 요하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단일 클론 항체는, 예를 들어, 하이브리도마 방법(예를 들어, 문헌[Kohler and Milstein, *Nature* 256:495-97 (1975); Hongo et al., *Hybridoma* 14 (3): 253-260 (1995), Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)]), 재조합 DNA 방법(예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조), 파지 디스플레이 기술(예를 들어, 문헌[Clackson et al., *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004)] 참조), 및 인간 면역글로불린 서열을 코딩하 는 인간 면역글로불린 유전좌위 또는 유전자의 일부 또는 전부를 갖는 동물에서 인간 또는 인간 유사 항체를 제 조하기 위한 기술(예를 들어, WO 제1998/24893호; WO 제1996/34096호; WO 제1996/33735호; WO 제1991/10741호; 문헌[Jakovovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakovovits et al., *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7:33 (1993)]); 미국 특허 제5,545,807호; 제5,545,806 호; 제5,569,825호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 및 제5,661,016호; 문헌[Marks et al., *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnol.* 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14: 826 (1996); 및 Lonberg et al., *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995)] 참조)을 포함하는 다양한 기법에 의해 제조될 수 있다.

[0124] 단일클론 항체는 본 명세서에서 구체적으로, 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가

특정한 종으로부터 유래되거나 특정한 항체 종류 또는 하위종류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 이에 상응하지만, 사슬(들)의 나머지가 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 종류 또는 하위종류에 속하는 항체, 및 이러한 항체의 단편에서 상응하는 서열과 동일하거나 이에 상응하는 "키메라" 항체를 포함한다 (예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호; 및 문헌[Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984)] 참조). 키메라 항체는 항체의 항원 결합 영역이, 예를 들어, 관심 대상의 항원으로 마카크 원숭이를 면역화함으로써 제조된 항체로부터 유래된 PRIMATIZED(등록상표) 항체를 포함한다.

[0125] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 제조되거나 인간 항체 레퍼토리 또는 다른 인간 항체-코딩 서열을 사용하는 비인간 소스로부터 유래된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 것이다. 인간 항체의 정의는 구체적으로 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화된 항체를 배제한다.

[0126] "인간화된" 항체는 비인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 프레임워크 영역(FR)으로부터 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 지칭한다. 소정의 실시형태에서, 인간화된 항체는 적어도 1개 및 전형적으로 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함할 것이고, 여기서 HVR(예를 들어, CDR)의 모두 또는 실질적으로 모두는 비인간 항체의 것에 상응하고, FR의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 항체의 것에 상응한다. 인간화된 항체는 선택적으로 인간 항체로부터 유래된 항체 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. 항체, 예를 들어, 비인간 항체의 "인간화된 형태"는 인간화를 겪은 항체를 지칭한다.

[0127] 용어 "항-PD-L1 항체" 및 "PD-L1에 결합하는 항체"는 항체가 PD-L1을 표적화하는 데에 진단제 및/또는 치료제로서 유용하도록 충분한 친화도로 PD-L1에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 일 실시형태에서, 비연관된 비-PD-L1 단백질에 대한 항-PD-L1 항체의 결합의 정도는, 예를 들어, 방사면역검정(radioimmunoassay: RIA)에 의해 측정된 바와 같이 PD-L1에 대한 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 상이한 종으로부터의 PD-L1 중에서 보존된 PD-L1의 에피토프에 결합한다.

[0128] 용어 "항-PD-1 항체" 및 "PD-1에 결합하는 항체"는, 항체가 PD-1을 표적화하는 데에 진단제 및/또는 치료제로서 유용하는 충분한 친화도로 PD-1에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 일 실시형태에서, 비관련된 비-PD-1 단백질에 대한 항-PD-1 항체의 결합의 정도는, 예를 들어, 방사면역검정(RIA)에 의해 측정된 바와 같이, PD-1에 대한 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 상이한 종으로부터의 PD-1 중에서 보존된 PD-1의 에피토프에 결합한다.

[0129] "차단" 항체 또는 "길항제" 항체는 이것이 결합하는 항원의 생물학적 활성을 저해하거나 감소시키는 것이다. 바람직한 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 실질적으로 또는 완전히 저해한다.

[0130] "친화도"는 분자의 단일 결합 부위(예를 들어, 항체)와 이의 결합 파트너(예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 합 전체의 강도를 지칭한다. 달리 표시되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "결합 친화도"는 결합 쌍(예를 들어, 항체 및 항원)의 구성원 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 고유한 결합 친화도를 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화도는 일반적으로 해리 상수(Kd)로 표시될 수 있다. 친화도는 본 명세서에 기재된 것을 포함하는 당해 분야에 공지된 일반 방법에 의해 측정될 수 있다. 결합 친화도를 측정하기 위한 구체적인 예시적인 및 예시적인 실시형태는 하기에 기재되어 있다.

[0131] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "결합한다", "특이적으로 결합한다" 또는 "특이적"이라는, 생물학적 분자를 포함하는 분자의 불균질한 집단의 존재하에 표적의 존재의 대안인, 측정 가능한 및 재현 가능한 상호작용 사이의 결합, 예컨대, 표적과 항체 사이의 결합을 지칭한다. 예를 들어, 표적(에피토프일 수 있음)에 결합하거나 특이적으로 결합하는 항체는 더 높은 친화도로, 친화력으로, 더 용이하게, 및/또는 이것이 다른 표적에 결합하는 더 긴 기간으로 이 표적에 결합하는 항체이다. 일 실시형태에서, 비관련된 표적에 대한 항체의 결합의 정도는, 예를 들어, 방사면역검정(RIA)에 의해 측정된 바와 같이 표적에 대한 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 소정의 실시형태에서, 표적에 특이적으로 결합하는 항체는 1 μ M 이하, 100nM 이하, 10nM 이하, 1nM 이하 또는 0.1nM 이하의 해리 상수(Kd)를 갖는다. 소정의 실시형태에서, 항체는 상이한 종으로부터의 단백질 중에서 보존된 단백질에서의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 또 다른 실시형태에서, 특이적 결합은 배타적 결합을 포함할 수 있지만, 이를 요하지 않는다.

[0132] "친화도 성숙된" 항체는, 이러한 변경을 보유하지 않는 모 항체와 비교하여 하나 이상의 초가변 영역(HVR)에서의 하나 이상의 변경을 갖는 항체를 지칭하고, 이러한 변경은 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시킨다.

[0133] 기준 항체와 "동일한 에피토프에 결합하는 항체"는 50% 이상만큼 경쟁 검정에서 항원에 대한 기준 항체의 결합을 차단하는 항체를 지칭하고, 반대로, 기준 항체는 50% 이상만큼 경쟁 검정에서 항원에 대한 항체의 결합을 차

단한다.

- [0134] "면역접합체"는 세포독성제(이들로 제한되지는 않음)를 포함하는 하나 이상의 비상동성 분자(들)에 접합된 항체이다.
- [0135] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "면역접합체"는 면역글로불린 불변 도메인의 효과기 기능을 갖는 비상동성 단백질("부착분자")의 결합 특이성을 조합하는 항체 유사 분자를 지칭한다. 구조적으로, 면역접합체는 항체의 항원 인식 및 결합 부위가 아닌 원하는 결합 특이성을 갖는 아미노산 서열(즉, "비상동성"임) 및 면역글로불린 불변 도메인 서열의 융합을 포함한다. 면역접합체 분자의 부착분자 부분은 전형적으로 수용체 또는 리간드의 적어도 결합 부위를 포함하는 인접 아미노산 서열이다. 면역접합체에서의 면역글로불린 불변 도메인 서열은 임의의 면역글로불린, 예컨대, IgG1, IgG2(IgG2A 및 IgG2B 포함), IgG3 또는 IgG4 아형, IgA(IgA1 및 IgA2 포함), IgE, IgD 또는 IgM로부터 얻어질 수 있다. Ig 융합은 바람직하게는 Ig 분자 내의 적어도 하나의 가변 영역 대신에 본 명세서에 기재된 폴리펩타이드 또는 항체의 도메인의 치환을 포함한다. 특히 바람직한 실시형태에서, 면역글로불린 융합은 힌지, CH2 및 CH3, 또는 IgG1 분자의 힌지, CH1, CH2 및 CH3 영역을 포함한다. 면역글로불린 융합의 제조에 대해 또한 US 특허 제5,428,130호를 참조한다. 예를 들어, 본 명세서에서 치료에 유용한 약제로서 유용한 면역접합체는 각각, 면역글로불린 서열의 불변 도메인, 예컨대, PD-L1 ECD-Fc, PD-L2 ECD-Fc 및 PD-1 ECD-Fc에 융합된, PD-L1 또는 PD-L2의 세포의 도메인(ECD) 또는 PD-1 결합 부분, 또는 PD-1의 세포의 또는 PD-L1 또는 PD-L2 결합 부분을 포함하는 폴리펩타이드를 포함한다. 세포 표면 수용체의 ECD 및 Ig Fc의 면역접합체 조합은 때때로 가용성 수용체라 칭해진다.
- [0136] "융합 단백질" 및 "융합 폴리펩타이드"는 함께 공유로 연결된 2개의 부분을 갖는 폴리펩타이드를 지칭하고, 여기서 이 부분의 각각은 상이한 특성을 갖는 폴리펩타이드이다. 특성은 시험관내 또는 생체내 활성과 같은 생물학적 특성일 수 있다. 특성은 또한 단순한 화학 또는 물리적 특성, 예컨대, 표적 분자에 대한 결합, 반응의 촉매 동일 수 있다. 2개의 부분은 단일 펩타이드 결합에 의해 또는 펩타이드 링커를 통해 직접적으로 연결될 수 있지만, 서로 리딩 프레임에 있다.
- [0137] 본 명세서에서 확인된 폴리펩타이드 서열과 관련하여 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성"은, 서열 동일성의 일부로서 임의의 보존적 치환을 고려하지 않고, 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해, 필요한 경우, 서열을 정렬하고 갭을 도입함으로써 비교되는 폴리펩타이드에서 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열에서의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성의 결정의 목적을 위한 정렬은, 예를 들어, 공공으로 구입 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 당해 분야의 기술 내에 있는 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하는 정렬을 측정하기 위한 적절한 매개변수를 결정할 수 있다. 그러나, 본 명세서에서의 목적을 위해, % 아미노산 서열 동일성 값은 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하여 생성된다. ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은 Genentech, Inc.에 의해 권한 부여받고, 소스 코드는 미국 저작권청(Copyright Office, 워싱턴 D.C. 20559)에서 사용자 기록으로 제출되었고, 여기서 이것은 미국 저작권 등록 번호 TXU510087로 등록되었다. ALIGN-2 프로그램은 Genentech, Inc.(캘리포니아주 사우스 샌프란시스코)에 의해 권한 부여받는다. ALIGN-2 프로그램은 UNIX 조작 시스템, 바람직하게 디지털 UNIX V4.0D에서 사용하도록 컴파일되어야 한다. 모든 서열 비교 매개변수는 ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되고, 변하지 않는다.
- [0138] ALIGN-2가 아미노산 서열 비교에 이용되는 상황에서, 주어진 아미노산 서열 B와, 이것에 의한 또는 이것에 대한 주어진 아미노산 서열 A의 % 아미노산 서열 동일성(주어진 아미노산 서열 B와, 이것에 의한 또는 이것에 대한 소정의 % 아미노산 서열 동일성을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로 대안적으로 표현될 수 있음)은 하기처럼 계산된다:
- [0139] $100 \times X/Y$ 분수
- [0140] 여기서, X는 A 및 B의 그 프로그램의 정렬에서 서열 정렬 프로그램 ALIGN-2에 의한 동일한 일치로 점수매긴 아미노산 잔기의 수이고, 여기서 Y는 B에서의 아미노산 잔기의 전체 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우, B에 대한 A의 % 아미노산 서열 동일성이, A에 대한 B의 % 아미노산 서열 동일성과 동일하지 않다고 이해될 것이다. 구체적으로 달리 기재되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 % 아미노산 서열 동일성 값은 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 바로 이전의 문단에 기재된 바와 같이 얻어진다.
- [0141] 용어 "검출"은 직접적인 및 간접적인 검출을 포함하는 임의의 검출 수단을 포함한다.
- [0142] 용어 "바이오마커"는 본 명세서에서 사용된 바와 같이 샘플에서 검출될 수 있는 예측적, 진단학적, 및/또는 예

후적과 같은 표시자, 예를 들어, bTMB 점수, tTMB 점수 또는 PD-L1을 지칭한다. 바이오마커는 소정의 분자적, 병리학적, 조직학적, 및/또는 임상적 특징(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료에 대한 반응성)을 특징으로 하는 질환 또는 장애(예를 들어, 암)의 특정한 아형의 표시자로서 작용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 바이오마커는 유전자의 수집 또는 유전자의 수집에서의 돌연변이/변경(예를 들어, 체세포 돌연변이)의 총체적 수이다. 바이오마커는 폴리뉴클레오타이드(예를 들어, DNA 및/또는 RNA), 폴리뉴클레오타이드 변경(예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 카피수 변경, 예를 들어, DNA 카피수 변경), 폴리펩타이드, 폴리펩타이드 및 폴리뉴클레오타이드 변형(예를 들어, 번역후 변형), 탄수화물, 및/또는 당지질 기반 분자 마커를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0143] 개체에 대해 임상 이익의 증가와 연관된 체세포 돌연변이의 "양" 또는 "수"는 생물학적 샘플에서 검출 가능한 수준이다. 이것은 당업자에게 공지되고 또한 본 명세서에 개시된 방법에 의해 측정될 수 있다. 평가되는 체세포 돌연변이의 양은 치료에 대한 반응을 결정하도록 사용될 수 있다.

[0144] "증폭"은 본 명세서에서 사용된 바와 같이 일반적으로 원하는 서열의 다수의 카피를 생성하는 과정을 지칭한다. "다수의 카피"는 적어도 2개의 카피를 의미한다. "카피"는 주형 서열과 상보적이거나 동일한 완전한 서열을 반드시 의미하지 않는다. 예를 들어, 카피는 뉴클레오타이드 유사체, 예컨대, 데옥시이노신, 의도적인 서열 변경(예컨대, 주형에 상보적이 아니라 혼성화 가능한 서열을 포함하는 프라이머를 통해 도입된 서열 변경), 및/또는 증폭 동안 생긴 서열 오차를 포함할 수 있다.

[0145] "중합효소 사슬 반응" 또는 "PCR"의 기법은 본 명세서에서 사용된 바와 같이 일반적으로 핵산, RNA 및/또는 DNA의 특정한 조각의 적은 양이, 예를 들어, 미국 특허 제4,683,195호에 기재된 바와 같이 증폭되는 절차를 지칭한다. 일반적으로, 올리고뉴클레오타이드 프라이머가 설계될 수 있도록 관심 대상의 또는 관심이 없는 영역의 단부로부터의 서열 정보는 이용 가능할 필요가 없고; 이 프라이머는 증폭되는 주형의 반대의 가닥에 서열이 동일하거나 유사할 것이다. 2개의 프라이머의 5' 말단 뉴클레오타이드는 증폭된 재료의 단부와 일치할 수 있다. PCR은 특정한 RNA 서열, 전체 게놈 DNA로부터의 특정한 DNA 서열, 및 전체 세포 RNA, 박테리오파지 또는 플라스미드 서열로부터 전사된 cDNA 등을 증폭시키도록 사용될 수 있다. 일반적으로 문헌[Mullis et al., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51:263 (1987) 및 Erlich, ed., *PCR Technology*, (Stockton Press, NY, 1989)]을 참조한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, PCR은 프라이머로서 공지된 핵산(DNA 또는 RNA)의 사용을 포함하는 핵산 시험 샘플을 증폭시키기 위한 핵산 중합효소 반응 방법의 하나(그러나 유일하지 않음)인 것으로 생각되고, 핵산의 특정한 조각을 증폭시키거나 생성하기 위해 또는 특정한 핵산에 상보적인 핵산의 특정한 조각을 증폭시키거나 생성하기 위해 핵산 중합효소를 사용한다.

[0146] 용어 "진단"은 분자의 확인 또는 분류 또는 병리학적 상태, 질환 또는 병태(예를 들어, 암)를 지칭하도록 본 명세서에서 사용된다. 예를 들어, "진단"은 암의 특정한 유형의 확인을 지칭할 수 있다. "진단"은 또한, 예를 들어, 조직병리학적 기준에 의한, 또는 분자 특징(예를 들어, 바이오마커의 하나 또는 조합의 발현을 특징으로 하는 아형(예를 들어, 상기 유전자에 의해 코딩된 특정한 유전자 또는 단백질))에 의한 암의 특정한 아형의 분류를 지칭할 수 있다.

[0147] 용어 "진단을 보조"는 질환 또는 장애(예를 들어, 암)의 증상 또는 컨디션의 특정한 유형의 존재 또는 성질에 관한 임상 결정을 하는 것을 돕는 방법을 지칭하도록 본 명세서에서 사용된다. 예를 들어, 질환 또는 병태(예를 들어, 암)의 진단을 보조하는 방법은 개체로부터의 생물학적 샘플에서 소정의 체세포 돌연변이를 측정하는 것을 포함할 수 있다.

[0148] 용어 "샘플"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 예를 들어, 물리적, 생화학, 화학적, 및/또는 생리학적 특징에 기초하여 규명되고/되거나 확인되어야 하는 세포 및/또는 다른 분자 집합체를 함유한 관심 대상의 대상체 및/또는 개체로부터 얻거나 유래된 조성물을 지칭한다. 예를 들어, 구절 "질환 샘플" 및 이의 파생어는 규명되어야 하는 세포 및/또는 분자 집합체를 함유하는 것으로 예상되거나 공지된 관심 대상의 대상체로부터 얻은 임의의 샘플을 지칭한다. 샘플은 조직 샘플, 1차 또는 배양된 세포 또는 세포주, 세포 상청액, 세포 용해물, 혈소판, 혈청, 혈장, 유리체액, 림프액, 활액, 난포액, 정액, 양수, 젖, 전혈, 혈장, 혈청, 혈액 유래된 세포, 소변, 뇌척수액, 타액, 가래, 눈물, 땀, 점액, 종양 용해물, 및 조직 배양 배지, 조직 추출물, 예컨대, 균질화된 조직, 종양 조직, 세포 추출물, 및 이들의 조합을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 몇몇 경우에, 샘플은 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합이다.

[0149] "종양 세포"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 종양 또는 이의 샘플에 존재하는 임의의 종양 세포를 지칭한다. 종양 세포는 당해 분야에 공지된 및/또는 본 명세서에 기재된 방법을 이용하여 종양 샘플에 존재할 수 있는

다른 세포, 예를 들어, 기질 세포 및 종양 침윤 면역 세포로부터 구별 가능할 수 있다.

- [0150] "기준 샘플", "기준 세포", "기준 조직", "대조군 샘플", "대조군 세포" 또는 "대조군 조직"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 비교 목적에 사용되는 샘플, 세포, 조직, 표준 또는 수준을 지칭한다.
- [0151] "상관시킨다" 또는 "상관시키는"이란, 임의의 방식으로, 제1 분석 또는 프로토콜의 성능 및/또는 결과를 제2 분석 또는 프로토콜의 성능 및/또는 결과와 비교하는 것을 의미한다. 예를 들어, 제2 분석 또는 프로토콜이 수행되어야 하는지를 결정하기 위해 제2 프로토콜을 수행하는 데 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있고/있거나, 제1 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다. 폴리펩타이드 분석 또는 프로토콜의 실시형태와 관련하여, 특정한 치료학적 요법이 수행되어야 하는지를 결정하기 위해 폴리펩타이드 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다. 폴리뉴클레오타이드 분석 또는 프로토콜의 실시형태와 관련하여, 특정한 치료학적 요법이 수행되어야 하는지를 결정하기 위해 폴리뉴클레오타이드 발현 분석 또는 프로토콜의 결과를 사용할 수 있다.
- [0152] "개체 반응" 또는 "반응"은, 제한 없이, (1) 두려움 또는 완전한 정지를 포함하는 질환 진행(예를 들어, 암 진행)의 약간의 정도로의 저해; (2) 종양 크기의 감소; (3) 인접한 말초 기관 및/또는 조직으로의 암 세포 침윤의 저해(즉, 감소, 두려움 또는 완전한 중단); (4) 전이의 저해(즉, 감소, 두려움 또는 완전한 중단); (5) 질환 또는 장애(예를 들어, 암)와 연관된 하나 이상의 증상의 약간의 정도로의 경감; (6) 전체 생존율 및 무진행 생존율을 포함하는 생존율의 길이의 증가 또는 연장; 및/또는 (7) 치료의 소정의 시점에서의 사망률의 감소를 포함하는 개체에 대한 이익을 나타내는 임의의 중점을 사용하여 평가될 수 있다.
- [0153] 환자의 "효과적인 반응" 또는 약제에 의한 치료에 대한 환자의 "반응성" 및 유사한 단어는 질환 또는 장애, 예컨대, 암의 위험에 있거나 이를 앓는 환자에 부여된 임상 또는 치료학적 이익을 지칭한다. 일 실시형태에서, 이러한 이익은 하기 중 임의의 하나 이상을 포함한다: 생존율(전체 생존율 및/또는 무진행 생존율 포함)의 연장; 객관적 반응(완전한 반응 또는 부분 반응 포함)의 발생; 또는 암의 징후 또는 증상의 개선.
- [0154] 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수(예를 들어, 약 4 내지 약 30의 기준 bTMB 점수, 예를 들어, 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30의 기준 bTMB 점수)이거나 이보다 높도록 본 명세서에 개시된 방법을 이용하여 결정된 bTMB 점수는 약제를 포함하는 치료제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 예를 들어, 항-PD-L1 항체를 포함하는 치료제)에 반응성인 증가된 가능성을 갖는 것으로 예측된 환자를 확인하도록 사용된다. 몇몇 실시형태에서, 기준 bTMB 점수(예를 들어, 약 4 내지 약 30의 기준 bTMB 점수, 예를 들어, 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30의 기준 bTMB 점수)보다 낮도록 본 명세서에 개시된 방법을 이용하여 결정된 bTMB 점수는 PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제에 반응성인 증가된 가능성을 갖는 것으로 예측된 환자를 확인하도록 사용된다. 몇몇 경우에, 개체로부터의 샘플로부터 결정된 bTMB 점수는 약 8 내지 약 100(예를 들어, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100)이다.
- [0155] 일반적으로, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는 서열분석된 게놈 영역의 크기와 직선으로 관련된다. 상기에 예의 숫자는, 예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널을 사용하여 약 1.1Mb를 서열분석함으로써 얻은 bTMB 점수를 지칭한다. X배 더 많은 염기를 서열분석할 때 샘플의 bTMB 점수는 약 X배 더 높은 것으로 예상된다. 몇몇 실시형태에서, 정규화된 bTMB 값은 서열분석된 염기의 수로 계수된 체세포 변이(예를 들어, 돌연변이)의 수, 예를 들어, 메가염기당 계수된 체세포 변이(예를 들어, 돌연변이)의 수를 나눔으로써 계산될 수 있다. 따라서, 임의의 이전의 bTMB 점수 또는 기준 bTMB 점수는 동등 bTMB 값, 예를 들어, 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 동등 bTMB 값일 수 있다. 몇몇 경우에, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는, 예를 들어, 전장 엑솜 기반 검정에서 약 400 내지 약 1500(예를 들어, 약 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 또는 1500의 bTMB 점수)일 수 있다.
- [0156] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 방법을 이용하여 결정된 bTMB 점수 및 MSAF의 조합은 약제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 예를 들어, 항-PD-L1 항체를 포함하는 치료제)에 의한 치료에 반응할 증가된 가능성을 갖는 것으로 예측된 환자를 확인하도록 사용된다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 방법을 이용하여 결정된 bTMB 점수 및 MSAF의 조합은 PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제에 의한 치료에 반응할 증가된 가능성을 갖는 것으로 예측된 환자를 확인하도록 사용된다.
- [0157] "객관적 반응"은 완전한 반응(complete response: CR) 또는 부분 반응(partial response: PR)을 포함하는 측정 가능한 반응을 지칭한다. 몇몇 실시형태에서, "객관적 반응률(objective response rate: ORR)"은 완전한 반응

(CR)를 및 부분 반응(PR)물의 합을 지칭한다.

- [0158] "완전한 반응" 또는 "CR"이란 치료에 반응하는 암의 모든 징후의 사라짐(예를 들어, 모든 표적 병변의 사라짐)이 의도된다. 이것은 암이 치유된다는 것을 항상 의미하지는 않는다.
- [0159] "지속적 반응"은 치료의 중단 이후에 종양 성장의 감소에 대한 지속적 효과를 지칭한다. 예를 들어, 종양 크기는 약제 투여 단계의 시작 시 크기와 비교하여 동일한 크기이거나 더 작을 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 지속적 반응은 치료 기간과 적어도 동일한, 치료 기간의 적어도 1.5x, 2.0x, 2.5x, 또는 3.0x 길이, 또는 초과 기간을 갖는다.
- [0160] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "암 재발을 감소하거나 저해하는"은 종양 또는 암 재발 또는 종양 또는 암 진행을 감소시키거나 저해하는 것을 의미한다. 본 명세서에 개시된 바와 같이, 암 재발 및/또는 암 진행은, 제한 없이, 암 전이를 포함한다.
- [0161] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "부분 반응" 또는 "PR"은 치료에 반응하는 신체에서의 하나 이상의 종양 또는 병변의 크기 또는 암의 정도의 감소를 지칭한다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, PR은 기준치 SLD를 기준으로 취하여 표적 병변의 가장 긴 직경 합(SLD)의 적어도 30% 감소를 지칭한다.
- [0162] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "안정한 질환" 또는 "SD"는, 치료가 시작된 이후에 가장 작은 SLD를 기준으로 취하여, PR을 취득하도록 표적 병변의 충분한 수축도, PD를 취득하도록 충분한 증가도 지칭하지 않는다.
- [0163] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "진행성 질환" 또는 "PD"는 치료가 시작한 이후로 기록된 가장 작은 SLD 또는 하나 이상의 새로운 병변의 존재를 기준으로 취하여 표적 병변의 SLD의 적어도 20% 증가를 지칭한다.
- [0164] 용어 "생존율"은 살아 있는 환자를 지칭하고, 전체 생존율, 및 무진행 생존율을 포함한다.
- [0165] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "무진행 생존율" 또는 "PFS"는 치료되는 질환(예를 들어, 암)이 악화하지 않는 치료 동안의 및 후의 시간의 길이를 지칭한다. 무진행 생존율은 환자가 완전한 반응 또는 부분 반응을 경험하는 시간의 양, 및 환자가 안정한 질환을 경험하는 시간의 양을 포함할 수 있다.
- [0166] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "전체 생존율" 또는 "OS"는 특정한 시간 기간 후 살아 있을 것 같은 그룹에서의 개체의 백분율을 지칭한다.
- [0167] "생존율의 연장"이란 치료되지 않은 환자에 대한(즉, 약제로 치료되지 않은 환자에 대한), 또는 지정된 수준에서 체세포 돌연변이를 갖지 않는 환자에 대한, 및/또는 항종양 물질로 치료된 환자에 대한 치료된 환자에서의 전체 또는 무진행 생존율의 증가가 의도된다.
- [0168] 용어 "실질적으로 동일한"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 당업자가 2개의 값에 의해 측정된 생물학적 특징(예를 들어, Kd 값 또는 돌연변이 수준)의 맥락 내에 상기 값 사이의 차이가 생물학적으로 및/또는 통계적으로 유의적이 아니거나 거의 아니라고 생각하도록 2개의 숫자 값 사이의 유사성의 충분히 높은 정도를 나타낸다. 상기 2개의 값 사이의 차이는 기준/비교자 분자에 대한 값의 함수로서, 예를 들어, 약 50% 미만, 약 40% 미만, 약 30% 미만, 약 20% 미만, 및/또는 약 10% 미만이다.
- [0169] 구절 "실질적으로 상이한"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 당업자가 2개의 숫자 값에 의해 측정된 생물학적 특징(예를 들어, Kd 값 또는 돌연변이 수준)의 맥락 내에 상기 값 사이의 차이가 통계적으로 유의적이라고 생각하도록 2개의 숫자 값 사이의 차이의 충분히 높은 정도를 나타낸다. 상기 2개의 값 사이의 차이는 기준/비교자 분자에 대한 값의 함수로서, 예를 들어, 약 10% 초과, 약 20% 초과, 약 30% 초과, 약 40% 초과, 및/또는 약 50% 초과이다.
- [0170] 단어 "표지"는, 본 명세서에서 사용될 때, 폴리뉴클레오타이드 프로브 또는 항체와 같은 시약에 직접적으로 또는 간접적으로 접합된 또는 융합된 화합물 또는 조성물을 지칭하고, 이것이 접합된 또는 융합된 시약의 검출을 수월하게 한다. 표지는 자체가 검출 가능(예를 들어, 방사성동위원소 표지 또는 형광성 표지)할 수 있거나, 효소 표지의 경우에, 검출 가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학 변형을 촉매화할 수 있다. 상기 용어는 프로브 또는 항체에 검출 가능한 물질을 커플링(즉, 물리적으로 연결)시킴으로써 프로브 또는 항체의 직접적인 표지화 및 직접적으로 표지화된 또 다른 시약과의 반응성에 의한 프로브 또는 항체의 간접적인 표지화를 포함하도록 의도된다. 간접적인 표지화의 예는 형광 표지된 2차 항체를 사용한 1차 항체의 검출 및 이것이 형광 표지된 스트렙타비딘에 의해 검출될 수 있도록 바이오틴에 의한 DNA 프로브의 단부 표지화를 포함한다.
- [0171] "유효량"은 포유류에서 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 치료제의 양을 지칭한다. 암의 경우에, 치료학적

유효량의 치료제는 암 세포의 수를 감소시키고; 1차 종양 크기를 감소시키고; 말초 기관으로 암 세포 침윤을 저해시키고(즉, 약간의 정도로 느리게 하고 바람직하게는 중단시키고); 종양 전이를 저해시키고(즉, 약간의 정도로 느리게 하고 바람직하게는 중단시키고); 어느 정도로 종양 성장을 저해하고; 그리고/또는 어느 정도로 장애와 연관된 증상 중 하나 이상을 완화시킬 수 있다. 약물이 성장을 예방하고/하거나 기존의 암 세포를 사멸할 수 있는 정도로, 이것은 세포증식억제성 및/또는 세포독성일 수 있다. 암 치료를 위해, 생체내 효율은, 예를 들어, 생존율의 기간, 질환 진행까지의 시간(TTP), 반응률(예를 들어, CR 및 PR), 반응의 기간, 및/또는 삶의 질을 평가함으로써 측정될 수 있다.

[0172] "장애"는 포유류가 해당 장애에 대한 취약하게 하는 병리학적 병태를 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는 임의의 병태이다.

[0173] 용어 "암" 및 "암성"은 비조절된 세포 성장을 전형적으로 특징으로 하는 포유류에서 생리학적 조건을 지칭하거나 기재한다. 양성 및 악성 암이 이 정의에 포함된다. "초기 단계 암" 또는 "초기 단계 종양"이란 침습성 또는 전이성이 아니거나 단계 0, 1 또는 2 암으로 분류되는 암이 의도된다. 암의 예는 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 뿔지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 이러한 암의 더 특정한 예는 폐암, 예를 들어, NSCLC, 편평 세포 암(예를 들어, 상피 편평 세포 암), 폐암, 예를 들어, 소세포 폐암(SCLC), 및 폐의 선암 및 폐의 편평 암종을 포함한다. 특정한 예에서, 폐암은 NSCLC, 예를 들어, 국소 진행성 또는 전이성 NSCLC(예를 들어, IIIB 단계 NSCLC, IV 단계 NSCLC 또는 재발성 NSCLC)이다. 몇몇 실시형태에서, 폐암(예를 들어, NSCLC)은 절제 불가능한/수술 불가능한 폐암(예를 들어, 절제 불가능한 NSCLC)이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 국소 재발성 또는 전이성 질환을 갖는 임의의 조직학적으로 확인된 삼중 음성(ER-, PR-, HER2-) 유방 선암을 포함하는 삼중 음성 전이성 유방암이다(여기서 국소 재발성 질환은 치료 의도로 절제에 수정 가능하지 않다).

[0174] 용어 "종양"은, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 악성 또는 양성이든, 모든 신생 세포 성장 및 증식 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다. 용어 "암", "암성" 및 "종양"은 본 명세서에 언급된 바와 같이 상호 배타적이지 않다.

[0175] 용어 "약제학적 제형"은 내부에 함유된 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이도록 허용하도록 이러한 형태로 있고, 제형이 투여되는 대상체에게 허용 불가능하게 독성인 추가적인 성분을 함유하는 조제물을 지칭한다.

[0176] "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 대상체에게 비독성인 활성 성분 이외의 약제학적 제형에서의 성분을 지칭한다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 완충제, 부형제, 안정화제 또는 보존제를 포함하지만, 이것으로 제한되지는 않는다.

[0177] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "치료"(및 이의 문법 파생어, 예컨대, "치료한다" 또는 "치료하는")는 치료되는 개체의 천연 과정을 변경하려는 시도에서 임상 중재를 지칭하고, 예방을 위해 또는 임상 병리학의 과정 동안에 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접적인 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환 진행의 속도의 감소, 질환 상태의 경감 또는 완화,

및 관해 또는 개선된 예후를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 몇몇 실시형태에서, 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 및/또는 항-PD-1 항체)는 질환의 발생을 지연시키거나 질환의 진행을 느리게 하도록 사용된다.

[0178] 용어 "항암 치료제"는 암을 치료하는 데 유용한 치료제를 지칭한다. 항암 치료제의 예는, 하기 표적 PDGFR- β , BlyS, APRIL, BCMA 수용체(들), TRAIL/Apo2, 다른 바이오활성 및 유기 화학 물질 등 중 하나 이상에 결합하는, 세포독성제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 방사선 치료에 사용된 물질, 항혈관신생 물질, 아폽토시스 물질, 항-튜불린 물질, 및 암을 치료하기 위한 다른 물질, 예를 들어, 항-CD20 항체, 혈소판 유래 성장 인자 저해제(예를 들어, GLEEVEC(상표명)(이마티닙 메실레이트)), COX-2 저해제(예를 들어, 셀레코시브), 인터페론, 사이토킨, 길항제(예를 들어, 중화 항체)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 이들의 조합은 또한 본 발명에 포함된다.

[0179] 용어 "세포독성제"는, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 세포의 기능을 저해하거나 방지하고/하거나, 세포의 파괴를 초래하는 물질을 지칭한다. 상기 용어는 방사능 동위원소(예를 들어, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², 및 Lu의 방사능 동위원소), 화학치료제, 예를 들어, 메토틱렉세이트, 아드리아미신, 빈카 알칼로이드(빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포사이드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 끼워넣기 물질, 효소 및 이의 단편, 예컨대, 핵산분해 효소, 항생제, 및 독소, 예컨대, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소, 예를 들어, 이의 단편 및/또는 변이체, 및 하기에 개시된 다양한 항종양 또는 항암 물질을 포함하도록 의도된다. 다른 세포독성제는 하기에 기재되어 있다. 종양과 파괴 물질은 종양 세포의 파괴를 초래한다.

[0180] "화학치료제"는 암의 치료에 유용한 화학 화합물이다. 화학치료제의 예는 알킬화제, 예컨대, 티오테파 및 CYTOXAN(등록상표) 사이클로스포스파마이드; 알킬 설포네이트, 예컨대, 부술판, 임프로셀판 및 피포셀판; 아지리딘, 예컨대, 벤조도파, 카보퀸, 메투레도파 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민, 예를 들어, 알트레타민, 트라이에틸렌멜라민, 트라이에틸렌포스파마이드, 트라이에틸렌티오포스파마이드 및 트라이메틸로멜라민; 아세토게닌(특히 불라타신 및 불라타시논); 델타-9-테트라하이드로코나비놀(드로나빈올, MARINOL(등록상표)); 베타-라파곤; 라파롤; 콜키신; 베툰린산; 캄프토테신(합성 유사체 토포테칸(HYCAMTIN(등록상표) 포함), CPT-11(이리노테칸, CAMPTOSAR(등록상표)), 아세틸캄프토테신, 스코포렉틴 및 9-아미노캄프토테신); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포사이드; 크립토피신(특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스폰기스타틴; 질소 머스타드, 예컨대, 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로르에타민, 메클로르에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비신, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 우라실 머스타드; 니트로소유레아, 예컨대, 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라님누스틴; 항생제, 예컨대, 엔딘인 항생제(예를 들어, 칼리키아마이신, 특히 칼리키아마이신 γ II 및 칼리키아마이신 ω II(예를 들어, 문헌[Nicolaou et al., *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994)]) 참조); 다이네미신, 예를 들어, 다이네미신 A; 에스페라미신; 및 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련된 색소단백질 엔딘인 항생제 발색단, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-다이아조-5-옥소-L-노르류신, 아드리아마이신(등록상표) 독소루비신(모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-폴리리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대, 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 펠로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 튜베르시딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사물질, 예컨대, 메토틱렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 염산 유사체, 예컨대, 데놈테린, 메토틱렉세이트, 프테로테린, 트라이메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대, 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대, 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 사이타라빈, 다이데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로젠, 예컨대, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스탄올, 메피티오스탄, 테스토라톤; 항-아드레날, 예컨대, 아미노글루테티미드, 미토산, 트라이로스탄; 염산 보충제, 예컨대, 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글라이코사이드; 아미노류불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 바이센트린; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지퀸; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 하이드록시유레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대, 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸하이드라지드; 프로카르바진; PSK(등록상표) 다당류 복

합체(JHS Natural Products(오리건주 유진)); 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르나눔; 테누아존산; 트라이아지퀸; 2,2',2"-트라이클로로트라이에틸아민; 트라이초테센(특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈테신(ELDISINE(등록상표), FILDESIN(등록상표)); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포프로만; 갈사이토신; 아라비노사이드("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들어, TAXOL(등록상표) 파클리탁셀(Bristol-Myers Squibb Oncology(뉴저지주 프린스턴))을 포함하는 탁산, 파클리탁셀의 ABRAXANE(상표명) Cremophor 비함유, 알부민-조작된 나노입자 제형(American Pharmaceutical Partners(일리노이주 사움버그)), 및 TAXOTERE(등록상표) 도세탁셀(Rhône-Poulenc Rorer(프랑스 안토니)); 클로람부실; 겐시타빈(GEMZAR(등록상표)); 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토티렉세이트; 백금 또는 백금 기반 화학요법 물질 및 백금 유사체, 예컨대, 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴(ELOXATIN(상표명)), 사트라플라틴, 피코플라틴, 네다플라틴, 트라이플라틴 및 리오플라틴; 빈블라스틴(벨반(등록상표)); 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파마이드; 미톡산트론; 빈크리스틴(온코빈(등록상표)); 옥살리플라틴; 류코보빈; 비노렐빈(NAVELBINE(등록상표)); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포아이소머라제 저해제 RFS 2000; 다이플루오로메틸오르니틴(DMFO); 레티노이드, 예컨대, 레티노산; 카페시타빈(XELODA(등록상표)); 임의의 상기의 약제학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체; 및 상기의 2개 이상의 조합, 예컨대, CHOP, 사이클로포스파마이드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론의 조합된 치료에 대한 약어, 및 FOLFOX, 5-FU 및 류코보린과 조합된 옥살리플라틴(ELOXATIN(상표명))에 의한 치료 요법에 대한 약어를 포함한다. 추가적인 화학치료제는, 예를 들어, 항체 약물 접합체, 예컨대, 메이탄시노이드(예를 들어, DM1) 및 아우리스타틴 MMAE 및 MMAF로서 유용한 세포독성제를 포함한다.

[0181] "화학치료제"는 또한 암의 성장을 촉진할 수 있는 호르몬의 효과를 조절하거나 감소시키거나 차단하거나 저해하도록 작용하고 대개 전신의 형태인 "항호르몬 물질" 또는 "내분비 치료제" 또는 전신 치료제를 포함한다. 이들은 호르몬 자체일 수 있다. 예는 항에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제(SERM), 예를 들어, 타목시펜(NOLVADEX(등록상표) 타목시펜 포함), EVISTA(등록상표) 랄록시펜, 드롤록시펜, 4-하이드록시타목시펜, 트라이옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리돌 및 FARESTON(등록상표) 토레미펜; 항프로게스테론; 에스트로겐 수용체 하향조절제(ERD); 난소를 억제하거나 멈추도록 작용하는 물질, 예를 들어, 황체형성 호르몬-방출 호르몬(LHRH) 효능제, 예컨대, LUPRON(등록상표) 및 ELIGARD(등록상표) 류프롤라이드 아세테이트, 고세렐린 아세테이트, 부세렐린 아세테이트 및 트라이프테렐린; 다른 항-안드로겐, 예컨대, 플루타마이드, 닐루타마이드 및 바이칼루타마이드; 및 부신에서 에스트로겐 생성을 조절하는 효소 아로마타제를 저해하는 아로마타제 저해제, 예를 들어, 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, MEGASE(등록상표) 메게스트롤 아세테이트, AROMASIN(등록상표) 엑세메스탄, 포르메스타니, 파드로졸, RIVISOR(등록상표) 보로졸, FEMARA(등록상표) 레트로졸 및 ARIMIDEX(등록상표) 아나스트로졸을 포함한다. 또한, 화학치료제의 이러한 정의는 비스포스포네이트, 예컨대, 클로드로네이트(예를 들어, BONEFOS(등록상표) 또는 OSTAC(등록상표)), DIDROCAL(등록상표) 에티드로네이트, NE-58095, ZOMETA(등록상표) 졸레드론산/졸레드로네이트, FOSAMAX(등록상표) 알렌드로네이트, AREDIA(등록상표) 파미드로네이트, SKELID(등록상표) 틸루드로네이트 또는 ACTONEL(등록상표) 리세드로네이트; 및 트록사시타빈(1,3-다이옥솔란 뉴클레오사이드 사이토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 특히 비정상 세포 증식에 연루된 신호전달 경로에서 유전자의 발현을 제어하는 것, 예를 들어, PKC-알파, Raf, H-Ras 및 표피 성장 인자 수용체(EGFR); 백신, 예컨대, THERATOPE(등록상표) 백신 및 유전자 치료 백신, 예를 들어, ALLOVECTIN(등록상표) 백신, LEUVECTIN(등록상표) 백신 및 VAXID(등록상표) 백신; LURTOTECAN(등록상표) 토포아이소머라제 1 저해제; ABARELIX(등록상표) rmRH; 라파티닙 다이토실레이트(GW572016으로도 공지된 ErbB-2 및 EGFR 이중 타이로신 키나제 소분자 저해제); 및 임의의 상기의 약제학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체를 포함한다.

[0182] 화학치료제는 또한 항체, 예컨대, 알렘투주맵(Campath), 베바시주맵(AVASTIN(등록상표), Genentech); 세톡시맵(ERBITUX(등록상표), Imclone); 파니투주맵(VECTIBIX(등록상표), Amgen), 리툽시맵(RITUXAN(등록상표), Genentech/Biogen Idec), 페르투주맵(OMNITARG(등록상표), 2C4, Genentech), 트라스투주맵(HERCEPTIN(등록상표), Genentech), 토시투모맵(Bexxar, Corixa) 및 항체 약물 접합체, 겐투주맵 오조가마이신(MYLOTARG(등록상표), Wyeth)을 포함한다. 본 발명의 화합물과 조합된 물질로서 잠재적인 치료제를 갖는 추가적인 인간화된 단일클론 항체는 아폴리주맵, 아셀리주맵, 아틀리주맵, 바피네우주맵, 비바투주맵 메르탄신, 칸투주맵 메르탄신, 카텔리주맵, 세르톨리주맵 페글, 시드푸시투주맵, 시드투주맵, 다클리주맵, 에쿨리주맵, 예팔리주맵, 예프라투주맵, 예를리주맵, 펠비주맵, 폰톨리주맵, 겐투주맵 오조가마이신, 이노투주맵 오조가마이신, 이필리무맵, 라베투주맵, 린투주맵, 마투주맵, 메폴리주맵, 모타비주맵, 모토비주맵, 나탈리주맵, 니모투주맵, 놀로비주맵, 누마비주맵, 오크렐리주맵, 오말리주맵, 팔리비주맵, 파스콜리주맵, 펙푸시투주맵, 펙투주

맵, 펙셀리주맵, 팔리비주맵, 라니비주맵, 레슬리비주맵, 레슬리주맵, 레시비주맵, 로벨리주맵, 루폴리주맵, 시브로투주맵, 시폴리주맵, 손투주맵, 타카투주맵, 테트라제탄, 타도시주맵, 탈리주맵, 테피바주맵, 토실리주맵, 토랄리주맵, 투코투주맵 셀몰류킨, 투쿠시투주맵, 우마비주맵, 우르복사주맵, 우스테키누맵, 비실리주맵 및 인터류킨-12 p40 단백질을 인식하도록 변형된 재조합 비배타적으로 인간-서열, 전장 IgG1λ 항체 유전자인 항-인터류킨-12(ABT-874/J695, Wyeth Research 및 Abbott Laboratories)를 포함한다.

[0183] 화학치료제는 또한 "EGFR 저해제"를 포함하고, 이것은 EGFR에 결합하거나 그렇지 않으면 이것과 직접적으로 상호작용하고 이의 신호전달 활성을 예방하거나 감소시키는 화합물을 지칭하고, 대안적으로 "EGFR 길항제"라 칭해진다. 이러한 물질의 예는 EGFR에 결합하는 항체 및 소분자를 포함한다. EGFR에 결합하는 항체의 예는 MAb 579(ATCC CRL HB 8506), MAb 455(ATCC CRL HB8507), MAb 225(ATCC CRL 8508), MAb 528(ATCC CRL 8509)(US 특허 제4,943,533호(Mendelsohn 등) 참조) 및 이의 변이체, 예컨대, 키메라화 225(C225 또는 세특시맵; ERBUTIX (등록상표)) 및 재형상화된 인간 225(H225)(WO 제96/40210호, Imclone Systems Inc. 참조); IMC-11F8, 완전 인간, EGFR-표적화된 항체(Imclone); II형 돌연변이체 EGFR에 결합하는 항체(US 특허 제5,212,290호); US 특허 제5,891,996호에 기재된 바와 같은 EGFR에 결합하는 인간화된 및 키메라 항체; 및 EGFR에 결합하는 인간 항체, 예컨대, ABX-EGF 또는 파니투무맵(WO 제98/50433호, Abgenix/Amgen 참조); EMD 55900(Stragliotto et al. *Eur. J. Cancer* 32A:636-640 (1996)); EGFR 결합에 대해 EGF 및 TGF-알파 둘 다와 경쟁하는 EGFR에 지향된 EMD7200 (마투주맵) 인간화된 EGFR 항체(EMD/Merck); 인간 EGFR 항체, HuMax-EGFR(GenMab); E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 및 E7.6.3으로 공지되고 US 제6,235,883호에 기재된 완전 인간 항체; MDX-447(Medarex Inc); 및 mAb 806 또는 인간화된 mAb 806(Johns et al., *J. Biol. Chem.* 279(29):30375-30384 (2004))를 포함한다. 항-EGFR 항체는 세포독성제와 접합될 수 있어서, 면역접합체를 생성한다(예를 들어, EP 제659,439A2호, Merck Patent GmbH 참조). EGFR 길항제는 소분자, 예컨대, US 특허 제5,616,582호, 제5,457,105호, 제5,475,001호, 제5,654,307호, 제5,679,683호, 제6,084,095호, 제6,265,410호, 제6,455,534호, 제6,521,620호, 제6,596,726호, 제6,713,484호, 제5,770,599호, 제6,140,332호, 제5,866,572호, 제6,399,602호, 제6,344,459호, 제6,602,863호, 제6,391,874호, 제6,344,455호, 제5,760,041호, 제6,002,008호 및 제5,747,498, 및 하기 PCT 공보: WO 98/14451, WO 98/50038, WO 제99/09016호 및 WO 제99/24037호에 기재된 화합물을 포함한다. 특정한 소분자 EGFR 길항제는 OSI-774(CP-358774, 에를로티닙, TARCEVA(등록상표) Genentech/OSI Pharmaceuticals); PD 183805(CI 1033, 2-프로펜아마이드, N-[4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)아미노]-7-[3-(4-모르폴리닐)프로폭시]-6-퀴나졸리닐]-, 다이하이드로클로라이드, Pfizer Inc.); ZD1839, 게피티닙(IRESSA(등록상표)) 4-(3'-클로로-4'-플루오로아닐리노)-7-메톡시-6-(3-모르폴리노프로폭시)퀴나졸린, AstraZeneca); ZM 105180((6-아미노-4-(3-메틸페닐-아미노)-퀴나졸린, Zeneca); BIBX-1382(N8-(3-클로로-4-플루오로-페닐)-N2-(1-메틸-피페리딘-4-일)-피리미도[5,4-d]피리미딘-2,8-다이아민, Boehringer Ingelheim); PKI-166((R)-4-[4-[(1-페닐에틸)아미노]-1H-피롤로[2,3-d]피리미딘-6-일]-페놀); (R)-6-(4-하이드록시페닐)-4-[(1-페닐에틸)아미노]-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘); CL-387785(N-[4-[(3-브로모페닐)아미노]-6-퀴나졸리닐]-2-뷰틴아마이드); EKB-569(N-[4-[(3-클로로-4-플루오로페닐)아미노]-3-시아노-7-에톡시-6-퀴놀린일]-4-(다이메틸아미노)-2-뷰텐아마이드)(Wyeth); AG1478(Pfizer); AG1571(SU 5271; Pfizer); 및 이중 EGFR/HER2 타이로신 키나제 저해제, 예컨대, 라파티닙(TYKERB(등록상표), GSK572016 또는 N-[3-클로로-4-[(3-플루오로페닐)메톡시]페닐]-6[[[2메틸설포닐)에틸]아미노]메틸]-2-푸라닐]-4-퀴나졸리다민)을 포함한다.

[0184] 화학치료제는 또한 이전 문단에 기재된 EGFR-표적화된 약물을 포함하는 "타이로신 키나제 저해제"; 소분자 HER2 타이로신 키나제 저해제, 예컨대, Takeda로부터 구입 가능한 TAK165; CP-724,714, ErbB2 수용체 타이로신 키나제의 경구 선택적 저해제(Pfizer 및 OSI); EGFR에 우선적으로 결합하지만 HER2 및 EGFR 과발현 세포 둘 다를 저해하는 이중-HER 저해제, 예컨대, EKB-569(Wyeth로부터 구입 가능); 라파티닙(GSK572016; Glaxo-SmithKline으로부터 구입 가능), 경구 HER2 및 EGFR 타이로신 키나제 저해제; PKI-166(Novartis로부터 구입 가능); pan-HER 저해제, 예컨대, 카네르티닙(CI-1033; Pharmacia); Raf-1 저해제, 예컨대, Raf-1 신호전달을 저해하는 ISIS Pharmaceuticals로부터 구입 가능한 안티센스 물질 ISIS-5132; 비-HER 표적화된 TK 저해제, 예컨대, 이마티닙 메실레이트(Glaxo SmithKline으로부터 구입 가능한 GLEEVEC(등록상표)); 다중 표적화된 타이로신 키나제 저해제, 예컨대, 수니티닙(Pfizer로부터 구입 가능한 SUTENT(등록상표)); VEGF 수용체 타이로신 키나제 저해제, 예컨대, 바탈라닙(Novartis/Schering AG로부터 구입 가능한 PTK787/ZK222584); MAPK 세포외 조절된 키나제 I 저해제 CI-1040(Pharmacia로부터 구입 가능); 퀴나졸린, 예컨대, PD 153035, 4-(3-클로로아닐리노) 퀴나졸린; 피리도피리미딘; 피리미도피리미딘; 피롤로피리미딘, 예컨대, CGP 59326, CGP 60261 및 CGP 62706; 피라졸로피리미딘, 4-(페닐아미노)-7H-피롤로[2,3-d] 피리미딘; 쿠르쿠민(다이페롤로일 메탄, 4,5-비스(4-플루오로아닐리노)프탈리미드); 나이트로티오펜 모이어티를 함유하는 트라이포스틴; PD-0183805(Warner-Lambers); 안티센스 분

자(예를 들어, HER-코딩 핵산에 결합하는 것); 퀴녹살린(US 특허 제5,804,396호); 트라이포스틴(US 특허 제5,804,396호); ZD6474(Astra Zeneca); PTK-787(Novartis/Schering AG); pan-HER 저해제, 예컨대, CI-1033(Pfizer); Affinitac(ISIS 3521; Isis/Lilly); 이마티닙 메실레이트(GLEEVEC(등록상표)); PKI 166(Novartis); GW2016(Glaxo SmithKline); CI-1033(Pfizer); EKB-569(Wyeth); Semaxinib(Pfizer); ZD6474(AstraZeneca); PTK-787(Novartis/Schering AG); INC-1C11(Imclone), 라파마이신(시클리무스, RAPAMUNE(등록상표)); 또는 임의의 하기 특허 공보: US 특허 제5,804,396호; WO 제1999/09016호(American Cyanamid); WO 제1998/43960호(American Cyanamid); WO 제1997/38983호(Warner Lambert); WO 제1999/06378호(Warner Lambert); WO 제1999/06396호(Warner Lambert); WO 제1996/30347호(Pfizer, Inc); WO 제1996/33978호(Zeneca); WO 제1996/3397호(Zeneca) 및 WO 제1996/33980호(Zeneca)에 기재된 것을 포함한다.

[0185]

화학치료제는 또한 텍사메타손, 인터페론, 콜키신, 메토프린, 사이클로스포린, 암포테리신, 메트로니다졸, 알렘 투주맵, 알리트레티노인, 알로푸리놀, 아미포스틴, 삼산화비소, 아스파라기나제, BCG 라이브, 베바쿠지맵, 백사로텐, 클라드리빈, 클로파라빈, 다르베포에틴 알파, 데닐류킨, 텍스라족산, 에포에틴 알파, 에를로티닙, 필그라스티름, 히스트렐린 아세테이트, 이브리투모맵, 인터페론 알파-2a, 인터페론 알파-2b, 레날리도미드, 레바미솔, 메스나, 메톡살렌, 난드롤론, 벨라라빈, 노페투모맵, 오프렐베킨, 팔리페르민, 파미드로네이트, 페가테마제, 페가스파르가제, 페그필그라스티름, 페메트렉시드 이나트륨, 플리카마이신, 포르피메르 나트륨, 퀴나크린, 나스부리카제, 사르그라모스틴, 테모졸로미드, VM-26, 6-TG, 토레미펜, 트레티노인, ATRA, 발루비신, 졸레드로네이트 및 졸레드론산, 및 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함한다.

[0186]

화학치료제는 또한 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 아세테이트, 코르티손 아세테이트, 텍소코르톨 피발레이트, 트라이암시놀론 아세토니드, 트라이암시놀론 알코올, 모메타손, 암시노니드, 부테소니드, 데소니드, 플루오시노니드, 플루오시놀론 아세토니드, 베타메타손, 베타메타손 나트륨 포스페이트, 텍사메타손, 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 플루코르톨론, 하이드로코르티손-17-뷰티레이트, 하이드로코르티손-17-발러레이트, 아클로메타손 다이프로피오네이트, 베타메타손 발러레이트, 베타메타손 다이프로피오네이트, 프레드니카르베이트, 클로베타손-17-뷰티레이트, 클로베타손-17-프로피오네이트, 플루코르톨론 카프로에이트, 플루코르톨론 피발레이트 및 플루프레드니텐 아세테이트; 면역 선택적 소염 펩타이드(ImSAID) 예컨대 페닐알라닌-글루타민-글라이신(FEG) 및 이의 D-이성질체 형태(feG)(IMULAN BioTherapeutics, LLC); 항류마티스 약물, 예컨대, 아자티오프린, 시클로스포린(사이클로스포린 A), D-페니실라민, 금염, 하이드록시클로로퀸, 레플루노미데미노사이클린, 설파살라진, 중앙 피사 인자 알파(TNF α) 차단제, 예컨대, 에타네르셉트(ENBREL(등록상표)), 인플릭시맵(REMICADE(등록상표)), 아달리무맵(HUMIRA(등록상표)), 세르톨리주맵 페골(CIMZIA(등록상표)), 골리무맵(SIMPONI(등록상표)), 인터류킨 1(IL-1) 차단제, 예컨대, 아나킨라(KINERET(등록상표)), T 세포 동시자극 차단제, 예컨대, 아바타셉트(ORENCIA(등록상표)), 인터류킨 6(IL-6) 차단제, 예컨대, 토실리주맵(ACTEMERA(등록상표)); 인터류킨 13(IL-13) 차단제, 예컨대, 레브리키주맵; 인터페론 알파(IFN) 차단제, 예컨대, 톤탈리주맵; 베타 7 인테그린 차단제, 예컨대, rhuMAb 베타7; IgE 경로 차단제, 예컨대, 항-M1 프라임; 분비된 호모삼합체 LTa3 및 막 결합된 헤테로삼합체 LTa1/ β 2 차단제, 예컨대, 항-림프독소 알파(LTa); 기타 조사 물질, 예컨대, 티오플라틴, PS-341, 페닐뷰티레이트, ET-18-OCH₃ 및 파르네실 전환효소 저해제(L-739749, L-744832); 폴리페놀, 예컨대, 퀴세틴, 레스베라트롤, 피세아탄올, 에피갈록카테킨, 갈레이트, 테아플라빈, 플라반올, 프로사이아닌, 베틀린산 및 이의 유도체; 자가포식 저해제, 예컨대, 클로로퀸; 델타-9-테트라하이드로카나비놀(드로나빈올, MARINOL(등록상표)); 베타-라파콘; 라파콜; 콜키신; 베틀린산; 아세틸캄프토테신, 스코포렉틴 및 9-아미노캄프토테신; 포도필로톡신; 테가푸르(UFTORAL(등록상표)); 백사로텐(TARGRETIN(등록상표)); 비스포스포네이트, 예컨대, 클로드로네이트(예를 들어, BONEFOS(등록상표) 또는 OSTAC(등록상표)), 에티드로네이트(DIDROCAL(등록상표)), NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트(ZOMETA(등록상표)), 알렌드로네이트(FOSAMAX(등록상표)), 파미드로네이트(AREDIA(등록상표)), 틸루드로네이트(SKELID(등록상표)), 또는 리세드로네이트(ACTONEL(등록상표)); 및 표피 성장 인자 수용체(EGF-R); 백신, 예컨대, THERATOPE(등록상표) 백신; 페리포신, COX-2 저해제(예를 들어, 셀레콕시브 또는 에토리콕시브), 프로테오솜 저해제(예를 들어, PS341); CCI-779; 티피파르닙(R11577); 오라페닙, ABT510; Bcl-2 저해제, 예컨대, 오블리메르센 나트륨(GENASENSE(등록상표)); pixantrone; 파르네실전환효소 저해제, 예컨대, 로나파르닙(SCH 6636, SARASAR(상표명)); 및 임의의 상기의 약제학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체; 및 상기의 2개 이상의 조합을 포함한다.

[0187]

용어 "프로드럭"은 본 명세서에서 사용된 바와 같이 모 약물과 비교하여 종양 세포에 덜 세포독성이고 효소적으로 활성화되거나 더 활성인 모 형태로 전환될 수 있는 약제학적 활성 물질의 전구체 또는 유도체 형태를 지칭한다. 예를 들어, 문헌[Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" *Biochemical Society Transactions*, 14,

pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) 및 Stella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," *Directed Drug Delivery*, Borchardt et al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)]을 참조한다. 본 발명의 프로드럭은 포스페이트 함유 프로드럭, 티오포스페이트 함유 프로드럭, 설페이트 함유 프로드럭, 펩타이드 함유 프로드럭, D-아미노산-변형된 프로드럭, 글라이코실화 프로드럭, β -락탐 함유 프로드럭, 선택적으로 치환된 페녹시아세트아마이드 함유 프로드럭 또는 선택적으로 치환된 페닐아세트아마이드 함유 프로드럭, 5-플루오로사이토신 및 더 활성인 세포독성이 없는 약물로 전환될 수 있는 다른 5-플루오로우리딘 프로드럭을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 본 발명에서 사용하기 위한 프로드럭 형태로 유도체화될 수 있는 세포독성 약물의 예는 상기 기재된 화학치료제를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0188] "성장 저해 물질"은 본 명세서에서 사용될 때 시험관내 또는 생체내 세포(예를 들어, 성장이 PD-L1 발현에 따라 달라지는 세포)의 성장 및/또는 증식을 저해하는 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 따라서, 성장 저해 물질은 S 상에서 세포의 백분율을 유의미하게 감소시키는 사람일 수 있다. 성장 저해 물질의 예는 (S상 이외의 장소에서) 세포 주기 진행을 차단하는 물질, 예컨대, G1 중지 및 M상 중지를 유도하는 물질을 포함한다. 전통적인 M상 차단은 빈카(빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁산 및 토포아이스머라제 II 저해제, 예컨대, 안트라사이클린 항생제 독소루비신((8S-시스)-10-[(3-아미노-2,3,6-트라이데옥시- α -L-리코-헥사피라노실)옥시]-7,8,9,10-테트라하이드로-6,8,11-트라이하이드록시-8-(하이드록시아세틸)-1-메톡시-5,12-나프타센다이온), 에피루비신, 다우노루비신, 에토포사이드 및 블레오마이신을 포함한다. G1을 중지시키는 물질, 예를 들어, DNA 알킬화제, 예컨대, 타목시펜, 프레드니솔론, 다카르바진, 메클로르에타민, 시스플라틴, 메토포렉세이트, 5-플루오로우라실 및 ara-C는 또한 S상 중지로 변진다. 추가의 정보는 문헌["*The Molecular Basis of Cancer*," Mendelsohn and Israel, eds., Chapter 1, entitled "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami et al. (WB Saunders: Philadelphia, 1995), 특히 p. 13]에서 발견될 수 있다. 탁산(파클리탁셀 및 도세탁셀)은 탄생화로부터 둘 다 유래된 항암 약물이다. 유럽 탄생화(European yew)로부터 유래된 도세탁셀(TAXOTERE(등록상표), Rhone-Poulenc Rorer)은 파클리탁셀의 반합성 유사체(TAXOL(등록상표), Bristol-Myers Squibb)이다. 파클리탁셀 및 도세탁셀은 튜불린 이합체로부터의 미세소관의 어셈블리를 촉진하고, 탈중합을 방지함으로써 미세소관을 안정화시키고, 이는 세포에서 유사분열의 저해를 발생시킨다.

[0189] "방사선 치료"란 정상적으로 기능하는 능력을 제한하도록 세포에 충분한 손상을 유도하기 위한 또는 세포를 함께 파괴시키기 위한 지시된 감마선 또는 베타선의 사용을 의미한다. 치료의 투약량 및 기간을 결정하도록 당해 분야에 공지된 많은 방식이 있다고 이해될 것이다. 전형적인 치료는 매일 10 내지 200 유닛(Grays)의 전형적인 투약량 범위 및 1회 투여로 주어진다.

[0190] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "개체", "환자" 또는 "대상체"는 상호 호환되어 사용되고, 치료가 원하는 임의의 단일 동물, 더 바람직하게 포유류(예를 들어, 개, 고양이, 말, 토끼, 동물원 동물, 소, 돼지, 양과 같은 비인간 동물 및 비인간 영장류 포함)를 지칭한다. 특정한 실시형태에서, 본 명세서에서 환자는 인간이다.

[0191] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "투여하는"은 대상체(예를 들어, 환자)에 대한 화합물(예를 들어, 길항제) 또는 약제학적 조성물(예를 들어, 길항제를 포함하는 약제학적 조성물)의 투약량을 주는 방법을 의미한다. 투여는 비경구, 폐내, 및 비강내 및 원하는 경우 국소 치료에 대해, 병변내 투여를 포함하는 임의의 적합한 수단에 의할 수 있다. 비경구 주입은, 예를 들어, 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 투약은 부분적으로 투여가 잠간인지 또는 만성인지에 따라 임의의 적합한 경로, 예를 들어, 주사, 예컨대, 정맥내 또는 피하 주사에 의할 수 있다. 다양한 시점에 걸친 단일 또는 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 다양한 투약 스케줄이 본 명세서에서 고려된다.

[0192] 용어 "동시의"는 2개 이상의 치료제의 투여를 지칭하도록 본 명세서에서 사용되고, 여기서 투여의 적어도 일부는 시간이 중첩한다. 따라서, 동시의 투여는 하나 이상의 다른 물질(들)의 투여를 중단한 후 하나 이상의 물질(들)의 투여가 지속할 때의 투약 요법을 포함한다.

[0193] "감소시킨다 또는 저해한다"란 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 초과 전체 감소를 초래하는 능력을 의미한다. 감소시킨다 또는 저해한다는, 예를 들어, 치료되는 장애의 증상, 전이의 존재 또는 크기, 또는 1차 종양의 크기를 지칭할 수 있다.

[0194] 용어 "패키지 인서트"는 치료학적 제품의 사용에 관한 적응증, 용법, 투약량, 투여, 조합 치료, 배합금기, 및/또는 경고에 관한 정보를 함유하는, 이러한 치료학적 제품의 상업용 패키지에 습관적으로 포함된 지시를 지칭하도록 사용된다.

- [0195] "무균" 제형은 모든 살아 있는 미생물 및 이의 포자로부터 무균이거나 이들이 없다.
- [0196] "제조 물품"은 적어도 하나의 시약, 예를 들어, 질환 또는 장애(예를 들어, 암)의 치료를 위한 약제를 포함하는 임의의 제조품(예를 들어, 패키지 또는 컨테이너) 또는 키트, 또는 본 명세서에 기재된 바이오마커(예를 들어, PD-L1)를 특이적으로 검출하기 위한 프로브이다. 소정의 실시형태에서, 제조품 또는 키트는 본 명세서에 기재된 방법을 수행하기 위한 단위로서 판촉, 분배 또는 판매된다.
- [0197] 본 명세서에서 사용될 때 구절 "기초한"은 하나 이상의 바이오마커에 대한 정보는 치료 결정, 패키지 인서트에 제공된 정보, 또는 마케팅/판촉 지도 등을 알리도록 사용된다는 것을 의미한다.
- [0198] **III. 방법**
- [0199] 암을 앓는 개체를 치료하기 위한; 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙(MPD3280A)), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하기 위한; 암을 앓는 환자를 진단하기 위한; 암을 앓는 개체가 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 반응할 것 같은지를 결정하기 위한; 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 대한 개체의 반응을 모니터링하기 위한, 방법 및 검정이 본 명세서에 제공된다.
- [0200] 본 명세서에 기재된 방법 및 검정법은 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 결정된 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수가 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 단일치료 또는 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 조합 치료(예를 들어, 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체), 및/또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)와 조합된 PD-L1 축 결합 길항제)의 치료학적 효율을 예측하도록 사용될 수 있다는 발견에 기초한다. 임의의 방법은 최대 체세포 대립유전자 빈도(MSAF)를 결정하는 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의의 방법은 tTMB 점수를 결정하는 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 본 명세서에 제공된 임의의 방법은 PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 하기에 부문 IV에 기재된 바와 같이)를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 따라서, 개체로부터의 샘플에서 bTMB를 평가하기 위한 방법 및 검정이 본 명세서에 또한 제공된다. 본 명세서에 제공된 임의의 방법은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 하기에 부문 IV에 기재된 바와 같이), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합이 아니거나 이것 이외의 항암 치료제를 개체에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 임의의 방법은 개체에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 유효량의 추가 치료제를 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0201] A. 진단학적 방법 및 검정
- [0202] (i) 예측적 진단학적 방법
- [0203] 특정한 경우에, 본 명세서에 제공된 방법 및 검정법은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙(MPD3280A)), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는 암을 앓는 개체를 식별하도록 사용될 수 있고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포

함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다.

[0204] 특정한 경우에, 본 명세서에 제공된 방법 및 검정법은 암을 앓는 개체에 대한 치료제를 선택하도록 사용될 수 있고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다.

[0205] 특정한 경우에, 본 명세서에 제공된 방법 및 검정법은 암을 앓는 환자를 진단하도록 사용될 수 있고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 암을 가질 것 같은 사람으로서 식별한다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수보다 낮은 bTMB 점수는 개체를 암을 덜 가질 것 같은 사람으로서 식별한다.

[0206] 본 명세서에 제공된 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)를 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 개체로부터의 샘플은 보관소 샘플, 새로운 샘플 또는 동결된 샘플일 수 있다. 결정 단계는 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 도출하도록 유전자의 미리 결정된 세트에서 생기는 체세포 돌연변이의 전체 수(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인델 돌연변이)를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이의 수는 계수된 단일 뉴클레오타이드 변이체(SNV)의 수 또는 SNV의 수와 계수된 인델 돌연변이의 수의 합이다.

[0207] 체세포 돌연변이의 수는 개체에서 DNA, mRNA, cDNA, 단백질, 단백질 단편, 및/또는 유전자 카피수 수준의 측정(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 기준에 기초하여 정성적으로 및/또는 정량적으로 결정될 수 있다. 몇몇 경우에, 개체의 포괄적인 게놈 프로파일은 결정된다. 몇몇 경우에, 개체로부터의 수집된 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)의 포괄적인 게놈 프로파일은 결정된다. 몇몇 경우에, 게놈 프로파일의 결정은 게놈 변경(예를 들어, 체세포 돌연변이(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인델 돌연변이))을 확인하도록 당해 분야에 공지되거나 본 명세서에 기재된 차세대 서열분석 방법을 적용하는 것을 포함한다. 몇몇 경우에, 시험은 적어도 약 500x(예를 들어, 500x, 550x, 600x, 650x, 700x, 750x, 800x, 850x, 900x, 950x 또는 1,000x)의 엑손 커버리지의 전형적인 중앙치 깊이로 적어도 약 0.05Mb 내지 약 10Mb(예를 들어, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10Mb)를 다루는 약 300개의 유전자(예를 들어, 적어도 약 300개 내지 약 400개의 유전자, 예를 들어, 약 300개, 310개, 320개, 330개, 340개, 350개, 360개, 370개, 380개, 390개 또는 400개의 유전자의 다양한 세트)의 코딩 영역을 동시에 서열분석한다. 다른 경우에, 시험은 약 400개의 유전자, 약 425개의 유전자, 약 450개의 유전자, 약 475개의 유전자, 약 500개의 유전자, 약 525개의 유전자, 약 550개의 유전자, 약 575개의 유전자, 약 600개의 유전자, 약 625개의 유전자, 약 650개의 유전자, 약 675개의 유전자, 약 700개의 유전자, 약 725개의 유전자, 약 750개의 유전자, 약 775개의 유전자, 약 800개의 유전자, 약 825개의 유전자, 약 850개의 유전자, 약 875개의 유전자, 약 900개의 유전자, 약 925개의 유전자, 약 950개의 유전자, 약 975개의 유전자, 약 1000개의 유전자, 또는 1000개 초과 유전자의 코딩 영역을 동시에 서열분석한다. 몇몇 경우에, 유전자의 세트는 표 1에 기재된 하나 이상의 유전자(예를 들어, 암 관련 유전자)를 포함한다. 몇몇 경우에, 유전자의 세트는 FOUNDATIONONE(등록상표) 패널의 유전자의 세트이다(예를 들어, 문헌[Frampton et al. *Nat. Biotechnol.* 31:1023-31, 2013](본 명세서에서 그 전문이 참고로 인용됨) 참조). 몇몇 경우에, 유전자의 세트는 FOUNDATIONONE(등록상표) CDx 패널의 유전자의 세트이다. 몇몇 실시형태에서, 시험은 개체의 게놈의 약 10Mb 초과, 예를 들어, 약 10Mb 초과, 약 15Mb 초과, 약 20Mb 초과, 약 25Mb 초과, 약 30Mb 초과, 약 35Mb 초과, 약 40Mb 초과, 약 45Mb 초과, 약 50Mb 초과, 약 55Mb 초과, 약 60Mb 초과, 약 65Mb 초과, 약 70Mb 초과, 약 75Mb 초과, 약 80Mb 초과, 약 85Mb 초과, 약 90Mb 초과, 약 95Mb 초과, 약 100Mb 초과, 약 200Mb 초과, 약 300Mb 초과, 약 400Mb 초과, 약 500Mb 초과, 약 600Mb 초과, 약 700Mb 초과, 약 800Mb 초과, 약 900Mb 초과, 약 1Gb 초과, 약 2Gb 초과, 약 3Gb 초과, 또는 약 3.3Gb를 서열분석한다. 몇몇 경우에, bTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된다. 몇몇 경우에, bTMB 점수는 전장 게놈 서열분석에 의해 결정된다. bTMB 점수가 유전자 동일성에 독립적으로 계산될 수 있다고 현재 이해된다. 몇

몇 경우에, 각각의 커버된 서열분석 리드는 종양 이질성, 낮은 종양 순도 및 작은 샘플 용적으로 인해 낮은 빈도로 발생하는 게놈 변경의 고도로 민감하고 특이적인 검출이 가능하도록 고유한 DNA 단편을 나타낸다. 결정 단계는 bTMB 점수를 도출하도록 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 단리된 무세포 DNA(cfDNA) 및/또는 순환 종양 DNA(ctDNA)에서의 체세포 돌연변이의 수를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 적어도 약 5ng(예를 들어, 적어도 약 5ng, 적어도 약 10ng, 적어도 약 15ng, 적어도 약 20ng, 적어도 약 25ng, 적어도 약 30ng, 적어도 약 35ng, 적어도 약 40ng, 적어도 약 45ng, 적어도 약 50ng, 적어도 약 75ng, 적어도 약 100ng, 적어도 약 200ng, 적어도 약 300ng, 약 400ng 또는 초과)이다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 적어도 약 20ng의 cfDNA이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은, 예를 들어, 약 5ng 내지 약 100ng(예를 들어, 약 5ng 내지 약 100ng, 약 5ng 내지 약 90ng, 약 5ng 내지 약 80ng, 약 5ng 내지 약 70ng, 약 5ng 내지 약 60ng, 약 5ng 내지 약 50ng, 약 5ng 내지 약 40ng, 약 5ng 내지 약 30ng, 약 5ng 내지 약 20ng, 약 5ng 내지 약 15ng, 약 5ng 내지 약 10ng, 약 10ng 내지 약 100ng, 약 10ng 내지 약 90ng, 약 10ng 내지 약 80ng, 약 10ng 내지 약 70ng, 약 10ng 내지 약 60ng, 약 10ng 내지 약 50ng, 약 10ng 내지 약 40ng, 약 10ng 내지 약 30ng, 약 10ng 내지 약 20ng, 약 15ng 내지 약 100ng, 약 15ng 내지 약 90ng, 약 15ng 내지 약 80ng, 약 15ng 내지 약 70ng, 약 15ng 내지 약 60ng, 약 15ng 내지 약 50ng, 약 20ng 내지 약 100ng, 약 20ng 내지 약 90ng, 약 20ng 내지 약 80ng, 약 20ng 내지 약 70ng, 약 20ng 내지 약 60ng, 약 20ng 내지 약 50ng, 약 20ng 내지 약 40ng, 약 20ng 내지 약 30ng, 약 25ng 내지 약 100ng, 약 25ng 내지 약 90ng, 약 25ng 내지 약 80ng, 약 25ng 내지 약 70ng, 약 25ng 내지 약 60ng, 약 25ng 내지 약 50ng, 약 25ng 내지 약 40ng, 약 25ng 내지 약 30ng, 약 30ng 내지 약 100ng, 약 30ng 내지 약 90ng, 약 30ng 내지 약 80ng, 약 30ng 내지 약 70ng, 약 30ng 내지 약 60ng, 약 30ng 내지 약 50ng, 약 30ng 내지 약 40ng, 약 30ng 내지 약 35ng, 약 35ng 내지 약 100ng, 약 35ng 내지 약 90ng, 약 35ng 내지 약 80ng, 약 35ng 내지 약 70ng, 약 35ng 내지 약 60ng, 약 35ng 내지 약 50ng, 약 35ng 내지 약 40ng, 약 40ng 내지 약 100ng, 약 40ng 내지 약 90ng, 약 40ng 내지 약 80ng, 약 40ng 내지 약 70ng, 약 40ng 내지 약 60ng, 약 40ng 내지 약 50ng, 약 40ng 내지 약 45ng, 약 50ng 내지 약 100ng, 약 50ng 내지 약 90ng, 약 50ng 내지 약 80ng, 약 50ng 내지 약 70ng, 약 50ng 내지 약 60ng, 약 50ng 내지 약 100ng, 약 60ng 내지 약 90ng, 약 60ng 내지 약 80ng, 약 60ng 내지 약 70ng, 약 70ng 내지 약 100ng, 약 70ng 내지 약 90ng, 약 80ng 내지 약 100ng, 약 80ng 내지 약 90ng, 또는 90ng 내지 약 100ng)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 약 100ng 이상(예를 들어, 약 100ng 이상, 약 200ng 이상, 약 300ng 이상, 약 400ng 이상, 약 500ng 이상, 약 600ng 이상, 약 700ng 이상, 약 800ng 이상, 약 900ng 이상, 또는 더 초과)이다.

[0208] 임의의 적합한 샘플 용적은 임의의 이전의 방법에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 1ml 내지 약 50ml, 예를 들어, 약 1ml, 약 2ml, 약 3ml, 약 4ml, 약 5ml, 약 6ml, 약 7ml, 약 8ml, 약 9ml, 약 10ml, 약 11ml, 약 12ml, 약 13ml, 약 14ml, 약 15ml, 약 16ml, 약 17ml, 약 18ml, 약 19ml, 약 20ml, 약 22ml, 약 24ml, 약 26ml, 약 28ml, 약 30ml, 약 32ml, 약 34ml, 약 36ml, 약 38ml, 약 40ml, 약 42ml, 약 44ml, 약 46ml, 약 48ml 또는 약 50ml의 용적을 가질 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 1ml 내지 약 50ml, 약 1ml 내지 약 40ml, 약 1ml 내지 약 30ml, 약 1ml 내지 약 20ml, 약 1ml 내지 약 10ml, 약 5ml 내지 약 50ml, 약 5ml 내지 약 40ml, 약 5ml 내지 약 30ml, 약 5ml 내지 약 20ml, 약 5ml 내지 약 10ml, 약 6ml 내지 약 50ml, 약 6ml 내지 약 40ml, 약 6ml 내지 약 30ml, 약 6ml 내지 약 20ml, 약 6ml 내지 약 10ml, 약 7ml 내지 약 50ml, 약 7ml 내지 약 40ml, 약 7ml 내지 약 30ml, 약 7ml 내지 약 20ml, 약 7ml 내지 약 10ml, 약 8ml 내지 약 50ml, 약 8ml 내지 약 40ml, 약 8ml 내지 약 30ml, 약 8ml 내지 약 20ml, 약 8ml 내지 약 10ml, 약 9ml 내지 약 50ml, 약 9ml 내지 약 40ml, 약 9ml 내지 약 30ml, 약 9ml 내지 약 20ml, 약 9ml 내지 약 10ml, 약 5ml 내지 약 15ml, 약 5ml 내지 약 14ml, 약 5ml 내지 약 13ml, 약 5ml 내지 약 12ml, 약 5ml 내지 약 11ml, 약 6ml 내지 약 15ml, 약 6ml 내지 약 14ml, 약 6ml 내지 약 13ml, 약 6ml 내지 약 12ml, 약 6ml 내지 약 11ml, 약 7ml 내지 약 15ml, 약 7ml 내지 약 14ml, 약 7ml 내지 약 13ml, 약 7ml 내지 약 12ml, 약 7ml 내지 약 11ml, 약 8ml 내지 약 15ml, 약 8ml 내지 약 14ml, 약 8ml 내지 약 13ml, 약 8ml 내지 약 12ml, 약 8ml 내지 약 11ml, 약 9ml 내지 약 15ml, 약 9ml 내지 약 14ml, 약 9ml 내지 약 13ml, 약 9ml 내지 약 12ml 또는 약 9ml 내지 약 11ml의 용적을 가질 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 10ml의 용적을 갖는다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 혈장 샘플은 10ml의 용적을 갖는다.

[0209] 임의의 이전의 방법의 몇몇 실시형태에서, 각각 검정에서 평가된 체세포 돌연변이는 약 0.1% 이상, 예를 들어, 약 0.1% 이상, 약 0.2% 이상, 약 0.3% 이상, 약 0.4% 이상, 약 0.5% 이상, 약 0.6% 이상, 약 0.7% 이상, 약

0.8% 이상, 약 0.9% 이상, 약 1.0% 이상, 약 1.1% 이상, 약 1.2% 이상, 약 1.3% 이상, 약 1.4% 이상, 약 1.5% 이상, 약 1.6% 이상, 약 1.7% 이상, 약 1.8% 이상, 약 1.9% 이상, 약 2.0% 이상, 약 2.1% 이상, 약 2.2% 이상, 약 2.3% 이상, 약 2.4% 이상, 약 2.5% 이상, 약 2.6% 이상, 약 2.7% 이상, 약 2.8% 이상, 약 2.9% 이상, 약 3.0% 이상, 약 3.1% 이상, 약 3.2% 이상, 약 3.3% 이상, 약 3.4% 이상, 약 3.5% 이상, 약 3.6% 이상, 약 3.7% 이상, 약 3.8% 이상, 약 3.9% 이상, 약 4.0% 이상, 약 4.1% 이상, 약 4.2% 이상, 약 4.3% 이상, 약 4.4% 이상, 약 4.5% 이상, 약 4.6% 이상, 약 4.7% 이상, 약 4.8% 이상, 약 4.9% 이상, 약 5.0% 이상, 약 6.0% 이상, 약 7.0% 이상, 약 8.0% 이상, 약 9.0% 이상, 약 10.0% 이상, 약 11.0% 이상, 약 12.0% 이상, 약 13.0% 이상, 약 14.0% 이상, 약 15.0% 이상, 약 16.0% 이상, 약 17.0% 이상, 약 18.0% 이상, 약 19.0% 이상, 약 20.0% 이상, 또는 더 초과와 대립유전자 빈도를 갖는다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, 각각 검정에서 평가된 체세포 돌연변이는 0.5% 이상의 대립유전자 빈도를 갖는다.

표 1

암 관련 유전자

ABL1	BTK	CTNNB1	FAS (TNFRSF6)	HIST1H1C	KDR	MYCN	PKD1	RPL13	SUFU
AB11	BTLA	CUL4A	FAT3	CALR	KEAP1	MYD88	PHF6	5-Sep	SUZ12
ABL2	c11orf30 (EMSY)	CUL4B	FBXO11	HIST1H1D	KIT	MYO18A	PIK3C2G	6-Sep	SYK
ACSL6	CAD	CUX1	FBXO31	HIST1H1E	KLHL6	NBN	PIK3C3	9-Sep	TAF1
ACTB	CAMTA1	CXCR4	FBXW7	HIST1H2AC	KMT2A (MLL)	NCOR1	PIK3CA	RPL15	TBL1XR1
AFF1	CARD11	CYP17A1	FGF10	HIST1H2AG	KMT2B (MLL2)	NCOR2	PIK3CG	RPL35A	TBX3
AFF4	CARS	DAXX	FGF12	HIST1H2AL	KMT2C (MLL3)	NCSTN	PIK3R1	RPS14	TCF3
AKT1	CASP8	DDIT3	FGF14	HIST1H2AM	KRAS	NF1	PIK3R2	RPS15	TCL1A
AKT2	CBFA2T3	DDR1	FGF19	HIST1H2BC	LEF1	NF2	PIM1	RPS19	TET1
AKT3	CBFB	DDR2	FGF23	HIST1H2BJ	LMO1	NFE2L2	PLAG1	RPS26	TET2
ALK	CBL	DDX10	FGF3	HIST1H2BK	LRP1B	NFKBIA	PLCG2	RPTOR	TFE3
ALOX12B	CCND1	DDX3X	FGF4	HIST1H2BO	LRRK2	NKX2-1	PML	RUNX1	TFG
AMER1 (FAM123B 또는 WTX)	CCND2	DDX6	FGF6	HIST1H3B	MAF	NOD1	PMS2	RUNX1T1	TFPT
APC	CCND3	DEK	FGF7	HLA-A	MAFB	NOTCH1	PNRC1	RUNX1T1 (ETO)	TFRC
APCDD1	CCNE1	DIS3	FGFR1	HNF1A	M 연형 D1	NOTCH2	POT1	RUNX2	TGFBR2
APH1A	CCT6B	DKC1	FGFR2	HRAS	MALT1	NOTCH3	POU2AF1	S1PR2	TIPARP
AR	CD22	DLEU2	FGFR3	HSP90AA1	MAP2K1	NOTCH4	PPP1CB	SBDS	TLL2
ARAF	CD247	DNM2	FGFR4	ICK	MAP2K2	NPM1	PPP2R1A	SDHA	TLX1
ARFRP1	CD274 (PDL1)	DNMT3A	FHIT	ID3	MAP2K4	NR4A3	PRDM1	SDHB	TLX3
ARHGAP26	CD36	DOT1L	FLCN	IDH1	MAP3K1	NRAS	PRDM16	SDHC	TMEM30A
ARHGAP26 (GRAF)	CD58	DTX1	FLI1	IDH2	MAP3K13	NSD1	PRKAR1A	SDHD	TMPRSS2
ARHGEF12	CD70	DUSP2	FLT1	IGF1	MAP3K14	NT5C2	PRKDC	SEC31A	TMSB4XP8 (TMSL3)
ARID1A	CD79A	DUSP22	FLT3	IGF1R	MAP3K6	NTRK1	PRRX1	SERP2	TNFAIP3
ARID1B	CD79B	DUSP9	FLT4	IGF2	MAP3K7	NTRK2	PRSS8	SET	TNFRSF11A
ARID2	CDC73	EBF1	FLYWCH1	IGH	MAPK1	NTRK3	PSIP1	SETBP1	TNFRSF14
ARNT	CDH1	ECT2L	FBNP1	IGK	MCL1	NUMA1	PTCH1	SETD2	TNFRSF17
ASMTL	CDK12	EED	FOXL2	IGL	MDM2	NUP214	PTEN	SF3B1	TNFSF9
ASXL1	CDK4	EGFR	FOXO1	IKBKE	MDM4	NUP93	PTK7	SGK1	TOP1
ATF1	CDK6	EIF4A2	FOXO3	IKZF1	MDS2	NUP98	PTPN11	SH2B3	TP53
ATG5	CDK8	ELF4	FOXO4	IKZF2	MECOM	NUTM2A	PTPN2	SH3GL1	TP63
ATIC	CDKN1B	ELL	FOXP1	IKZF3	MED12	OLIG2	PTPN6 (SHP-1)	SLC1A2	TPM3
ATM	CDKN2A	ELN	FRS2	IL21R	MEF2B	OMD	PTPRO	SMAD2	TPM4
ATR	CDKN2B	ELP2	FSTL3	IL3	MEF2C	P2RY8	RABEP1	SMAD4	TRAF2
ATRX	CDKN2C	EML4	FUS	IL7R	MEN1	PAFAH1B2	RAD21	SMARCA1	TRAF3

[0210]

ATXN1	CDX2	EP300	GADD45B	INHBA	MET	PAG1	RAD50	SMARCA4	TRAF5
AURKA	CEBPA	EPHA3	GAS7	INPP4B	MIB1	PAK3	RAD51	SMARCB1	TRG
AURKB	CHD2	EPHA5	GATA1	INPP5D (SHIP)	MITF	PAK7	RAD51B	SMARCD1	TRIM24
AXIN1	CHEK1	EPHA7	GATA2	INSR	MKI67	PALB2	RAD51C	SMC1A	TRIP11
AXL	CHEK2	EPHB1	GATA3	IRF1	MKL1	PARP1	RAD51D	SMC3	TRRAP
B2M	CHIC2	EPOR	GID4 (c17orf39)	IRF4	MKL2	PARP2	RAD52	SMO	TSC1
BAP1	CHN1	EPS15	GLI1	IRF8	MLF1	PARP3	RAD54L	SNX29 (RUNDCC2A)	TSC2
BARD1	CHTOP (C1orf77)	ERBB2	GLIS2	IRS2	MLH1	PARP4	RAF1	SOC3	TSHR
BCL10	CHUK	ERBB3	GMP5	ITK	MLLT1 (ENL)	PASK	RALGDS	SOC2	TTL
BCL11A	CIC	ERBB4	GNA11	JAK1	MLLT10 (AF10)	PAX3	RANBP17	SOC3	TUSC3
BCL11B	CIITA	ERG	GNA12	JAK2	MLLT3	PAX5	RAP1GDS1	SOX10	TYK2
BCL2	CKS1B	ESR1	GNA13	JAK3	MLLT4 (AF6)	PAX7	RARA	SOX2	U2AF1
BCL2L2	CLP1	ETS1	GNAQ	JARID2	MLLT6	PBRM1	RASGEF1A	SPEN	U2AF2
BCL3	CLTC	ETV1	GNAS	JAZF1	MN1	PBX1	RB1	SPOP	USP6
BCL6	CLTCL1	ETV4	GPHN	JUN	MNX1	PC	RBM15	SRC	VHL
BCL7A	CNTRL (CEP110)	ETV5	GPR124	KAT6A (MYST3)	MPL	PCBP1	RCOR1	SRSF2	WDR90
BCL9	COL1A1	ETV6	GRIN2A	KDM2B	MRE11A	PCLO	REL	SRSF3	WHSC1
BCOR	CPS1	EWSR1	GSK3B	KDM4C	MSH2	PCM1	RELN	SS18	WHSC1 (MMSET 또는 NSD2)
BCORL1	CRBN	EXOSC6	GTSE1	KDM5A	MSH3	PCSK7	RET	SSX1	WHSC1L1
BCR	CREB3L1	EZH2	HDAC1	KDM5C	MSH6	PDCD1	RHOA	SSX2	WISP3
BIRC3	CREB3L2	FAF1	HDAC4	KDM6A	MSI2	PDCD11	RHOH	SSX4	WT1
BLM	CREBBP	FAM46C	HDAC7	KDSR	MSN	PDCD1LG2 (PDL2)	RICTOR	STAG2	XBP1
BRAF	CRKL	FANCA	HERPUD1	KIF5B	MTAP	PDCD1LG2 (PDL2)	RMRP	STAT3	XPO1
BRCA1	CRLF2	FANCC	HEY1	LASP1	MTCP1	PDE4DIP	RNF213	STAT4	XRCC3
BRCA2	CSF1	FANCD2	HGF	LCK	MTOR	PDGFB	RNF43	STAT5A	YPEL5
BRD4	CSF1R	FANCE	HIP1	LCP1	MUC1	PDGFRA	ROS1	STAT5B	YY1AP1
BRIP1 (BACH1)	CSF3R	FANCF	HIST1H1A	LMO2	MUTYH	PDGFRB	RPA1	STAT6	ZBTB16
BRSK1	CTCF	FANCG	HIST1H4I	LPP	MYB	PER1	RPL11	STK11	ZMYM2
BTG1	CTNNA1	FANCI	HLF	LTK	MYC	PGAM5	RPL22	STL	ZMYM3
BTG2	FANCM	FANCL	HMGAI	LYL1	MYCL (MYCL1)	PHF1	RPN1	TAF15	ZNF217
HSP90AB1	FCGR2B	HOXA9	HMGAI	M 연령 A5	MYH11	PICALM	TCL6	TAL1	ZNF24 (ZSCAN3)
HOXD13	FCRL4	HOXC11	HOXA11	MYH9	NCOA2	TEC	TAL2	TCF3 (E2A)	ZNF384
NFKBIE	FEV	HOXC13	HOXA13	NACA	NDRG1	TCL1A (TCL1)	ZRSR2	ZNF703	ZNF521
NIN	FGFR1OP	HOXD11	HOXA3	NBEAP1 (BCL8)	NFKB2				

[0211]

[0212]

결정 단계는 MSAF를 도출하도록 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 대립유전자(즉, 체세포 돌연변이(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인델 돌연변이)를 갖는 유전자의 변이체)의 가장 높은 상대 빈도를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 다음에 가장 흔히 발생하는 돌연변이에 대한 체세포 대립유전자 빈도는 또한 개체로부터의 샘플로부터 결정될 수 있다. 몇몇 경우에, 체세포 대립유전자 빈도는 개체로부터의 샘플로부터 검출된 각각의 돌연변이에 대해 결정된다. 몇몇 경우에, 다수의 체세포 돌연변이를 갖는 샘플은, 아마도 암(예를 들어, 종양)에서의 이의 원래의 클론 빈도에 따라, 체세포 대립유전자 빈도의 분포로서 이 돌연변이를 제시할 것이다. 몇몇 경우에, 40% 초과(예를 들어, 40% 초과, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 100%)의 체세포 대립유전자 빈도는 버려지고, 40% 미만(예를 들어, 40% 이하)의 다음에 가장 높은 체세포 대립유전자 빈도를 갖는 변이체는 샘플에 대해 MSAF인 것으로 결정된다. 몇몇 경우에, MSAF는 샘플에서 20% 미만인 가장 큰 체세포 대립유전자 빈도로부터 계산된다. 생식선 돌연변이는 약 50% 내지 약 100%인 체세포 대립유전자 빈도 분포를 갖는 것으로 발견되었다.

[0213]

MSAF의 결정은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수의 결정 전에, 이와 동시에 또는 후에 발생할 수 있다.

[0214]

임의의 이전의 경우에, 개체는, 예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어,

어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신 암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤향막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인 두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핑지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양으로부터 선택된 암을 가질 수 있다.

[0215] 몇몇 경우에, 개체는 암에 대해 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)을 갖는 치료 이후에 진행한다. 다른 경우에, 개체는 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료에 부적격일 수 있고/있거나, 암에 대한 이전의 치료를 받지 않았다. 몇몇 경우에, 개체는 면역관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합에 의한 이전의 치료를 받지 않았다.

[0216] 임의의 이전의 방법에서, 환자로부터의 샘플(예를 들어, 혈액 샘플)은 전혈, 혈장, 혈청, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에, 샘플은 보관소 혈액 샘플, 새로운 혈액 샘플, 또는 동결된 혈액 샘플이다.

[0217] 임의의 이전의 경우에, 기준 bTMB 점수는 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤향막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핑지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)을 갖는 개체의 기준 집단에서의 bTMB 점수일 수 있고, 개체의 집단은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 여기서 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에서의 유의차에 기초하여 개체의 각각의 제1 하위집단 및 제2 하위집단을 유의미하게 분리시킨다. 몇몇 경우에, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존율(PFS)의 증가 및/또는 전체 생존율(OS)의 증가이다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 예비배정된 bTMB 점수일 수 있다. 기준 bTMB 점수는 4 내지 30(예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30, 예를 들어, 8 내지 30, 예를 들어, 10 내지 16, 또는, 예를 들어, 10 내지 20)일 수 있다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 10 내지 20(예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 다른 경우에, 기준 bTMB 점수는 16 내지 20(예를 들어, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 예를 들어, 몇몇 경우

에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 9 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 10 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 11 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 12 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 13 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 14 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 16 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 18 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종) 및 16 이상의 점수의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 20 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 21 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 22 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 23 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 24 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 25 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다.

[0218] 임의의 이전의 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 이상(예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 또는 초과)일 수 있다. 예를 들어, 샘플로부터의 bTMB 점수는 약 8 내지 약 100(예를 들어, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 및 100)일 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 약 400 내지 약 1500(예를 들어, 약 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 또는 1500의 bTMB 점수)일 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 미만(예를 들어, 0, 1, 2, 또는 3)이거나, 검출 불가능할 수 있다.

[0219] 임의의 이전의 경우의 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는, 예를 들어, 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 바와 같이 동등 bTMB 값이다.

[0220] 몇몇 경우에, 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수는 기준 집단에서 약 5% 이상의 유병률, 예를 들어, 약 5% 내지 약 75%의 유병률(예를 들어, 약 5% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 60% 또는 약 60% 내지 75%; 예를 들어, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% 또는 75%의 유병률)을 가질 수 있다.

[0221] 몇몇 경우에, 기준 컷오프 bTMB 점수 이상인 bTMB 점수의 유병률은 기준 집단에서 약 5%, 예를 들어, 약 5% 내지 약 75%의 유병률(예를 들어, 약 5% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 60% 또는 약 60% 내지 75%; 예를 들어, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% 또는 75%의 유병률)이다.

[0222] 몇몇 경우에, 게놈 또는 엑솜의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 30% 미만(예를 들어, 약 30% 미만, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 또는 미만만큼 벗어난다. 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑솜의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 1% 내지 약 30%(예를 들어, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지

약 25%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 15%, 약 5% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 30%, 약 10% 내지 약 25%, 약 10% 내지 약 20%, 약 10% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 30%, 약 15% 내지 약 25%, 약 15% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 30% 또는 약 20% 내지 약 25%)만큼 벗어난다. 몇몇 실시형태에서, 계층 또는 엑솜의 하위 집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록 상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계층된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 10% 내지 약 20%(예를 들어, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19% 또는 약 20%)만큼 벗어난다. 여기서 제공된 임의의 방법에서, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터의 이익은 OS의 증가, PFS의 증가, 또는 OS 및 PFS의 증가일 수 있다.

[0223] 임의의 이전의 방법에서, PD-L1 축 결합 길항제는 당해 분야에 공지되거나 본 명세서에, 예를 들어, 하기에 부문 IV에 기재된 임의의 PD-L1 축 결합 길항제일 수 있다.

[0224] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 보고서, 예를 들어, 전자, 웹 기반 또는 종이 보고서를 환자에게 또는 또 다른 사람 또는 집합체, 보호자, 의사, 종양학자, 병원, 클리닉, 제3자 지불인, 보험 회사, 제약 또는 생명공학 회사, 또는 관공서에 생성하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 보고서는 bTMB 점수의 평가를 포함하는 방법으로부터의 출력을 포함한다.

[0225] (ii) 예후적 및 약물력학적 진단학적 방법

[0226] 본 발명은 예후적 및 약물력학적 방법을 제공한다. 몇몇 경우에, 상기 방법은 암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 단계를 수반할 수 있다. 다른 경우에, 상기 방법은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 대한 환자의 반응을 모니터링하는 단계를 수반할 수 있다. 특정한 경우에, 본 명세서에 제공된 방법 및 검정법은 암을 앓는 개체가 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 반응할 것 같은지를 결정하도록 사용될 수 있고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 반응할 것 같은 사람으로서 식별한다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수보다 낮은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 치료로부터 덜 이익을 얻을 것 같은 사람으로서 식별한다.

[0227] 일 양상에서, 암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플로부터의 bTMB 점수는 개체를 불량한 예후를 가질 수 있는 사람으로서 식별한다.

[0228] 일 양상에서, 암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 ctDNA의 수준을 결정하는 단계를 포함하고, 여기서 ctDNA의 기준 수준이거나 이보다 높은 샘플로부터의 ctDNA의 수준은 개체를 불량한 예후를 가질 수 있는 사람으로서 식별한다.

[0229] 또 다른 양상에서, 암을 앓는 개체에 대한 예후를 제공하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 MSAF이거나 이보다 높은 샘플로부터의 MSAF는 개체를 불량한 예후를 가질 수 있는 사람으로서 식별한다. MSAF는, 예를 들어, 하기에 부문 C에 기재된 바와 같이, 또는 실시예에 기재된 바와 같이 임의의 적합한 접근법을 이용하여 결정될 수 있다.

[0230] 또 다른 양상에서, 암을 앓는 개체의 임상병리학적 변수를 평가하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 개체로부터 얻은 샘플에서의 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함한다. 임상병리학적 변수는, 예를 들어, 종양 부

답, SLD 또는 중앙 조직학(예를 들어, 편평 또는 비편평 형태학)일 수 있다.

[0231] 또 다른 양상에서, 암을 앓는 개체의 임상병리학적 변수를 평가하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 개체로부터 얻은 샘플에서 MSAF를 결정하는 단계를 포함한다. 임상병리학적 변수는, 예를 들어, 중앙 부담, SLD 또는 중앙 조직학(예를 들어, 편평 또는 비편평 형태학)일 수 있다.

[0232] 더 또 다른 양상에서, 암을 앓는 개체에서 질환 진행을 예측하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 개체로부터 얻은 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 샘플에서의 bTMB 점수는 개체를 질환 진행을 더 나타낼 것 같은 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은 중앙 부담의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, 중앙 부담의 증가는 가장 긴 직경 합(SLD)의 증가를 특징으로 한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 중앙 조직학에 의해 평가된 바와 같이 편평 형태학의 증가를 특징으로 한다. 다른 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 중앙 조직학에 의해 평가된 바와 같이 비편평 형태학의 증가를 특징으로 한다.

[0233] 더 추가의 양상에서, 암을 앓는 개체에서 질환 진행을 예측하는 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 개체로부터 얻은 샘플에서 MSAF를 결정하는 단계를 포함하되, 여기서 기준 MSAF이거나 이보다 높은 샘플에서의 MSAF는 개체를 질환 진행을 더 나타낼 것 같은 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은 중앙 부담의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, 중앙 부담의 증가는 가장 긴 직경 합(SLD)의 증가를 특징으로 한다. 몇몇 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 중앙 조직학에 의해 평가된 바와 같이 편평 형태학의 증가를 특징으로 한다. 다른 실시형태에서, 질환 진행은, 예를 들어, 중앙 조직학에 의해 평가된 바와 같이 비편평 형태학의 증가를 특징으로 한다. 임의의 이전의 방법의 몇몇 실시형태에서, 개체로부터의 샘플로부터 MSAF는 약 0.01% 내지 약 10%, 예를 들어, 약 0.01%, 약 0.02%, 약 0.03%, 약 0.04%, 약 0.05%, 약 0.06%, 약 0.07%, 약 0.08%, 약 0.09%, 약 0.1%, 약 0.15%, 약 0.2%, 약 0.25%, 약 0.3%, 약 0.35%, 약 0.4%, 약 0.45%, 약 0.5%, 약 0.55%, 약 0.6%, 약 0.65%, 약 0.7%, 약 0.75%, 약 0.8%, 약 0.85%, 약 0.9%, 약 0.95%, 약 1%, 약 1.5%, 약 2%, 약 2.5%, 약 3%, 약 3.5%, 약 4%, 약 4.5%, 약 5%, 약 5.5%, 약 6%, 약 6.5%, 약 7%, 약 7.5%, 약 8%, 약 8.5%, 약 9%, 약 9.5% 또는 약 10%이다.

[0234] 몇몇 실시형태에서, 개체로부터의 샘플로부터 MSAF는 약 0.01% 내지 약 10%, 약 0.01% 내지 약 9%, 약 0.01% 내지 약 8%, 약 0.01% 내지 약 7%, 약 0.01% 내지 약 6%, 약 0.01% 내지 약 5%, 약 0.01% 내지 약 4%, 약 0.01% 내지 약 3%, 약 0.01% 내지 약 2%, 약 0.01% 내지 약 1%, 약 0.05% 내지 약 10%, 약 0.05% 내지 약 9%, 약 0.05% 내지 약 8%, 약 0.05% 내지 약 7%, 약 0.05% 내지 약 6%, 약 0.05% 내지 약 5%, 약 0.05% 내지 약 4%, 약 0.05% 내지 약 3%, 약 0.05% 내지 약 2%, 약 0.05% 내지 약 1%, 약 0.1% 내지 약 10%, 약 0.1% 내지 약 9%, 약 0.1% 내지 약 8%, 약 0.1% 내지 약 7%, 약 0.1% 내지 약 6%, 약 0.1% 내지 약 5%, 약 0.1% 내지 약 4%, 약 0.1% 내지 약 3%, 약 0.1% 내지 약 2% 또는 약 0.1% 내지 약 1%이고, 특정한 실시형태에서, 개체로부터의 샘플로부터 MSAF는 약 0.1% 내지 약 5%이다. 다른 특정한 실시형태에서, 개체로부터의 샘플로부터 MSAF는 약 0.1% 내지 약 2%이다.

[0235] 몇몇 실시형태에서, 개체로부터의 샘플로부터 MSAF는 약 0.1% 내지 약 5%, 약 0.1% 내지 약 4.5%, 약 0.1% 내지 약 4%, 약 0.1% 내지 약 3.5%, 약 0.1% 내지 약 3%, 약 0.1% 내지 약 2.5%, 약 0.1% 내지 약 2%, 약 0.1% 내지 약 1.5%, 약 0.1% 내지 약 1%, 약 0.1% 내지 약 0.9%, 약 0.1% 내지 약 0.8%, 약 0.1% 내지 약 0.7%, 약 0.1% 내지 약 0.6%, 약 0.1% 내지 약 0.5%, 약 0.1% 내지 약 0.4%, 약 0.1% 내지 약 0.3%, 약 0.1% 내지 약 0.2%, 약 0.5% 내지 약 5%, 약 0.5% 내지 약 4.5%, 약 0.5% 내지 약 4%, 약 0.5% 내지 약 3.5%, 약 0.5% 내지 약 3%, 약 0.5% 내지 약 2.5%, 약 0.5% 내지 약 2%, 약 0.5% 내지 약 1.5%, 약 0.5% 내지 약 1%, 약 0.5% 내지 약 0.9%, 약 0.5% 내지 약 0.8%, 약 0.5% 내지 약 0.7%, 약 0.5% 내지 약 0.6%, 약 1% 내지 약 5%, 약 1% 내지 약 4.5%, 약 1% 내지 약 4%, 약 1% 내지 약 3.5%, 약 1% 내지 약 3%, 약 1% 내지 약 2.5%, 약 1% 내지 약 2%, 약 1% 내지 약 1.5%, 약 1% 내지 약 1.25%, 약 1.25% 내지 약 5%, 약 1.25% 내지 약 4.5%, 약 1.25% 내지 약 4%, 약 1.25% 내지 약 3.5%, 약 1.25% 내지 약 3%, 약 1.25% 내지 약 2.5%, 약 1.25% 내지 약 2%, 약 1.25% 내지 약 1.5%, 약 1.5% 내지 약 5%, 약 1.5% 내지 약 4.5%, 약 1.5% 내지 약 4%, 약 1.5% 내지 약 3.5%, 약 1.5% 내지 약 3%, 약 1.5% 내지 약 2.5%, 약 1.5% 내지 약 2%, 약 1.75% 내지 약 5%, 약 1.75% 내지 약 4.5%, 약 1.75% 내지 약 4%, 약 1.75% 내지 약 3.5%, 약 1.75% 내지 약 3%, 약 1.75% 내지 약 2.5%, 약 1.75% 내지 약 2%, 약 2% 내지 약 5%, 약 2% 내지 약 4.5%, 약 2% 내지 약 4%, 약 2% 내지 약 3.5%, 약 2% 내지 약 3%, 약 2% 내지 약 2.5%, 약 2.5% 내지 약 5%, 약 2.5% 내지 약 4.5%, 약 2.5% 내지 약 4%, 약 2.5% 내지 약 3.5%, 약 2.5% 내지 약 3%, 약 3% 내지 약 5%, 약 3% 내지 약 4.5%, 약 3% 내지 약 4%, 약 3% 내지 약 3.5%, 약 3.5% 내

지 약 5%, 약 3.5% 내지 약 4.5%, 약 3.5% 내지 약 4%, 약 4% 내지 약 5% 또는 약 4% 내지 약 4.5%이다.

[0236] 몇몇 실시형태에서, 개체로부터의 샘플로부터 기준치 MSAF는 약 0.1% 내지 약 5%, 약 0.1% 내지 약 4.5%, 약 0.1% 내지 약 4%, 약 0.1% 내지 약 3.5%, 약 0.1% 내지 약 3%, 약 0.1% 내지 약 2.5%, 약 0.1% 내지 약 2%, 약 0.1% 내지 약 1.5%, 약 0.1% 내지 약 1%, 약 0.1% 내지 약 0.9%, 약 0.1% 내지 약 0.8%, 약 0.1% 내지 약 0.7%, 약 0.1% 내지 약 0.6%, 약 0.1% 내지 약 0.5%, 약 0.1% 내지 약 0.4%, 약 0.1% 내지 약 0.3%, 약 0.1% 내지 약 0.2%, 약 0.5% 내지 약 5%, 약 0.5% 내지 약 4.5%, 약 0.5% 내지 약 4%, 약 0.5% 내지 약 3.5%, 약 0.5% 내지 약 3%, 약 0.5% 내지 약 2.5%, 약 0.5% 내지 약 2%, 약 0.5% 내지 약 1.5%, 약 0.5% 내지 약 1%, 약 0.5% 내지 약 0.9%, 약 0.5% 내지 약 0.8%, 약 0.5% 내지 약 0.7%, 약 0.5% 내지 약 0.6%, 약 1% 내지 약 5%, 약 1% 내지 약 4.5%, 약 1% 내지 약 4%, 약 1% 내지 약 3.5%, 약 1% 내지 약 3%, 약 1% 내지 약 2.5%, 약 1% 내지 약 2%, 약 1% 내지 약 1.5%, 약 1% 내지 약 1.25%, 약 1.25% 내지 약 5%, 약 1.25% 내지 약 4.5%, 약 1.25% 내지 약 4%, 약 1.25% 내지 약 3.5%, 약 1.25% 내지 약 3%, 약 1.25% 내지 약 2.5%, 약 1.25% 내지 약 2%, 약 1.25% 내지 약 1.5%, 약 1.5% 내지 약 5%, 약 1.5% 내지 약 4.5%, 약 1.5% 내지 약 4%, 약 1.5% 내지 약 3.5%, 약 1.5% 내지 약 3%, 약 1.5% 내지 약 2.5%, 약 1.5% 내지 약 2%, 약 1.75% 내지 약 5%, 약 1.75% 내지 약 4.5%, 약 1.75% 내지 약 4%, 약 1.75% 내지 약 3.5%, 약 1.75% 내지 약 3%, 약 1.75% 내지 약 2.5%, 약 1.75% 내지 약 2%, 약 2% 내지 약 5%, 약 2% 내지 약 4.5%, 약 2% 내지 약 4%, 약 2% 내지 약 3.5%, 약 2% 내지 약 3%, 약 2% 내지 약 2.5%, 약 2.5% 내지 약 5%, 약 2.5% 내지 약 4.5%, 약 2.5% 내지 약 4%, 약 2.5% 내지 약 3.5%, 약 2.5% 내지 약 3%, 약 3% 내지 약 5%, 약 3% 내지 약 4.5%, 약 3% 내지 약 4%, 약 3% 내지 약 3.5%, 약 3.5% 내지 약 5%, 약 3.5% 내지 약 4.5%, 약 3.5% 내지 약 4%, 약 4% 내지 약 5% 또는 약 4% 내지 약 4.5%이다.

[0237] 몇몇 실시형태에서, 개체로부터의 샘플로부터 기준치 MSAF는 약 0.1% 내지 약 5%, 약 0.1% 내지 약 4.5%, 약 0.1% 내지 약 4%, 약 0.1% 내지 약 3.5%, 약 0.1% 내지 약 3%, 약 0.1% 내지 약 2.5%, 약 0.1% 내지 약 2%, 약 0.1% 내지 약 1.5%, 약 0.1% 내지 약 1%, 약 0.1% 내지 약 0.9%, 약 0.1% 내지 약 0.8%, 약 0.1% 내지 약 0.7%, 약 0.1% 내지 약 0.6%, 약 0.1% 내지 약 0.5%, 약 0.1% 내지 약 0.4%, 약 0.1% 내지 약 0.3%, 약 0.1% 내지 약 0.2%, 약 0.5% 내지 약 5%, 약 0.5% 내지 약 4.5%, 약 0.5% 내지 약 4%, 약 0.5% 내지 약 3.5%, 약 0.5% 내지 약 3%, 약 0.5% 내지 약 2.5%, 약 0.5% 내지 약 2%, 약 0.5% 내지 약 1.5%, 약 0.5% 내지 약 1%, 약 0.5% 내지 약 0.9%, 약 0.5% 내지 약 0.8%, 약 0.5% 내지 약 0.7%, 약 0.5% 내지 약 0.6%, 약 1% 내지 약 5%, 약 1% 내지 약 4.5%, 약 1% 내지 약 4%, 약 1% 내지 약 3.5%, 약 1% 내지 약 3%, 약 1% 내지 약 2.5%, 약 1% 내지 약 2%, 약 1% 내지 약 1.5%, 약 1% 내지 약 1.25%, 약 1.25% 내지 약 5%, 약 1.25% 내지 약 4.5%, 약 1.25% 내지 약 4%, 약 1.25% 내지 약 3.5%, 약 1.25% 내지 약 3%, 약 1.25% 내지 약 2.5%, 약 1.25% 내지 약 2%, 약 1.25% 내지 약 1.5%, 약 1.5% 내지 약 5%, 약 1.5% 내지 약 4.5%, 약 1.5% 내지 약 4%, 약 1.5% 내지 약 3.5%, 약 1.5% 내지 약 3%, 약 1.5% 내지 약 2.5%, 약 1.5% 내지 약 2%, 약 1.75% 내지 약 5%, 약 1.75% 내지 약 4.5%, 약 1.75% 내지 약 4%, 약 1.75% 내지 약 3.5%, 약 1.75% 내지 약 3%, 약 1.75% 내지 약 2.5%, 약 1.75% 내지 약 2%, 약 2% 내지 약 5%, 약 2% 내지 약 4.5%, 약 2% 내지 약 4%, 약 2% 내지 약 3.5%, 약 2% 내지 약 3%, 약 2% 내지 약 2.5%, 약 2.5% 내지 약 5%, 약 2.5% 내지 약 4.5%, 약 2.5% 내지 약 4%, 약 2.5% 내지 약 3.5%, 약 2.5% 내지 약 3%, 약 3% 내지 약 5%, 약 3% 내지 약 4.5%, 약 3% 내지 약 4%, 약 3% 내지 약 3.5%, 약 3.5% 내지 약 5%, 약 3.5% 내지 약 4.5%, 약 3.5% 내지 약 4%, 약 4% 내지 약 5% 또는 약 4% 내지 약 4.5%이다.

[0238] 임의의 이전의 방법의 몇몇 실시형태에서, 개체로부터의 샘플은 항암 치료제(예를 들어, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제)의 투여 전에 개체로부터 얻어진다. 다른 말로, 샘플은 기준치 샘플일 수 있다.

[0239] 임의의 이전의 방법은 개체에 대한 항암 치료제를 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체에 대한 항암 치료제를 투여하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항암 치료제는 개체에게 가능한 빨리 선택되고/되거나 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 항암 치료제는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체에게 추가 치료제(예를 들어, 화학치료제)와 조합되어 면역 관문 저해제를 포함하는 항암 치료제를 선택하고/

하거나 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체에게 면역 관문 저해제를 포함하지 않는 항암 치료제, 예를 들어, 화학치료제를 포함하는 항암 치료제를 선택하고/하거나 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 화학치료제는 본 명세서에 기재되거나 당해 분야에 공지된 임의의 화학 치료제이다. 몇몇 실시형태에서, 항암 치료제는 세포독성 조합(예를 들어, 더 공격적인 세포독성 조합)을 포함한다.

[0240] 더 또 다른 양상에서, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 항암 치료제에 의한 치료에 대한 암을 앓는 개체의 반응의 모니터링 방법이 본 명세서에 제공되고, 상기 방법은 (a) 개체에 대한 항암 치료제의 투여 이후의 시점에 개체로부터 얻은 샘플에서 bTMB 점수를 결정하는 단계; 및 (b) 샘플에서의 bTMB 점수를 기준 bTMB 점수와 비교하여서, 항암 치료제에 의한 치료에 대한 개체에서의 반응을 모니터링하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 샘플에서의 bTMB 점수가 기준 bTMB 점수에 비해 감소하면 항암 치료제의 하나 이상의 추가적인 용량을 투여하는 단계를 더 포함한다. 다른 실시형태에서, 상기 방법은 샘플에서의 bTMB 점수가 기준 bTMB 점수에 비해 감소하면 면역 관문 저해제를 포함하지 않는 항암 치료제를 선택하는 단계를 더 포함할 수 있다. 다른 실시형태에서, 상기 방법은 샘플에서의 bTMB 점수가 기준 bTMB 점수에 비해 증가하거나 그대로 있으면 개체에 대한 추가 치료제와 조합된 면역 관문 저해제를 포함하는 항암 치료제를 선택하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 개체에 대한 면역 관문 저해제를 포함하지 않는 항암 치료제, 예를 들어, 화학치료제를 포함하는 항암 치료제를 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 화학치료제는 본 명세서에 기재되거나 당해 분야에 공지된 임의의 화학치료제이다.

[0241] 본 명세서에 제공된 방법은 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 bTMB 점수 또는 MSAF를 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 개체로부터의 샘플은 보관소 샘플, 새로운 샘플 또는 동결된 샘플일 수 있다. 결정 단계는 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 도출하도록 유전자의 미리 결정된 세트에서 생긴 체세포 돌연변이(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인델 돌연변이)의 전체 수를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이의 수는 계수된 SNV의 수 또는 SNV의 수와 계수된 인델 돌연변이의 수의 합이다.

[0242] 체세포 돌연변이의 수는 개체에서 DNA, mRNA, cDNA, 단백질, 단백질 단편, 및/또는 유전자 카피수 수준의 측정(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 기준에 기초하여 정성적으로 및/또는 정량적으로 결정될 수 있다. 몇몇 경우에, 개체의 포괄적인 게놈 프로파일은 개체로부터 수집된 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 결정된다. 몇몇 경우에, 게놈 프로파일의 결정은 게놈 변경(예를 들어, 체세포 돌연변이(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인델 돌연변이))을 확인하도록 당해 분야에 공지되거나 본 명세서에 기재된 차세대 서열분석 방법을 적용하는 것을 포함한다. 몇몇 경우에, 시험은 적어도 약 500x(예를 들어, 500x, 550x, 600x, 650x, 700x, 750x, 800x, 850x, 900x, 950x 또는 1,000x)의 엑손 커버리지의 전형적인 중앙치 깊이로 적어도 약 0.05Mb 내지 약 10Mb(예를 들어, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10Mb)를 다루는 약 300개의 유전자(예를 들어, 적어도 약 300개 내지 약 400개의 유전자, 예를 들어, 약 300개, 310개, 320개, 330개, 340개, 350개, 360개, 370개, 380개, 390개 또는 400개의 유전자의 세트)의 코딩 영역을 동시에 서열분석한다. 다른 경우에, 시험은 약 400개의 유전자, 약 425개의 유전자, 약 450개의 유전자, 약 475개의 유전자, 약 500개의 유전자, 약 525개의 유전자, 약 550개의 유전자, 약 575개의 유전자, 약 600개의 유전자, 약 625개의 유전자, 약 650개의 유전자, 약 675개의 유전자, 약 700개의 유전자, 약 725개의 유전자, 약 750개의 유전자, 약 775개의 유전자, 약 800개의 유전자, 약 825개의 유전자, 약 850개의 유전자, 약 875개의 유전자, 약 900개의 유전자, 약 925개의 유전자, 약 950개의 유전자, 약 975개의 유전자, 약 1000개의 유전자, 또는 1000개 초과 유전자의 코딩 영역을 동시에 서열분석한다. 몇몇 경우에, 유전자의 세트는 표 1에 기재된 적어도 2개의 유전자(예를 들어, 암 관련된 유전자)를 포함한다. 몇몇 경우에, 유전자의 세트는 FOUNDATIONONE(등록상표) 패널의 유전자의 세트이다. 몇몇 경우에, 유전자의 세트는 FOUNDATIONONE(등록상표) CDx 패널의 유전자의 세트이다. 몇몇 실시형태에서, 시험은 개체의 게놈의 약 10Mb 초과, 예를 들어, 약 10Mb 초과, 약 15Mb 초과, 약 20Mb 초과, 약 25Mb 초과, 약 30Mb 초과, 약 35Mb 초과, 약 40Mb 초과, 약 45Mb 초과, 약 50Mb 초과, 약 55Mb 초과, 약 60Mb 초과, 약 65Mb 초과, 약 70Mb 초과, 약 75Mb 초과, 약 80Mb 초과, 약 85Mb 초과, 약 90Mb 초과, 약 95Mb 초과, 약 100Mb 초과, 약 200Mb 초과, 약 300Mb 초과, 약 400Mb 초과, 약 500Mb 초과, 약 600Mb 초과, 약 700Mb 초과, 약 800Mb 초과, 약 900Mb 초과, 약 1Gb 초과, 약 2Gb 초과, 약

3Gb 초과, 또는 약 3.3Gb를 서열분석한다. 몇몇 경우에, bTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된다. 몇몇 경우에, bTMB 점수는 전장 게놈 서열분석에 의해 결정된다. bTMB 점수는 유전자 동일성에 독립적으로 계산될 수 있다. 몇몇 경우에, 각각의 커버된 서열분석 리드는 종양 이질성, 낮은 종양 순도 및 작은 샘플 용적으로 인해 낮은 빈도로 발생하는 게놈 변경의 고도로 민감하고 특이적인 검출이 가능하도록 고유한 DNA 단편을 나타낸다.

[0243] 결정 단계는 bTMB 점수를 도출하도록 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 단리된 무세포 DNA(cfDNA) 및/또는 순환 종양 DNA(ctDNA)에서의 체세포 돌연변이의 수를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 적어도 약 5ng(예를 들어, 적어도 약 5ng, 적어도 약 10ng, 적어도 약 15ng, 적어도 약 20ng, 적어도 약 25ng, 적어도 약 30ng, 적어도 약 35ng, 적어도 약 40ng, 적어도 약 45ng, 적어도 약 50ng, 적어도 약 75ng, 적어도 약 100ng, 적어도 약 200ng, 적어도 약 300ng, 적어도 약 400ng, 또는 초과)이다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 적어도 약 20ng의 cfDNA이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은, 예를 들어, 약 5ng 내지 약 100ng(예를 들어, 약 5ng 내지 약 100ng, 약 5ng 내지 약 90ng, 약 5ng 내지 약 80ng, 약 5ng 내지 약 70ng, 약 5ng 내지 약 60ng, 약 5ng 내지 약 50ng, 약 5ng 내지 약 40ng, 약 5ng 내지 약 30ng, 약 5ng 내지 약 20ng, 약 5ng 내지 약 15ng, 약 5ng 내지 약 10ng, 약 10ng 내지 약 100ng, 약 10ng 내지 약 90ng, 약 10ng 내지 약 80ng, 약 10ng 내지 약 70ng, 약 10ng 내지 약 60ng, 약 10ng 내지 약 50ng, 약 10ng 내지 약 40ng, 약 10ng 내지 약 30ng, 약 10ng 내지 약 20ng, 약 15ng 내지 약 100ng, 약 15ng 내지 약 90ng, 약 15ng 내지 약 80ng, 약 15ng 내지 약 70ng, 약 15ng 내지 약 60ng, 약 15ng 내지 약 50ng, 약 20ng 내지 약 100ng, 약 20ng 내지 약 90ng, 약 20ng 내지 약 80ng, 약 20ng 내지 약 70ng, 약 20ng 내지 약 60ng, 약 20ng 내지 약 50ng, 약 20ng 내지 약 40ng, 약 20ng 내지 약 30ng, 약 25ng 내지 약 100ng, 약 25ng 내지 약 90ng, 약 25ng 내지 약 80ng, 약 25ng 내지 약 70ng, 약 25ng 내지 약 60ng, 약 25ng 내지 약 50ng, 약 25ng 내지 약 40ng, 약 25ng 내지 약 30ng, 약 30ng 내지 약 100ng, 약 30ng 내지 약 90ng, 약 30ng 내지 약 80ng, 약 30ng 내지 약 70ng, 약 30ng 내지 약 60ng, 약 30ng 내지 약 50ng, 약 30ng 내지 약 40ng, 약 30ng 내지 약 35ng, 약 35ng 내지 약 100ng, 약 35ng 내지 약 90ng, 약 35ng 내지 약 80ng, 약 35ng 내지 약 70ng, 약 35ng 내지 약 60ng, 약 35ng 내지 약 50ng, 약 40ng 내지 약 100ng, 약 40ng 내지 약 90ng, 약 40ng 내지 약 80ng, 약 40ng 내지 약 70ng, 약 40ng 내지 약 60ng, 약 40ng 내지 약 50ng, 약 40ng 내지 약 45ng, 약 50ng 내지 약 100ng, 약 50ng 내지 약 90ng, 약 50ng 내지 약 80ng, 약 50ng 내지 약 70ng, 약 50ng 내지 약 60ng, 약 60ng 내지 약 100ng, 약 60ng 내지 약 90ng, 약 60ng 내지 약 80ng, 약 60ng 내지 약 70ng, 약 70ng 내지 약 100ng, 약 70ng 내지 약 90ng, 약 70ng 내지 약 80ng, 약 80ng 내지 약 100ng, 약 80ng 내지 약 90ng, 또는 90ng 내지 약 100ng)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 약 100ng 이상(예를 들어, 약 100ng 이상, 약 200ng 이상, 약 300ng 이상, 약 400ng 이상, 약 500ng 이상, 약 600ng 이상, 약 700ng 이상, 약 800ng 이상, 약 900ng 이상, 또는 더 초과)이다.

[0244] 임의의 이전의 방법의 몇몇 실시형태에서, 각각 검정에서 평가된 체세포 돌연변이는 약 0.1% 이상, 예를 들어, 약 0.1% 이상, 약 0.2% 이상, 약 0.3% 이상, 약 0.4% 이상, 약 0.5% 이상, 약 0.6% 이상, 약 0.7% 이상, 약 0.8% 이상, 약 0.9% 이상, 약 1.0% 이상, 약 1.1% 이상, 약 1.2% 이상, 약 1.3% 이상, 약 1.4% 이상, 약 1.5% 이상, 약 1.6% 이상, 약 1.7% 이상, 약 1.8% 이상, 약 1.9% 이상, 약 2.0% 이상, 약 2.1% 이상, 약 2.2% 이상, 약 2.3% 이상, 약 2.4% 이상, 약 2.5% 이상, 약 2.6% 이상, 약 2.7% 이상, 약 2.8% 이상, 약 2.9% 이상, 약 3.0% 이상, 약 3.1% 이상, 약 3.2% 이상, 약 3.3% 이상, 약 3.4% 이상, 약 3.5% 이상, 약 3.6% 이상, 약 3.7% 이상, 약 3.8% 이상, 약 3.9% 이상, 약 4.0% 이상, 약 4.1% 이상, 약 4.2% 이상, 약 4.3% 이상, 약 4.4% 이상, 약 4.5% 이상, 약 4.6% 이상, 약 4.7% 이상, 약 4.8% 이상, 약 4.9% 이상, 약 5.0% 이상, 약 6.0% 이상, 약 7.0% 이상, 약 8.0% 이상, 약 9.0% 이상, 약 10.0% 이상, 약 11.0% 이상, 약 12.0% 이상, 약 13.0% 이상, 약 14.0% 이상, 약 15.0% 이상, 약 16.0% 이상, 약 17.0% 이상, 약 18.0% 이상, 약 19.0% 이상, 약 20.0% 이상, 또는 더 초과인 대립유전자 빈도를 갖는다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, 각각 검정에서 평가된 체세포 돌연변이는 0.5% 이상의 대립유전자 빈도를 갖는다. 임의의 적합한 샘플 용적은 임의의 이전의 방법에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 1ml 내지 약 50ml, 예를 들어, 약 1ml, 약 2ml, 약 3ml, 약 4ml, 약 5ml, 약 6ml, 약 7ml, 약 8ml, 약 9ml, 약 10ml, 약 11ml, 약 12ml, 약 13ml, 약 14ml, 약 15ml, 약 16ml, 약 17ml, 약 18ml, 약 19ml, 약 20ml, 약 22ml, 약 24ml, 약 26ml, 약 28ml, 약 30ml, 약 32ml, 약 34ml, 약 36ml, 약 38ml, 약 40ml, 약 42ml, 약 44ml, 약 46ml, 약 48ml 또는 약 50ml의 용적을 가질 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 1ml 내지 약 50ml, 약 1ml 내지 약 40ml, 약 1ml 내지 약 30ml, 약 1ml 내지

약 20ml, 약 1ml 내지 약 10ml, 약 5ml 내지 약 50ml, 약 5ml 내지 약 40ml, 약 5ml 내지 약 30ml, 약 5ml 내지 약 20ml, 약 5ml 내지 약 10ml, 약 6ml 내지 약 50ml, 약 6ml 내지 약 40ml, 약 6ml 내지 약 30ml, 약 6ml 내지 약 20ml, 약 6ml 내지 약 10ml, 약 7ml 내지 약 50ml, 약 7ml 내지 약 40ml, 약 7ml 내지 약 30ml, 약 7ml 내지 약 20ml, 약 7ml 내지 약 10ml, 약 8ml 내지 약 50ml, 약 8ml 내지 약 40ml, 약 8ml 내지 약 30ml, 약 8ml 내지 약 20ml, 약 8ml 내지 약 10ml, 약 9ml 내지 약 50ml, 약 9ml 내지 약 40ml, 약 9ml 내지 약 30ml, 약 9ml 내지 약 20ml, 약 9ml 내지 약 10ml, 약 5ml 내지 약 15ml, 약 5ml 내지 약 14ml, 약 5ml 내지 약 13ml, 약 5ml 내지 약 12ml, 약 5ml 내지 약 11ml, 약 6ml 내지 약 15ml, 약 6ml 내지 약 14ml, 약 6ml 내지 약 13ml, 약 6ml 내지 약 12ml, 약 6ml 내지 약 11ml, 약 7ml 내지 약 15ml, 약 7ml 내지 약 14ml, 약 7ml 내지 약 13ml, 약 7ml 내지 약 12ml, 약 7ml 내지 약 11ml, 약 8ml 내지 약 15ml, 약 8ml 내지 약 14ml, 약 8ml 내지 약 13ml, 약 8ml 내지 약 12ml, 약 8ml 내지 약 11ml, 약 9ml 내지 약 15ml, 약 9ml 내지 약 14ml, 약 9ml 내지 약 13ml, 약 9ml 내지 약 12ml 또는 약 9ml 내지 약 11ml의 용적을 가질 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 10ml의 용적을 갖는다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 혈장 샘플은 10ml의 용적을 갖는다. 결정 단계는 MSAF를 도출하도록 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 대립유전자(즉, 체세포 돌연변이(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인텔 돌연변이)를 갖는 유전자의 변이체)의 가장 높은 상대 빈도를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 다음에 가장 흔히 발생하는 돌연변이에 대한 체세포 대립유전자 빈도는 또한 개체로부터의 샘플로부터 결정될 수 있다. 몇몇 경우에, 체세포 대립유전자 빈도는 개체로부터의 샘플로부터 검출된 각각의 돌연변이에 대해 결정된다. 몇몇 경우에, 다수의 체세포 돌연변이를 갖는 샘플은, 아마도 암(예를 들어, 종양)에서의 이의 원래의 클론 빈도에 따라, 체세포 대립유전자 빈도의 분포로서 이 돌연변이를 제시할 것이다. 몇몇 경우에, 40% 초과(예를 들어, 40% 초과, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 100%)의 체세포 대립유전자 빈도는 버려지고, 40% 미만(예를 들어, 40% 이하)의 다음에 가장 높은 체세포 대립유전자 빈도를 갖는 변이체는 샘플에 대해 MSAF인 것으로 결정된다. 몇몇 경우에, MSAF는 샘플에서 20% 미만인 가장 큰 체세포 대립유전자 빈도로부터 계산된다. 생식선 돌연변이는 약 50% 내지 약 100%인 체세포 대립유전자 빈도 분포를 갖는 것으로 발견되었다.

[0245] 임의의 이전의 경우에, 개체는, 예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤향막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 용모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핑지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양으로부터 선택된 암을 가질 수 있다.

[0246] 몇몇 경우에, 개체는 암에 대해 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)을 갖는 치료 이후에 진행한다. 다른 경우에, 개체는 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료에 부적격일 수 있고/있거나, 암에 대한 이전의 치료를 받지 않았다. 몇몇 경우에, 개체는 면역관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 측 결합 길항제에 의한 이전의 치료를 받지 않았다.

[0247] 임의의 이전의 방법에서, 환자로부터 얻은 샘플(예를 들어, 혈액 샘플)은 전혈, 혈장, 혈청, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에, 샘플은 보관소 혈액 샘플, 새로운 혈액 샘플, 또는 동결된

혈액 샘플이다.

[0248] 임의의 이전의 경우에, 기준 bTMB 점수는 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 군상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장 암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핍지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)을 갖는 개체의 기준 집단에서의 bTMB 점수일 수 있고, 개체의 집단은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단, 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 여기서 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에서의 유의차에 기초하여 개체의 각각의 제1 하위집단 및 제2 하위집단을 유의미하게 분리시킨다. 몇몇 경우에, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존율(PFS)의 증가 및/또는 전체 생존율(OS)의 증가이다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 예비배정된 bTMB 점수일 수 있다. 기준 bTMB 점수는 4 내지 30(예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30, 예를 들어, 8 내지 30, 예를 들어, 10 내지 16, 또는, 예를 들어, 10 내지 20)일 수 있다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 10 내지 20(예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 다른 경우에, 기준 bTMB 점수는 16 내지 20(예를 들어, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 14 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 16 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 18 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종) 및 16 이상의 점수의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 20 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 21 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 22 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 23 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 24 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 25 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다.

[0249] 임의의 이전의 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 이상(예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 또는 초과)일 수 있다. 예를 들어, 샘플로부터의 bTMB 점수는 약 8 내지 약 100(예를 들어, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 및 100)일 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 약 400 내지 약 1500(예를 들어, 약 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 또는 1500의 bTMB 점수)일 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 4 미만(예를 들어, 0, 1, 2 또는 3)이거나, 검출 불가능할 수 있다.

[0250] 임의의 이전의 경우의 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준

bTMB 점수)는, 예를 들어, 전장 엑스 서열분석에 의해 결정된 바와 같이 동등 bTMB 값이다.

[0251] 몇몇 경우에, 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수는 기준 집단에서 약 5% 이상의 유병률, 예를 들어, 약 5% 내지 약 75%의 유병률(예를 들어, 약 5% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 60% 또는 약 60% 내지 75%; 예를 들어, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% 또는 75%의 유병률)을 가질 수 있다.

[0252] 몇몇 경우에, 기준 컷오프 bTMB 점수 이상인 bTMB 점수의 유병률은 기준 집단에서 약 5%, 예를 들어, 약 5% 내지 약 75%의 유병률(예를 들어, 약 5% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 45%, 약 45% 내지 약 60% 또는 약 60% 내지 75%; 예를 들어, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% 또는 75%의 유병률)이다.

[0253] 몇몇 경우에, 게놈 또는 엑스미의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑스미 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 30% 미만(예를 들어, 약 30% 미만, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 또는 미만만큼 벗어난다. 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑스미의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑스미 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 1% 내지 약 30%(예를 들어, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 25%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 15%, 약 5% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 30%, 약 10% 내지 약 25%, 약 10% 내지 약 20%, 약 10% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 30%, 약 15% 내지 약 25%, 약 15% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 30% 또는 약 20% 내지 약 25%)만큼 벗어난다. 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑스미의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑스미 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 10% 내지 약 20%(예를 들어, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19% 또는 약 20%)만큼 벗어난다.

[0254] 여기서 제공된 임의의 방법에서, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터의 이익은 OS의 증가, PFS의 증가, 또는 OS 및 PFS의 증가일 수 있다.

[0255] 임의의 이전의 방법에서, PD-L1 축 결합 길항제는 당해 분야에 공지되거나 본 명세서에, 예를 들어, 하기에 부문 IV에 기재된 임의의 PD-L1 축 결합 길항제일 수 있다.

[0256] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 보고서, 예를 들어, 전자, 웹 기반 또는 종이 보고서를 환자에게 또는 또 다른 사람 또는 집합체, 보호자, 의사, 종양학자, 병원, 클리닉, 제3자 지불인, 보험 회사, 제약 또는 생명공학 회사, 또는 관공서에 생성하는 것을 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 보고서는 bTMB 점수의 평가를 포함하는 방법으로부터의 출력을 포함한다.

[0257] B. 치료학적 방법

[0258] 본 발명은 암을 앓는 개체를 치료하는 방법을 추가로 제공하고, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 결정하는 단계(여기서 샘플로부터의 bTMB 점수는 기준 bTMB 점수(예를 들어, 기준 집단에서의 bTMB 점수, 예를 들어, 약 4 내지 약 30의 기준 bTMB 점수, 예를 들어, 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30의 기준 bTMB 점수)이거나 이보다 높음), 및 유효량의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙(MPD3280A)), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의

이들의 조합을 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 10 내지 20(예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 다른 경우에, 기준 bTMB 점수는 16 내지 20(예를 들어, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 몇몇 경우에, 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수는 기준 bTMB 점수(예를 들어, 약 4 내지 약 30의 기준 bTMB 점수, 예를 들어, 약 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30의 기준 bTMB 점수)보다 낮고, 상기 방법은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합이 아니거나 이것 이외의 항암 치료제를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 경우에, 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수는 약 8 내지 약 100(예를 들어, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100)이다.

[0259] 특정한 경우에, 본 명세서에 제공된 방법 및 검정법은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함할 수 있는 항암 치료제의 치료학적 효율을 최적화하도록 사용될 수 있고, 상기 방법은 항암 치료제에 의한 치료 동안에(예를 들어, 치료 기간에 걸쳐) 기준 bTMB 점수에 관한 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 모니터링하는 단계를 포함한다. 모니터링은, 예를 들어, 항암 치료제의 투여 전에 및/또는 후에 시간 간격에 수집된 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 얻고 비교하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 경우에, bTMB 점수는 항암 치료제의 투여 전에 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24시간; 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일; 약 1, 2, 3, 또는 4주; 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월에 수집된 개체로부터의 샘플로부터 얻어질 수 있다. 몇몇 경우에, bTMB 점수는 항암 치료제의 투여 후에 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24시간; 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7일; 약 1, 2, 3, 또는 4주; 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월에 수집된 개체로부터의 샘플로부터 얻어질 수 있다. 항암 치료제의 투여 전에 및/또는 후에 수집된 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수는 비교될 수 있고, 여기서 치료 후 수집된 샘플로부터의 bTMB 점수에 비해 치료 전 수집된 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수의 증가는 투여되는 항암 치료제의 치료학적 효율의 낮은 수준을 나타낼 수 있고, 치료 후 수집된 샘플로부터의 bTMB 점수에 비해 치료 전 수집된 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수의 감소는 투여된 항암 치료제의 치료학적 효율을 나타낼 수 있다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 항암 치료제에 의한 치료 전에 개체로부터 얻어질 수 있다. 몇몇 경우에, 상기 방법은 항암 치료제에 의한 치료 동안에(예를 들어, 치료 기간에 걸쳐) 치료전 bTMB 점수에 관한 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 모니터링하는 것을 포함한다.

[0260] 결정 단계는 bTMB 점수를 도출하도록 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터 단리된 무세포 DNA(cfDNA) 및/또는 순환 종양 DNA(ctDNA)에서의 체세포 돌연변이의 수를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 적어도 약 5ng(예를 들어, 적어도 약 5ng, 적어도 약 10ng, 적어도 약 15ng, 적어도 약 20ng, 적어도 약 25ng, 적어도 약 30ng, 적어도 약 35ng, 적어도 약 40ng, 적어도 약 45ng, 적어도 약 50ng, 적어도 약 75ng, 적어도 약 100ng, 적어도 약 200ng, 적어도 약 300ng, 적어도 약 400ng, 또는 초과)이다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 적어도 약 20ng의 cfDNA이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은, 예를 들어, 약 5ng 내지 약 100ng(예를 들어, 약 5ng 내지 약 100ng, 약 5ng 내지 약 90ng, 약 5ng 내지 약 80ng, 약 5ng 내지 약 70ng, 약 5ng 내지 약 60ng, 약 5ng 내지 약 50ng, 약 5ng 내지 약 40ng, 약 5ng 내지 약 30ng, 약 5ng 내지 약 20ng, 약 5ng 내지 약 15ng, 약 5ng 내지 약 10ng, 약 10ng 내지 약 100ng, 약 10ng 내지 약 90ng, 약 10ng 내지 약 80ng, 약 10ng 내지 약 70ng, 약 10ng 내지 약 60ng, 약 10ng 내지 약 50ng, 약 10ng 내지 약 40ng, 약 10ng 내지 약 30ng, 약 10ng 내지 약 20ng, 약 15ng 내지 약 100ng, 약 15ng 내지 약 90ng, 약 15ng 내지 약 80ng, 약 15ng 내지 약 70ng, 약 15ng 내지 약 60ng, 약 15ng 내지 약 50ng, 약 20ng 내지 약 100ng, 약 20ng 내지 약 90ng, 약 20ng 내지 약 80ng, 약 20ng 내지 약 70ng, 약 20ng 내지 약 60ng, 약 20ng 내지 약 50ng, 약 20ng 내지 약 40ng, 약 20ng 내지 약 30ng, 약 25ng 내지 약 100ng, 약 25ng 내지 약 90ng, 약 25ng 내지 약 80ng, 약 25ng 내지 약 70ng, 약 25ng 내지 약 60ng, 약 25ng 내지 약 50ng, 약 25ng 내지 약 40ng, 약 25ng 내지 약 30ng, 약 30ng 내지 약 100ng, 약 30ng 내지 약 90ng, 약 30ng 내지 약 80ng, 약 30ng 내지 약 70ng, 약 30ng 내지 약 60ng, 약 30ng 내지 약 50ng, 약 30ng 내지 약 40ng, 약 30ng 내지 약 35ng, 약 35ng 내지 약 100ng, 약 35ng 내지 약 90ng, 약 35ng 내지 약 80ng, 약 35ng 내지 약 70ng, 약 35ng 내지 약 60ng, 약 35ng 내지 약 50ng, 약 35ng 내지 약 40ng, 약 40ng 내지 약 100ng, 약 40ng 내지 약 90ng, 약 40ng

내지 약 80ng, 약 40ng 내지 약 70ng, 약 40ng 내지 약 60ng, 약 40ng 내지 약 50ng, 약 40ng 내지 약 45ng, 약 50ng 내지 약 100ng, 약 50ng 내지 약 90ng, 약 50ng 내지 약 80ng, 약 50ng 내지 약 70ng, 약 50ng 내지 약 60ng, 약 60ng 내지 약 100ng, 약 60ng 내지 약 90ng, 약 60ng 내지 약 80ng, 약 60ng 내지 약 70ng, 약 70ng 내지 약 100ng, 약 70ng 내지 약 90ng, 약 70ng 내지 약 80ng, 약 80ng 내지 약 100ng, 약 80ng 내지 약 90ng, 또는 90ng 내지 약 100ng)이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플로부터 단리된 cfDNA의 양은 약 100ng 이상(예를 들어, 약 100ng 이상, 약 200ng 이상, 약 300ng 이상, 약 400ng 이상, 약 500ng 이상, 약 600ng 이상, 약 700ng 이상, 약 800ng 이상, 약 900ng 이상, 또는 더 초과)이다.

[0261] 임의의 적합한 샘플 용적은 임의의 이전의 방법에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 1ml 내지 약 50ml, 예를 들어, 약 1ml, 약 2ml, 약 3ml, 약 4ml, 약 5ml, 약 6ml, 약 7ml, 약 8ml, 약 9ml, 약 10ml, 약 11ml, 약 12ml, 약 13ml, 약 14ml, 약 15ml, 약 16ml, 약 17ml, 약 18ml, 약 19ml, 약 20ml, 약 22ml, 약 24ml, 약 26ml, 약 28ml, 약 30ml, 약 32ml, 약 34ml, 약 36ml, 약 38ml, 약 40ml, 약 42ml, 약 44ml, 약 46ml, 약 48ml 또는 약 50ml의 용적을 가질 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 1ml 내지 약 50ml, 약 1ml 내지 약 40ml, 약 1ml 내지 약 30ml, 약 1ml 내지 약 20ml, 약 1ml 내지 약 10ml, 약 5ml 내지 약 50ml, 약 5ml 내지 약 40ml, 약 5ml 내지 약 30ml, 약 5ml 내지 약 20ml, 약 5ml 내지 약 10ml, 약 6ml 내지 약 50ml, 약 6ml 내지 약 40ml, 약 6ml 내지 약 30ml, 약 6ml 내지 약 20ml, 약 6ml 내지 약 10ml, 약 7ml 내지 약 50ml, 약 7ml 내지 약 40ml, 약 7ml 내지 약 30ml, 약 7ml 내지 약 20ml, 약 7ml 내지 약 10ml, 약 8ml 내지 약 50ml, 약 8ml 내지 약 40ml, 약 8ml 내지 약 30ml, 약 8ml 내지 약 20ml, 약 8ml 내지 약 10ml, 약 9ml 내지 약 50ml, 약 9ml 내지 약 40ml, 약 9ml 내지 약 30ml, 약 9ml 내지 약 20ml, 약 9ml 내지 약 10ml, 약 5ml 내지 약 15ml, 약 5ml 내지 약 14ml, 약 5ml 내지 약 13ml, 약 5ml 내지 약 12ml, 약 5ml 내지 약 11ml, 약 6ml 내지 약 15ml, 약 6ml 내지 약 14ml, 약 6ml 내지 약 13ml, 약 6ml 내지 약 12ml, 약 6ml 내지 약 11ml, 약 7ml 내지 약 15ml, 약 7ml 내지 약 14ml, 약 7ml 내지 약 13ml, 약 7ml 내지 약 12ml, 약 7ml 내지 약 11ml, 약 8ml 내지 약 15ml, 약 8ml 내지 약 14ml, 약 8ml 내지 약 13ml, 약 8ml 내지 약 12ml, 약 8ml 내지 약 11ml, 약 9ml 내지 약 15ml, 약 9ml 내지 약 14ml, 약 9ml 내지 약 13ml, 약 9ml 내지 약 12ml 또는 약 9ml 내지 약 11ml의 용적을 가질 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)은 약 10ml의 용적을 갖는다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 혈장 샘플은 10ml의 용적을 갖는다.

[0262] 임의의 이전의 방법의 몇몇 실시형태에서, 각각 검정에서 평가된 체세포 돌연변이는 약 0.1% 이상, 예를 들어, 약 0.1% 이상, 약 0.2% 이상, 약 0.3% 이상, 약 0.4% 이상, 약 0.5% 이상, 약 0.6% 이상, 약 0.7% 이상, 약 0.8% 이상, 약 0.9% 이상, 약 1.0% 이상, 약 1.1% 이상, 약 1.2% 이상, 약 1.3% 이상, 약 1.4% 이상, 약 1.5% 이상, 약 1.6% 이상, 약 1.7% 이상, 약 1.8% 이상, 약 1.9% 이상, 약 2.0% 이상, 약 2.1% 이상, 약 2.2% 이상, 약 2.3% 이상, 약 2.4% 이상, 약 2.5% 이상, 약 2.6% 이상, 약 2.7% 이상, 약 2.8% 이상, 약 2.9% 이상, 약 3.0% 이상, 약 3.1% 이상, 약 3.2% 이상, 약 3.3% 이상, 약 3.4% 이상, 약 3.5% 이상, 약 3.6% 이상, 약 3.7% 이상, 약 3.8% 이상, 약 3.9% 이상, 약 4.0% 이상, 약 4.1% 이상, 약 4.2% 이상, 약 4.3% 이상, 약 4.4% 이상, 약 4.5% 이상, 약 4.6% 이상, 약 4.7% 이상, 약 4.8% 이상, 약 4.9% 이상, 약 5.0% 이상, 약 6.0% 이상, 약 7.0% 이상, 약 8.0% 이상, 약 9.0% 이상, 약 10.0% 이상, 약 11.0% 이상, 약 12.0% 이상, 약 13.0% 이상, 약 14.0% 이상, 약 15.0% 이상, 약 16.0% 이상, 약 17.0% 이상, 약 18.0% 이상, 약 19.0% 이상, 약 20.0% 이상, 또는 더 초과인 대립유전자 빈도를 갖는다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, 각각 검정에서 평가된 체세포 돌연변이는 0.5% 이상의 대립유전자 빈도를 갖는다. 개체로부터의 샘플로부터 결정된 bTMB 점수가 기준 bTMB 점수이거나 이를 초과하는, 본 명세서에 기재된 임의의 방법의 몇몇 경우에, 상기 방법은 유효량의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 개체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 경우에, 개체로부터의 샘플로부터 결정된 bTMB 점수는 기준 bTMB 점수보다 낮다. 몇몇 경우에, 상기 방법은 개체로부터의 샘플로부터 MSAF를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 MSAF는 1% 이상(예를 들어, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상 또는 10% 이상)이다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 MSAF는 1% 미만(예를 들어, 1% 미만, 0.9% 이하, 0.8% 이하, 0.7% 이하, 0.6% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하 또는 0.1% 이하)이다. MSAF는 bTMB 점수의 결정 전에, 동시에 또는 후에 결정될 수 있다.

[0263] 예를 들어, 1% 이상(예를 들어, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상 또는 10% 이상)인 기준 bTMB 점수 및 MSAF에서의 또는 이보다 큰 bTMB 점수는 개체로부터의 샘플로부터

결정될 때, 상기 방법은 유효량의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙)를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 1% 미만(예를 들어, 1% 미만, 0.9% 이하, 0.8% 이하, 0.7% 이하, 0.6% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하 또는 0.1% 이하)인 기준 bTMB 점수 및 MSAF에서의 또는 이보다 큰 bTMB 점수는 개체로부터의 샘플로부터 결정될 때, 상기 방법은 유효량의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙)를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 유사하게, 1% 미만(예를 들어, 1% 미만, 0.9% 이하, 0.8% 이하, 0.7% 이하, 0.6% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하 또는 0.1% 이하)인 기준 bTMB 점수 및 MSAF보다 낮은 bTMB 점수가 개체로부터의 샘플로부터 결정될 때, 상기 방법은 유효량의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙)를 개체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 그러나, 1% 이상(예를 들어, 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 4% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상 또는 10% 이상)인 기준 bTMB 점수 및 MSAF보다 낮은 bTMB 점수가 개체로부터의 샘플로부터 결정될 때, 상기 방법은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙)가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제의 유효량을 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의의 이전의 경우에, 암은, 예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤향막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 용모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핏지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구성증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양일 수 있다. 몇몇 경우에, 폐암은 국소 진행성 또는 전이성(예를 들어, IIIB 단계, IV 단계 또는 재발성) NSCLC(이들로 제한되지는 않음)를 포함하는 NSCLC일 수 있다. 몇몇 경우에, 폐암(예를 들어, NSCLC)은 절제 불가능한/수술 불가능한 폐암(예를 들어, NSCLC)이다. 다른 경우에, 폐암(예를 들어, NSCLC)은 이전의 백금 함유 요법에 의한 치료 동안에 또는 후에 진행될 수 있다.

[0264] 몇몇 경우에, 개체는 암에 대한 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료 이후에 진행한다. 다른 경우에, 개체는 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)에 의해 치료에 부적격일 수 있고/이거나, 암에 대한 이전의 치료를 받지 않았다. 몇몇 경우에, 개체는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제에 의한 이전의 치료를 받지 않았다.

[0265] 임의의 이전의 방법에서, 환자로부터 얻은 샘플(예를 들어, 혈액 샘플)은 전혈, 혈장, 혈청, 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에, 샘플은 보관소 혈액 샘플, 새로운 혈액 샘플, 또는 동결된 혈액 샘플이다. 결정 단계는 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수를 도출하도록 유전자의 미리 결정된 세트에서 생기는 체세포 돌연변이의 전체 수(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인델 돌연변이)를 결정하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이의 수는 계수된 SNV의 수 또는 SNV의 수와 계수된 인델 돌연변이의 수의 합이다.

[0266] 임의의 이전의 경우에, 기준 bTMB 점수는 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종, 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병, 림프종, 골수종, 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양)을 갖는 개체의 기준 집단에서 bTMB 점

수일 수 있고, 개체의 집단은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단, 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 여기서 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에서의 유의차에 기초하여 개체의 각각의 제1 하위집단 및 제2 하위집단을 유의미하게 분리시킨다. 몇몇 경우에, 치료에 대한 반응성은 무진행 생존율(PFS)의 증가 및/또는 전체 생존율(OS)의 증가이다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 예비배정된 bTMB 점수일 수 있다. 기준 bTMB 점수는 8 내지 30(예를 들어, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 및 30)일 수 있다. 몇몇 경우에, 기준 bTMB 점수는 10 내지 20(예를 들어, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 다른 경우에, 기준 bTMB 점수는 16 내지 20(예를 들어, 16, 17, 18, 19 또는 20)일 수 있다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 14 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 16 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종) 및 18 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종) 및 16 이상의 점수의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 20 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 21 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 22 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 23 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 24 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 개체의 기준 집단은 흑색종 및 25 이상의 기준 bTMB 점수를 갖는다.

[0267] 임의의 이전의 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 이상(예를 들어, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 또는 초과)일 수 있다. 예를 들어, 샘플로부터의 bTMB 점수는 약 8 내지 약 100(예를 들어, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 및 100)일 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 약 400 내지 약 1500(예를 들어, 약 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 또는 1500의 bTMB 점수)일 수 있다. 몇몇 경우에, 샘플로부터의 bTMB 점수는 8 미만(예를 들어, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7)이거나, 검출 불가능할 수 있다.

[0268] 임의의 이전의 경우의 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, bTMB 점수(예를 들어, 기준 bTMB 점수)는, 예를 들어, 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 바와 같이 동등 bTMB 값이다.

[0269] 몇몇 경우에, 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수는 기준 집단에서 약 5% 이상의 유병률, 예를 들어, 약 5% 내지 약 75%(예를 들어, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% 또는 75%)의 유병률을 가질 수 있다.

[0270] 몇몇 경우에, 기준 컷오프 bTMB 점수 이상인 bTMB 점수의 유병률은 기준 집단에서 약 5%, 예를 들어, 약 5% 내지 약 75%의 유병률(예를 들어, 약 5% 내지 약 15%, 약 15% 및 약 30%, 약 30% 및 약 45%, 약 45% 및 약 60% 또는 약 60% 및 75%; 예를 들어, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74% 또는 75%의 유병률)이다.

[0271] 임의의 이전의 경우의 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑솜의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑솜 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 30% 미만(예를 들어, 약 30% 미만, 약 25%, 약 20%, 약 15%, 약 10%, 약 5%, 약 4%, 약 3%, 약 2%, 약 1%, 또는 미만만큼 벗어난다. 몇몇 실시형태에서, 게놈 또는 엑솜의 하위 집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌

연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑스 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 1% 내지 약 30%(예를 들어, 약 1% 내지 약 30%, 약 1% 내지 약 25%, 약 1% 내지 약 20%, 약 1% 내지 약 15%, 약 1% 내지 약 10%, 약 5% 내지 약 30%, 약 5% 내지 약 25%, 약 5% 내지 약 20%, 약 5% 내지 약 15%, 약 5% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 30%, 약 10% 내지 약 25%, 약 10% 내지 약 20%, 약 10% 내지 약 15%, 약 15% 내지 약 30%, 약 15% 내지 약 25%, 약 15% 내지 약 20%, 약 20% 내지 약 30% 또는 약 20% 내지 약 25%)만큼 벗어난다. 몇몇 실시형태에서, 계놈 또는 엑스의 하위집단(예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트)에서 서열분석된 염기의 한정된 수(예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 예를 들어, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb))에 걸쳐 계수된 체세포 돌연변이의 수로 결정된 bTMB 점수는 전장 엑스 서열분석에 의해 결정된 bTMB 점수로부터 약 10% 내지 약 20%(예를 들어, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19% 또는 약 20%)만큼 벗어난다.

[0272] 여기에 제공된 임의의 방법에서, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터의 이익은 OS의 증가, PFS의 증가, 또는 OS 및 PFS의 증가일 수 있다.

[0273] 임의의 이전의 방법에서, PD-L1 축 결합 길항제는 당해 분야에 공지되거나 본 명세서에, 예를 들어, 하기에 부문 IV에 기재된 임의의 PD-L1 축 결합 길항제일 수 있다.

[0274] 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제, PD-1 결합 길항제 및 PD-L2 결합 길항제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-L1 결합 길항제이다. 몇몇 경우에, PD-L1 결합 길항제는 리간드 결합 파트너 중 하나 이상에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 다른 경우에, PD-L1 결합 길항제는 PD-1에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 더 다른 경우에, PD-L1 결합 길항제는 B7-1에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 몇몇 경우에, PD-L1 결합 길항제는 PD-1 및 B7-1 둘 다에 대한 PD-L1의 결합을 저해한다. 몇몇 경우에, PD-L1 결합 길항제는 항체이다. 몇몇 경우에, 항체는 MPDL3280A(아테졸리주맵), YW243.55.S70, MDX-1105, MEDI4736(더블루맵) 및 MSB0010718C(아벨루맵)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에, 항체는 서열번호 19의 HVR-H1 서열, 서열번호 20의 HVR-H2 서열 및 서열번호 21의 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 22의 HVR-L1 서열, 서열번호 23의 HVR-L2 서열 및 서열번호 24의 HVR-L3 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 몇몇 경우에, 항체는 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0275] 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제이다. 예를 들어, 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는 리간드 결합 파트너 중 하나 이상에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는 PD-L1에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 다른 경우에, PD-1 결합 길항제는 PD-L2에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 더 다른 경우에, PD-1 결합 길항제는 PD-L1 및 PD-L2 둘 다에 대한 PD-1의 결합을 저해한다. 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는 항체이다. 몇몇 경우에, 항체는 MDX 1106(니볼루맵), MK-3475(렘브롤리주맵), CT-011(피딜리주맵), MEDI-0680(AMP-514), PDR001, REGN2810 및 BGB-108로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는 Fc-융합 단백질이다. 예를 들어, 몇몇 경우에, Fc-융합 단백질은 AMP-224이다.

[0276] 추가의 양상에서, 본 발명은 약제의 제조 또는 조제에서의 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제의 용도를 제공한다. 일 경우에, 약제는 암의 치료를 위한 것이다. 추가의 경우에, 약제는 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 유헤락종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핍지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투

세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)을 앓는 개체에게 유효량의 약제를 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 것이다. 하나의 이러한 경우에, 상기 방법은, 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 추가 치료제의 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 더 포함한다.

[0277] 본 명세서에 기재된 방법에서 사용된 조성물(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제)은 크림에서 또는 지질 조성물에서, 예를 들어, 정맥내로, 근육내로, 피하로, 진피내로, 경피로, 동맥내로, 복강내로, 병변내로, 두개내로, 관절내로, 전립선내로, 흉강내로, 기관내로, 척추강내로, 비강내로, 질내로, 직장내로, 국소로, 종양내로, 복막으로, 결막하로, 소포내로, 점막으로, 심낭내로, 탭줄내로, 눈내로, 안내로, 경구로, 국소로, 진피경유로, 유리체내로(예를 들어, 유리체내 주사에 의해), 점안에 의한, 흡입에 의한, 주사에 의한, 이식에 의한, 주입에 의한, 연속 주입에 의한, 직접적으로 국소 점적주사 배생 표적 세포에 의한, 카테터에 의한, 세척에 의한 것을 포함하는 임의의 적합한 방법에 의해 투여될 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법에서 사용된 조성물은 또한 전신으로 또는 국소로 투여될 수 있다. 투여의 방법은 다양한 인자(예를 들어, 투여되는 화합물 또는 조성물 및 치료되는 병태, 질환, 또는 장애의 중증도)에 따라 변할 수 있다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 정맥내로, 근육내로, 피하로, 국소로, 경구로, 진피내로, 복강내로, 안내로, 이식에 의해, 흡입에 의해, 척추강내로, 심실내로 또는 비강내로 투여된다. 투약은, 부분적으로 투여가 잠간인지 또는 만성인지에 따라, 임의의 적합한 경로, 예를 들어, 주사, 예컨대, 정맥내 또는 피하 주사에 의할 수 있다. 다양한 시점에 걸친 단일 또는 다중 투여, 볼루스 투여 및 펄스 주입(이들로 제한되지는 않음)을 포함하는 다양한 투약 스케줄은 본 명세서에 고려된다.

[0278] 본 명세서에 기재된 PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항체, 결합 폴리펩타이드, 및/또는 소분자)(임의의 추가 치료제)는 양호한 의학 실행과 일치하는 방식으로 제형화되고 투약되고 투여될 수 있다. 이 맥락에서 고려사항을 위한 인자는 치료되는 특정한 장애, 치료되는 특정한 포유류, 개체 환자의 임상 병태, 장애의 원인, 물질의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄, 및 의학 실행자에게 공지된 다른 인자를 포함한다. PD-L1 축 결합 길항제는 해당 장애를 예방하거나 치료하기 위해 현재 사용되는 하나 이상의 물질과 동시에 선택적으로 제형화되고/되거나 투여될 필요는 없지만 그러하다. 유효량의 이러한 다른 물질은 제형에 존재하는 PD-L1 축 결합 길항제의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기에 기재된 다른 인자에 따라 달라진다. 이들은 본 명세서에 기재된 바와 같은 동일한 투약량에서 및 투여 경로로, 또는 본 명세서에 기재된 투약량의 약 1 내지 99%로, 또는 경험적으로/임상적으로 적절하다고 결정된 임의의 투약량에서 및 임의의 경로로 일반적으로 사용된다.

[0279] 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조종의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핏피교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)의 예방 또는 치료를 위해, (단독으로 또는 하나 이상의 다른 추가 치료제와 조합되어 사용될 때) 본 명세서에 기재된 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합의 적절한 투약량은 치료되는 질환의 유형, 질환의 중증도 및 과정, PD-L1 축 결합 길항제가 예방학적 또는 치료학적 목적을 위해 투여되는지, 이전의 치료, 환자의 임상 병력 및 PD-L1 축 결합 길항제에 대한 반응 및 주치의의 재량에 따라 달라질 것이다. PD-L1 축 결합 길항제는 한번에 또

는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적합하게 투여된다. 하나의 전형적인 일일 투약량은 상기에 언급된 인자에 따라 약 1 μ g/kg 내지 100mg/kg 이상의 범위일 것이다. 몇일에 걸친 또는 더 긴 반복 투여에 대해, 병태에 따라, 질환 증상의 원하는 역제가 발생할 때까지 치료는 일반적으로 지속될 것이다. 이러한 용량은 간헐적으로, 예를 들어, 매주 또는 3주마다 투여될 수 있다(예를 들어, 그래서 환자는 PD-L1 축 결합 길항제, 예를 들어, 약 2개 내지 약 20개, 또는 예를 들어, 약 6개의 용량을 받음). 초기 더 높은 로딩 용량, 이어서 하나 이상의 더 낮은 용량은 투여될 수 있다. 그러나, 다른 투약량 요법은 유용할 수 있다. 이 치료의 진행은 관습적인 기법 및 검정에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0280] 예를 들어, 일반적인 제안으로서, 인간에게 투여되는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 항체, 항-CTLA-4 항체, 항-TIM-3 항체 또는 항-LAG-3 항체의 치료학적 유효량은, 1회 이상의 투여이든, 약 0.01 내지 약 50mg/kg의 환자 체중의 범위일 것이다. 몇몇 경우에, 사용된 항체는, 예를 들어, 매일, 매주, 2주마다, 3주마다 또는 개월마다 투여되는 약 0.01mg/kg 내지 약 45mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 40mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 35mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 30mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 25mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 20mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 15mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 10mg/kg, 약 0.01mg/kg 내지 약 5mg/kg, 또는 약 0.01mg/kg 내지 약 1mg/kg이다. 몇몇 경우에, 항체는 15mg/kg으로 투여된다. 그러나, 다른 투약량 요법은 유용할 수 있다. 일 경우에, 본 명세서에 기재된 항-PD-L1 항체는 21일 주기의 1일에(3주마다, q3w) 약 100mg, 약 200mg, 약 300mg, 약 400mg, 약 500mg, 약 600mg, 약 700mg, 약 800mg, 약 900mg, 약 1000mg, 약 1100mg, 약 1200mg, 약 1300mg, 약 1400mg, 약 1500mg, 약 1600mg, 약 1700mg 또는 약 1800mg의 용량으로 인간에게 투여된다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체 MPDL3280A는 3주마다(q3w) 정맥내로 1200mg이 투여된다. 용량은 단일 용량 또는 다중 용량(예를 들어, 2 또는 3 용량), 예컨대, 주입으로 투여될 수 있다. 조합 치료에서 투여되는 항체의 용량은 단일 치료와 비교하여 감소될 수 있다. 이 치료의 진행은 관습적인 기법에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0281] 몇몇 경우에, 상기 방법은 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료, 또는 세포독성제)가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0282] 몇몇 경우에, 상기 방법은 유효량의 추가 치료제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 수반한다. 몇몇 경우에, 추가 치료제는 항종양제, 화학치료제, 성장 저해 물질, 항혈관신생 물질, 방사선 치료, 세포독성제 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 화학요법 또는 화학치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 방사선 치료 물질과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 표적화된 치료 또는 표적화된 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 면역요법 또는 면역치료제, 예를 들어, 단일클론 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 추가 치료제는 동시자극 분자에 지향된 효능제이다. 몇몇 경우에, 추가 치료제는 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제이다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 단일치료로서 투여된다.

[0283] 상기에 기재된 이러한 조합 치료는 조합된 투여(여기서, 2개 이상의 치료제는 동일한 또는 별개의 제형에 포함됨), 및 별개의 투여(이 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제의 투여는 추가 치료제 또는 물질의 투여 전에, 동시에, 및/또는 후에 발생할 수 있음)를 포함한다. 일 경우에, PD-L1 축 결합 길항제의 투여 및 추가 치료제의 투여는 서로의 약 1개월 내에 또는 약 1주, 2주 또는 3주 내에 또는 약 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 또는 6일 내에 발생한다.

[0284] 이론에 구속되고자 함이 없이, 동시자극 분자의 촉진 또는 동시저해 분자의 저해에 의한 T 세포 자극의 증대가 종양 세포사를 촉진하여서 암을 치료하거나 이의 진행을 지연시키는 것으로 생각된다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 동시자극 분자에 지향된 효능제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 동시자극 분자는 CD40, CD226, CD28, OX40, GITR, CD137, CD27, HVEM 또는 CD127을 포함할 수 있다. 몇몇 경우에, 동시자극 분자에 지향된 효능제는 CD40, CD226, CD28, OX40, GITR, CD137, CD27, HVEM 또는 CD127에 결합하는 효능제 항체이다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 동시저해 분자는 CTLA-4(CD152로도 공지됨), TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO, TIGIT, MICA/B, 또는 아르기나제를 포함할 수 있다. 몇몇 경우에, 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제는 CTLA-4, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, B7-H3, B7-H4, IDO, TIGIT, MICA/B 또는 아르기나제에 결합하는 길항제 항체이다.

[0285] 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 CTLA-4에 지향된 길항제(CD152로도 공지됨), 예를 들어, 차단 항체와 함

게 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 이필리무맵(MDX-010, MDX-101 또는 YERVOY(등록상표)로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 트레멜리무맵(티실리무맵 또는 CP-675,206으로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 B7-H3에 지향된 길항제(CD276으로도 공지됨), 예를 들어, 차단 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 MGA271과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, PD-L1 축 결합 길항제는 TGF-베타에 지향된 길항제, 예를 들어, 메텔리무맵(고양이-192로도 공지됨), 프레슬리무맵(GC1008로도 공지됨) 또는 LY2157299와 함께 투여될 수 있다.

[0286] 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 T 세포(예를 들어, 세포독성 T 세포 또는 CTL)의 입양 전달을 포함하는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 양성-음성 TGF 베타 수용체, 예를 들어, 양성-음성 TGF 베타 II형 수용체를 포함하는 T 세포의 입양 전달을 포함하는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 HERCREEM 프로토콜을 포함하는 치료제와 함께 투여될 수 있다(예를 들어, ClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954 참조).

[0287] 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CD137에 지향된 효능제(TNFRSF9, 4-1BB 또는 ILA로도 공지됨), 예를 들어, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 우렐루맵(BMS-663513으로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CD40에 지향된 효능제, 예를 들어, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CP-870893과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 OX40에 지향된 효능제(CD134로도 공지됨), 예를 들어, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 항-OX40 항체(예를 들어, AgonOX)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CD27에 지향된 효능제, 예를 들어, 활성화 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CDX-1127과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 인돌아민-2,3-다이옥시게나제에 지향된 길항제(IDO)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, IDO 길항제는 1-메틸-D-트립토판(1-D-MT로도 공지됨)이다.

[0288] 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 항체-약물 접합체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 항체-약물 접합체는 메르탄신 또는 노노메틸 아우리스타틴 E(MMAE)를 포함한다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 항-NaPi2b 항체-MMAE 접합체(DNIB0600A 또는 RG7599로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 트라스투주맵 엠탄신(T-DM1, 아도-트라스투주맵 엠탄신 또는 KADCYLA(등록상표))(Genentech)로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 DMUC5754A와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 엔도텔린 B 수용체를 표적화하는 항체-약물 접합체(EDNBR), 예를 들어, MMAE와 접합된 EDNBR에 지향된 항체와 함께 투여될 수 있다.

[0289] 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 항혈관신생 물질과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 VEGF, 예를 들어, VEGF-A에 지향된 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 배바시주맵(AVASTIN(등록상표))(Genentech)로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 안지오펜이오티딘 2에 지향된 항체(Ang2로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 MEDI3617과 함께 투여될 수 있다.

[0290] 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 항종양제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CSF-1R을 표적화하는 물질(M-CSFR 또는 CD115로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 항-CSF-1R(IMC-CS4로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 인터페론, 예를 들어, 인터페론 알파 또는 인터페론 감마와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 Roferon-A(재조합 인터페론 알파-2a로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 GM-CSF(재조합 인간 과립구 마크로파지 콜로니 자극 인자, rhu GM-CSF, 사르그라모스틴 또는 LEUKINE(등록상표)으로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-2(알데스류킨 또는 PROLEUKIN(등록상표)으로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-12와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길

항체는 CD20을 표적화하는 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, CD20을 표적화하는 항체는 오비누투주맵(GA101 또는 GAZYVA(등록상표)로도 공지됨) 또는 리톡시맵이다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 GITR을 표적화하는 항체와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, GITR을 표적화하는 항체는 TRX518이다.

[0291]

몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 암 백신과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 암 백신은 펩타이드 암 백신이고, 이것은 몇몇 경우에 개인화된 펩타이드 백신이다. 몇몇 경우에, 펩타이드 암 백신은 다가 긴 펩타이드, 멀티-펩타이드, 펩타이드 콕테일, 하이브리드 펩타이드, 또는 펩타이드-펄스드 수지상 세포 백신이다(예를 들어, 문헌[Yamada et al., *Cancer Sci.* 104:14-21, 2013] 참조). 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 애췌번트와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 TLR 효능제, 예를 들어, Poly-ICLC(HILTONOL(등록상표)로도 공지됨), LPS, MPL 또는 CpG ODN을 포함하는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 종양 괴사 인자(TNF) 알파와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-1과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 HMGB1과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-10 길항제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-4 길항제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 IL-13 길항제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 HVEM 길항제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는, 예를 들어, ICOS에 지향된 ICOS-L 또는 효능제 항체의 투여에 의해 ICOS 효능제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CX3CL1을 표적화하는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CXCL9를 표적화하는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CXCL10을 표적화하는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 CCL5를 표적화하는 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 LFA-1 또는 ICAM1 효능제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 셀렉틴 효능제(Selectin agonist)와 함께 투여될 수 있다.

[0292]

몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 표적화된 치료제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 B-Raf의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 베무라페닙(ZELBORAF(등록상표)로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 다브라페닙(TAFINLAR(등록상표)로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 에를로티닙(TARCEVA(등록상표)로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 MEK, 예컨대, MEK1(MAP2K1로도 공지됨) 또는 MEK2(MAP2K2로도 공지됨)의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 코비메티닙(GDC-0973 또는 XL-518로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 트라메티닙(MEKINIST(등록상표)로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 K-Ras의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 c-Met의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 오나르투주맵(MetMAb로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 A1k의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 AF802(CH5424802 또는 알렉티닙으로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 포스파티딜이노시톨 3-키나제(PI3K)의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 BKM120과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 이헨탈리십(GS-1101 또는 CAL-101로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 페리포신(KRX-0401로도 공지됨)과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 Akt의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 MK2206과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 GSK690693과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 GDC-0941과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해

제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 mTOR의 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 시롤리무스(라파마이신으로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 템시롤리무스(CCI-779 또는 TORISEL(등록상표)로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 에베롤리무스(RAD001로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 리다포롤리무스(AP-23573, MK-8669 또는 데포롤리무스으로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 OSI-027과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 AZD8055와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 잉크128과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 이중 PI3K/mTOR 저해제와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 XL765와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 GDC-0980과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 BEZ235(NVP-BEZ235로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 BGT226과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 GSK2126458과 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 PF-04691502와 함께 투여될 수 있다. 몇몇 경우에, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제는 PF-05212384(PKI-587로도 공지됨)와 함께 투여될 수 있다.

[0293] C. MSAF에 대한 검출 방법 및 검정

[0294] 몇몇 양상에서, 대상체로부터의 샘플에서 MSAF를 평가하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 상기 방법은, 예를 들어, a) 대상체로부터의 하위게놈 간격(예를 들어, 코딩 하위게놈 간격)의 세트의 서열, 예를 들어, 뉴클레오타이드 서열을 제공하는 단계(여기서, 하위게놈 간격은 유전자의 미리 결정된 세트로부터임); 및 b) 하위게놈 간격의 세트에서 MSAF에 대한 값을 결정하는 단계(여기서, 값은 대립유전자, 즉 체세포 변형을 갖는 하위게놈 간격의 변이체의 빈도의 함수임)를 포함한다.

[0295] 몇몇 실시형태에서, 값은, 샘플로부터 검출된 분획 또는 백분율로서 표시된, 약 40% 미만(예를 들어, 40% 미만, 30%, 20%, 10%, 5% 또는 1%)의 체세포 변경(예를 들어, 코딩 영역에서의 염기 치환 및/또는 코딩 영역에서의 인델 돌연변이)을 갖는 대립유전자, 예를 들어, 하위게놈 간격의 변이체(예를 들어, 유전자)의 가장 높은 빈도로 표시된다.

[0296] 몇몇 실시형태에서, 그 값은 하위게놈 간격으로 정렬된 전체 리드에 대한 체세포 변경을 나타내는 서열 리드의 수를 나눔으로써, 예를 들어, 인간 게놈의 특정한 영역으로 정렬된 전체 리드에 대한 체세포 돌연변이를 나타내는 서열 리드의 수를 나눔으로써 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 값은 40% 초과(예를 들어, 40% 초과, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상 또는 100%)의 빈도를 배제한다. 몇몇 실시형태에서, 값은 샘플에서 20% 이상의 빈도를 배제한다. 몇몇 실시형태에서, 값은 샘플에서 약 20% 미만의 가장 큰 체세포 대립유전자 빈도로부터 도출된다.

[0297] 몇몇 실시형태에서, 값은 그 대립유전자를 보유하는 대상체로부터의 샘플에서의 모든 cfDNA의 분획이다. 몇몇 실시형태에서, 값은 그 대립유전자를 보유하는 대상체로부터의 샘플에서의 ctDNA의 분획이다. 몇몇 실시형태에서, 값은 샘플에서의 종양 함량의 전체 양을 예상하도록 사용된다.

[0298] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 샘플로부터 검출된 각각의 체세포 변경에 대한 대립유전자 빈도를 결정하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 다수의 체세포 변경을 갖는 샘플은, 아마도 암(예를 들어, 종양)에서 이의 원래의 클론 빈도에 따라, 체세포 대립유전자 빈도의 분포로서 이 변경을 제시할 수 있다.

[0299] 몇몇 실시형태에서, 값은 유전자의 미리 결정된 세트, 예를 들어, of 유전자의 미리 결정된 세트의 코딩 영역의 함수로서 표시된다. 다른 실시형태에서, 값은 서열분석된 하위게놈 간격, 예를 들어, 서열분석된 코딩 하위게놈 간격의 함수로서 표시된다.

[0300] 소정의 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트는 전체 게놈 또는 전체 엑솜을 포함하지 않는다. 다른 실시형태에서, 하위게놈 간격의 세트는 전체 게놈 또는 전체 엑솜을 포함하지 않는다.

[0301] 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트는 복수의 유전자를 포함하고, 이 유전자는 돌연변이체 형태에서 세포 분열, 성장 또는 생존율에 대한 효과와 연관되거나, 암과 연관된다. 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트는 적어도 약 50개 이상, 약 100개 이상, 약 150개 이상, 약 200개 이상, 약 250개 이상, 약 300개 이

상, 약 350개 이상, 약 400개 이상, 약 450개 이상 또는 약 500개 이상의 유전자를 포함한다.

- [0302] 소정의 실시형태에서, 값은 유전자의 미리 결정된 세트의 위치, 예를 들어, 유전자의 미리 결정된 세트의 코딩 영역의 미리 선택된 수에서의 체세포 변경의 빈도의 함수로서 표시된다. 다른 실시형태에서, 값은 서열분석된 하위게놈 간격(예를 들어, 코딩 하위게놈 간격)의 위치의 미리 선택된 수에서의 체세포 변경의 빈도의 함수로서 표시된다. 몇몇 실시형태에서, 값은 게놈의 더 큰 부분, 예를 들어, 전체 엑솜 또는 전체 게놈으로 외삽된다.
- [0303] 소정의 실시형태에서, 값은 하위게놈 간격에서의 기능적 변경 및/또는 하위게놈 간격에서의 생식선 변경의 빈도를 배제한다.
- [0304] 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은 기능적 변경의 데이터베이스, 예를 들어, COSMIC 데이터베이스(cancer.sanger.ac.uk/cosmic; Forbes et al. Nucl. Acids Res. 2015; 43 (D1): D805-D811)에서의 포함에 의해 그대로 확인된다. 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은, 예를 들어, COSMIC 데이터베이스에서의 공지된 체세포 변경으로서 생기는 공지된 기능적 상태를 갖는 변경이다. 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은 아마도 기능적 상태를 갖는 변경, 예를 들어, 종양 억제자 유전자에서의 절두이다. 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은, 예를 들어, 이의 미세환경에서 클론에 선택적 이점을 주는 변경, 예를 들어, 세포 생존을 또는 재생성을 증가시킴으로써 드라이버 돌연변이, 예를 들어, 이의 미세환경에서 클론에 선택적 이점을 주는 변경이다. 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은 클론 팽창을 초래할 수 있는 변경이다. 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은 하기 중 하나 이상을 초래할 수 있는 변경이다: (a) 성장 신호에서의 자족성; (b) 성장방지 신호에 대한 예를 들어 비민감도의 감소; (c) 아폽토시스의 감소; (d) 복제 가능성의 증가; (e) 지속적인 혈관신생; 또는 (f) 조직 침윤 또는 전이. 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은 패신저 돌연변이가 아니다(예를 들어, 클론의 일치성에 대한 검출 가능한 효과를 갖는 변경임). 몇몇 실시형태에서, 기능적 변경은 불확실한 의미의 변이체(VUS)가 아니고, 예를 들어, 병원성이 확인되지 않고 배제되지 않을 수 있는 변경이 아니다.
- [0305] 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서 미리 선택된 유전자(예를 들어, 종양 유전자)에서의 복수(예를 들어, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% 또는 75% 이상)의 기능적 변경은 배제된다. 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서 미리 선택된 유전자(예를 들어, 종양 유전자)에서의 모든 기능적 변경은 배제된다. 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서 복수의 미리 선택된 유전자(예를 들어, 종양 유전자)에서의 복수의 기능적 변경은 배제된다. 몇몇 실시형태에서, 유전자의 미리 결정된 세트에서 모든 유전자(예를 들어, 종양 유전자)에서의 모든 기능적 변경은 배제된다.
- [0306] 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP), 염기 치환, 인델 또는 침묵 돌연변이(예를 들어, 동의 돌연변이)이다.
- [0307] 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 일치된 정상 서열과의 비교를 사용하지 않는 방법의 사용에 의해 배제된다. 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 (예를 들어, WO 제2014/183078호에 기재된 바와 같이) SGZ 알고리즘의 사용을 포함하는 방법에 의해 배제된다. 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 생식선 변경의 데이터베이스, 예를 들어, dbSNP 데이터베이스(www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html; Sherry et al. Nucleic Acids Res. 2001; 29(1): 308-311)에서의 포함에 의해 그대로 확인된다. 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 ExAC 데이터베이스(exac.broadinstitute.org; Exome Aggregation Consortium et al. "Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans," bioRxiv preprint. October 30, 2015)의 2 이상의 계수치에서 포함에 의해 그대로 확인된다. 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 1000 Genome Project 데이터베이스(www.1000genomes.org; McVean et al. Nature. 2012; 491, 56-65)에서 포함에 의해 그대로 확인된다. 몇몇 실시형태에서, 생식선 변경은 ESP 데이터베이스(Exome Variant Server, NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP), Seattle, WA (evs.gs.washington.edu/EVS/))에서 포함에 의해 그대로 확인된다.
- [0308] 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 침묵 돌연변이, 예를 들어, 동의 변경이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 패신저 돌연변이, 예를 들어, 클론의 일치성에 대한 검출 가능한 효과를 갖지 않는 변경이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 불확실한 의미의 변이체(VUS), 예를 들어, 병원성이 확인되지 않고 배제되지 않을 수 있는 변경이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 점 돌연변이이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 짧은 변이체(예를 들어, 짧은 코딩 변이체), 예를 들어, 염기 치환, 인델, 삽입 또는 결실이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 비동의 단일 뉴클레오타이드 변이체(SNV)이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 스플라이스 변이체이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 암 표현형과 연관된 것으로 확인되지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 변경은 재배열이 아닌, 예를 들어, 전좌가 아니다.

- [0309] 몇몇 실시형태에서, 샘플은 하나 이상의 전악성 또는 악성 세포; 고형 종양, 연조직 종양 또는 전이성 병변으로부터의 세포; 수술 차이로부터의 조직 또는 세포; 조직학적으로 정상인 조직; 하나 이상의 순환 종양 세포 (CTC); 정상 인접한 조직(NAT) 또는 FFPE-샘플을 포함한다.
- [0310] 몇몇 실시형태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 몇몇 실시형태에서, 대상체로부터 얻은 샘플(예를 들어, 혈액 샘플)은 전혈, 혈장, 혈청, 또는 이들의 조합으로 이루어진 균으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 샘플은 보관소 혈액 샘플, 새로운 혈액 샘플, 또는 동결된 혈액 샘플이다. 몇몇 실시형태에서, 샘플은 무세포 DNA(cfDNA) 및/또는 순환 종양 DNA(ctDNA)를 포함한다.
- [0311] 몇몇 실시형태에서, 샘플은 이의 고형 종양, 혈액학적 암 또는 전이성 형태를 보유하는 환자로부터 획득된다.
- [0312] 소정의 실시형태에서, 샘플은 암을 갖는 대상체 또는 치료를 받고 있거나 받은 대상체 기원이다.
- [0313] 몇몇 실시형태에서, 샘플은, 예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로 상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 유헤락종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 용모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 뿔지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양으로부터 선택된 암을 갖는 대상체에 대해 획득된다.
- [0314] 몇몇 실시형태에서, 대상체는 암에 대한 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)에 의한 치료 이후에 진행한다. 다른 실시형태에서, 대상체는 백금 함유 요법(예를 들어, 백금 기반 화학치료제를 포함하는 요법, 예를 들어, 시스플라틴 기반 화학요법을 포함하는 요법)에 의해 치료에 부적격일 수 있고/이거나, 암에 대한 이전의 치료를 받지 않았다. 몇몇 경우에, 대상체는 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제에 의한 이전의 치료를 받지 않았다. 임의의 이전의 방법에서, PD-L1 축 결합 길항제는 당해 분야에 공지되거나 본 명세서에, 예를 들어, 하기에 부문 IV에 기재된 임의의 PD-L1 축 결합 길항제일 수 있다.
- [0315] 몇몇 실시형태에서, MSAF 값은 bTMB 점수에 독립적으로 샘플로부터 얻어진다. 몇몇 실시형태에서, MSAF 값의 결정은 샘플로부터의 bTMB 점수의 결정 전에, 이와 동시에 또는 후에 발생한다.
- [0316] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 샘플로부터의 복수의 핵산을 포함하는 라이브러리를 획득하는 단계를 더 포함한다.
- [0317] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 라이브러리를 베이트 세트와 접촉시켜서 선택된 핵산을 제공하는 단계를 더 포함하고, 여기서 상기 베이트 세트는 핵산과 혼성화하여서, 라이브러리 캐치를 제공한다.
- [0318] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 상기 라이브러리 또는 라이브러리 캐치로부터 핵산으로부터의 체세포 변형을 포함하는 하위계놈 간격에 대한 판독을 획득하여서, 예를 들어, 차세대 서열분석 방법에 의해 하위계놈 간격에 대한 판독을 획득하는 단계를 더 포함한다.
- [0319] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 정렬 방법에 의한 상기 판독을 배정하는 단계를 더 포함한다.
- [0320] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 미리 선택된 뉴클레오타이드 위치에 대한 상기 판독으로부터 뉴클레오타이드 값을 배정하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 하위계놈 간격에 대한 판독의 획득은 적어도 약 50개

이상, 약 100개 이상, 약 150개 이상, 약 200개 이상, 약 250개 이상, 약 300개 이상의 유전자 또는 유전자 산물로부터 하위계놈 간격을 서열분석하는 것을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 하위계놈 간격에 대한 판독의 획득은 약 250X 초과, 약 500X 초과 또는 약 1,000X 초과의 평균 고유한 커버리지에 의한 서열분석을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 하위계놈 간격에 대한 판독의 획득은 서열분석된 유전자(예를 들어, 엑손)의 95% 초과, 약 97% 초과 또는 약 99% 초과에서의 약 250X 초과, 약 500X 초과 또는 약 1,000X 초과의 평균 고유한 커버리지에 의한 서열분석을 포함한다.

[0321] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 샘플 또는 샘플이 MSAF의 평가에 반응하여 전달되는 대상체를 분류하는 단계를 더 포함한다.

[0322] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 보고서, 예를 들어, 전자, 웹 기반 또는 종이 보고서를 환자에게 또는 또 다른 사람 또는 집합체, 보호자, 의사, 종양학자, 병원, 클리닉, 제3자 지불인, 보험 회사, 제약 또는 생명공학 회사, 또는 관공서에 생성하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 보고서는 MSAF의 평가를 포함하는 방법으로부터의 출력일 수 있다.

[0323] D. tTMB 점수를 결정하는 방법

[0324] 임의의 이전의 방법은 개체로부터 종양 샘플로부터의 tTMB 점수를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. tTMB 점수는 국제 특허 출원 공보 WO 제2017/151524호 또는 국제 특허 출원 제PCT/US2017/055669호(이들은 둘 다 본 명세서에서 그 전문이 참고로 인용됨)에 기재된 임의의 접근법을 이용하여 결정될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수이거나 이보다 높은 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 개체를 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는 사람으로서 식별한다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터 결정된 tTMB 점수는 기준 tTMB 점수이거나 이보다 높다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플로부터 결정된 tTMB 점수는 기준 tTMB보다 낮다. 이전의 양상 중 어느 하나의 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 암을 앓는 개체의 기준 집단에서의 tTMB 점수이고, 개체의 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 여기서 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체) 또는 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체))를 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 암을 앓는 개체의 기준 집단에서의 tTMB 점수이고, 개체의 집단은 PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제1 하위집단 및 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제로 치료된 개체의 제2 하위집단으로 이루어지고, 여기서 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제는 PD-L1 축 결합 길항제를 포함하지 않는다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 비-PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에 비해 PD-L1 축 결합 길항제 치료제에 의한 치료에 대한 반응성에서의 유의차에 기초하여 개체의 각각의 제1 하위집단 및 제2 하위집단을 유의미하게 분리시킨다. 몇몇 실시형태에서, 치료에 대한 반응성은 PFS의 증가, OS의 증가, 및/또는 전체 반응률(ORR)의 증가이다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플은 체세포 돌연변이의 기준 수준에 비해 체세포 돌연변이의 수준이 증가된 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 종양 샘플은 표 1에 기재된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 기준 수준에 비해 표 1에 기재된 적어도 하나의 유전자에서의 체세포 돌연변이의 수준이 증가된 것으로 결정된다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이는 단백질 변경 체세포 돌연변이이다. 몇몇 실시형태에서, 체세포 돌연변이는 치환, 결실, 및/또는 삽입이다. 몇몇 실시형태에서, 치환, 결실, 및/또는 삽입은 인텔이다.

[0325] 임의의 이전의 방법에서, 몇몇 경우에, 기준 tTMB 점수는 예비배정된 tTMB 점수이다. 몇몇 경우에, 기준 tTMB 점수는 약 5 내지 약 100 돌연변이 perMb(mut/Mb), 예를 들어, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 약 50, 약 51, 약 52, 약 53, 약 54, 약 55, 약 56, 약 57, 약 58, 약 59, 약 60, 약 61, 약 62, 약 63, 약 64, 약 65, 약 66, 약 67, 약 68, 약 69, 약 70, 약 71, 약 72, 약 73, 약 74, 약 75, 약 76, 약 77, 약 78, 약 79, 약 80, 약 81, 약 82, 약 83, 약 84, 약 85, 약 86, 약 87, 약 88, 약 89, 약 90, 약 91, 약 92, 약 93, 약 94, 약 95, 약 96, 약 97, 약 98, 약 99 또는 약 100 mut/Mb이다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 기준 tTMB 점수는 약 8 내지 약 30 mut/Mb(예를 들어, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21,

약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 또는 약 30 mut/Mb)이다. 몇몇 경우에, 기준 tTMB 점수는 약 10 내지 약 20 mut/Mb(예를 들어, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19 또는 약 20 mut/Mb)이다. 특정한 경우에, 기준 tTMB 점수는 10 mut/Mb, 16 mut/Mb 또는 20 mut/Mb일 수 있다.

[0326] 임의의 이전의 방법의 몇몇 경우에, 환자로부터의 종양 샘플은 약 5 mut/Mb 이상의 tTMB 점수를 갖는다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 5 내지 약 100 mut/Mb(예를 들어, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49, 약 50, 약 51, 약 52, 약 53, 약 54, 약 55, 약 56, 약 57, 약 58, 약 59, 약 60, 약 61, 약 62, 약 63, 약 64, 약 65, 약 66, 약 67, 약 68, 약 69, 약 70, 약 71, 약 72, 약 73, 약 74, 약 75, 약 76, 약 77, 약 78, 약 79, 약 80, 약 81, 약 82, 약 83, 약 84, 약 85, 약 86, 약 87, 약 88, 약 89, 약 90, 약 91, 약 92, 약 93, 약 94, 약 95, 약 96, 약 97, 약 98, 약 99 또는 약 100 mut/Mb)이다. 몇몇 경우에, 환자로부터의 종양 샘플은 약 5 이상, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11, 약 12, 약 13, 약 14, 약 15, 약 16, 약 17, 약 18, 약 19, 약 20, 약 21, 약 22, 약 23, 약 24, 약 25, 약 26, 약 27, 약 28, 약 29, 약 30, 약 31, 약 32, 약 33, 약 34, 약 35, 약 36, 약 37, 약 38, 약 39, 약 40, 약 41, 약 42, 약 43, 약 44, 약 45, 약 46, 약 47, 약 48, 약 49 또는 약 50 mut/Mb의 tTMB 점수를 갖는다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 환자로부터의 종양 샘플은 약 10 mut/Mb 이상의 tTMB 점수를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 기준 tTMB 점수는 10 mut/Mb이다. 몇몇 경우에, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 10 내지 100 mut/Mb이다. 몇몇 경우에, 종양 샘플로부터의 tTMB 점수는 약 10 내지 20 mut/Mb이다. 몇몇 경우에, 환자로부터의 종양 샘플은 약 16 mut/Mb 이상의 tTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 환자로부터의 종양 샘플은 약 16 mut/Mb 이상의 tTMB 점수를 갖고, 기준 tTMB 점수는 16 mut/Mb이다. 다른 경우에, 환자로부터의 종양 샘플은 약 20 mut/Mb 이상의 tTMB 점수를 갖는다. 몇몇 경우에, 환자로부터의 종양 샘플은 약 20 mut/Mb 이상의 tTMB 점수를 갖고, 기준 tTMB 점수는 약 20 mut/Mb이다.

[0327] 임의의 이전의 방법의 몇몇 경우에, tTMB 점수 또는 기준 tTMB 점수는 서열분석된 염기의 한정된 수당 계수된 체세포 돌연변이의 수로서 표시된다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 서열분석된 염기의 한정된 수는 약 100kb 내지 약 10Mb이다. 몇몇 경우에, 서열분석된 염기의 한정된 수는, 예를 들어, FOUNDATIONONE(등록상표) 패널에 의해 평가된 바와 같이, 약 1.1Mb(예를 들어, 약 1.125Mb)이다. 몇몇 경우에, tTMB 점수 또는 기준 tTMB 점수는 동등 tTMB 값이다. 몇몇 경우에, 동등 tTMB 값은 전장 엑솜 서열분석(WES)에 의해 결정된다. 임의의 이전의 방법에서, 결정된 tTMB 점수는 표 1에 기재된 유전자에서 검출된 체세포 돌연변이 및/또는 재배열의 수준을 반영할 수 있다. 몇몇 경우에, tTMB 점수는 적어도 약 5 mut/Mb 이상(예를 들어, 약 5 mut/Mb 이상, 약 6 mut/Mb 이상, 약 7 mut/Mb 이상, 약 8 mut/Mb 이상, 약 9 mut/Mb 이상, 약 10 mut/Mb 이상, 약 11 mut/Mb 이상, 약 12 mut/Mb 이상, 약 13 mut/Mb 이상, 약 14 mut/Mb 이상, 약 15 mut/Mb 이상, 약 16 mut/Mb 이상, 약 17 mut/Mb 이상, 약 18 mut/Mb 이상, 약 19 mut/Mb 이상, 약 20 mut/Mb 이상, 약 25 mut/Mb 이상, 약 30 mut/Mb 이상, 약 35 mut/Mb 이상, 약 40 mut/Mb 이상 및 약 50 mut/Mb 이상)이 치료(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료)에 대한 반응성을 예측하도록 결정되었다(또는 결정된다). 몇몇 경우에, 치료(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료)에 대한 반응성을 예측하는 tTMB 점수는 약 7 돌연변이/Mb 내지 약 20 돌연변이/Mb일 수 있다. 몇몇 경우에, 치료에 대한 반응성을 예측하는 tTMB 점수는 약 10 돌연변이/Mb 내지 약 15 돌연변이/Mb일 수 있다. 몇몇 경우에, 치료에 대한 반응성을 예측하는 tTMB 점수는 약 11 돌연변이/Mb 내지 약 13 돌연변이/Mb일 수 있다. 몇몇 경우에, 치료에 대한 반응성을 예측하는 tTMB 점수는 약 12.5 돌연변이/Mb일 수 있다. 다른 경우에, 치료에 대한 반응성을 예측하는 tTMB 점수는 약 10 mut/Mb 이상, 예를 들어, 약 10 mut/Mb 이상, 약 11 mut/Mb 이상, 약 12 mut/Mb 이상, 약 13 mut/Mb 이상, 약 14 mut/Mb 이상, 약 15 mut/Mb 이상, 약 16 mut/Mb 이상, 약 17 mut/Mb 이상, 약 18 mut/Mb 이상, 약 19 mut/Mb 이상, 약 20 mut/Mb 이상일 수 있다.

[0328] E. PD-L1 발현을 결정하는 방법

[0329] 임의의 이전의 방법은 개체로부터 얻은 샘플(예를 들어, 종양 샘플)에서 PD-L1의 발현 수준을 결정하는 단계를 포함할 수 있다. PD-L1의 발현 수준을 결정하기 위한 임의의 적합한 접근법, 예를 들어, 면역조직화학(IHC)이 사용될 수 있다. 예시적인 PD-L1 IHC 검정은, 예를 들어, 실시예 1에 기재되어 있고, 다른 것은 당해 분야에 공지되어 있다.

[0330] 몇몇 실시형태에서, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 약 1% 미만에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플은 종양 샘

플레이트의 종양 세포의 약 1% 이상(예를 들어, 약 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 11% 이상, 12% 이상, 13% 이상, 14% 이상, 15% 이상, 16% 이상, 17% 이상, 18% 이상, 19% 이상, 20% 이상, 21% 이상, 22% 이상, 23% 이상, 24% 이상, 25% 이상, 26% 이상, 27% 이상, 28% 이상, 29% 이상, 30% 이상, 31% 이상, 32% 이상, 33% 이상, 34% 이상, 35% 이상, 36% 이상, 37% 이상, 38% 이상, 39% 이상, 40% 이상, 41% 이상, 42% 이상, 43% 이상, 44% 이상, 45% 이상, 46% 이상, 47% 이상, 48% 이상, 49% 이상, 50% 이상, 51% 이상, 52% 이상, 53% 이상, 54% 이상, 55% 이상, 56% 이상, 57% 이상, 58% 이상, 59% 이상, 60% 이상, 61% 이상, 62% 이상, 63% 이상, 64% 이상, 65% 이상, 66% 이상, 67% 이상, 68% 이상, 69% 이상, 70% 이상, 71% 이상, 72% 이상, 73% 이상, 74% 이상, 75% 이상, 76% 이상, 77% 이상, 78% 이상, 79% 이상, 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 약 1% 내지 약 5% 미만(예를 들어, 1% 내지 4.9%, 1% 내지 4.5%, 1% 내지 4%, 1% 내지 3.5%, 1% 내지 3%, 1% 내지 2.5% 또는 1% 내지 2%)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0331] 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 약 5% 이상에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 약 5% 내지 50% 미만(예를 들어, 5% 내지 49.5%, 5% 내지 45%, 5% 내지 40%, 5% 내지 35%, 5% 내지 30%, 5% 내지 25%, 5% 내지 20%, 5% 내지 15%, 5% 내지 10%, 5% 내지 9%, 5% 내지 8%, 5% 내지 7%, 5% 내지 6%, 10% 내지 49.5%, 10% 내지 40%, 10% 내지 35%, 10% 내지 30%, 10% 내지 25%, 10% 내지 20%, 10% 내지 15%, 15% 내지 49.5%, 15% 내지 45%, 15% 내지 40%, 15% 내지 35%, 15% 내지 30%, 15% 내지 25%, 15% 내지 20%, 20% 내지 49.5%, 20% 내지 45%, 20% 내지 40%, 20% 내지 35%, 20% 내지 30%, 20% 내지 25%, 25% 내지 49.5%, 25% 내지 45%, 25% 내지 40%, 25% 내지 35%, 25% 내지 30%, 30% 내지 49.5%, 30% 내지 45%, 30% 내지 40%, 30% 내지 35%, 35% 내지 49.5%, 35% 내지 45%, 35% 내지 40%, 40% 내지 49.5%, 40% 내지 45% 또는 45% 내지 49.5%)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0332] 더 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 약 50% 이상(예를 들어, 약 50% 이상, 51% 이상, 52% 이상, 53% 이상, 54% 이상, 55% 이상, 56% 이상, 57% 이상, 58% 이상, 59% 이상, 60% 이상, 61% 이상, 62% 이상, 63% 이상, 64% 이상, 65% 이상, 66% 이상, 67% 이상, 68% 이상, 69% 이상, 70% 이상, 71% 이상, 72% 이상, 73% 이상, 74% 이상, 75% 이상, 76% 이상, 77% 이상, 78% 이상, 79% 이상, 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 세포의 약 50% 내지 약 99%(예를 들어, 50% 내지 99%, 50% 내지 95%, 50% 내지 90%, 50% 내지 85%, 50% 내지 80%, 50% 내지 75%, 50% 내지 70%, 50% 내지 65%, 50% 내지 60%, 50% 내지 55%, 55% 내지 99%, 55% 내지 95%, 55% 내지 90%, 55% 내지 85%, 55% 내지 80%, 55% 내지 75%, 55% 내지 70%, 55% 내지 65%, 55% 내지 60%, 60% 내지 99%, 60% 내지 95%, 60% 내지 90%, 60% 내지 85%, 60% 내지 80%, 60% 내지 75%, 60% 내지 70%, 60% 내지 65%, 65% 내지 99%, 65% 내지 95%, 65% 내지 90%, 65% 내지 85%, 65% 내지 80%, 65% 내지 75%, 65% 내지 70%, 70% 내지 99%, 70% 내지 95%, 70% 내지 90%, 70% 내지 85%, 70% 내지 80%, 70% 내지 75%, 75% 내지 99%, 75% 내지 95%, 75% 내지 90%, 75% 내지 85%, 75% 내지 80%, 80% 내지 99%, 80% 내지 95%, 80% 내지 90%, 80% 내지 85%, 85% 내지 99%, 85% 내지 95%, 85% 내지 90%, 90% 내지 99% 또는 90% 내지 95%)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0333] 임의의 이전의 방법의 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 약 1% 미만을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 약 1% 이상(예를 들어, 약 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 11% 이상, 12% 이상, 13% 이상, 14% 이상, 15% 이상, 16% 이상, 17% 이상, 18% 이상, 19% 이상, 20% 이상, 21% 이상, 22% 이상, 23% 이상, 24% 이상, 25% 이상, 26% 이상, 27% 이상, 28% 이상, 29% 이상, 30% 이상, 31% 이상, 32% 이상, 33% 이상, 34% 이상, 35% 이상, 36% 이상, 37% 이상, 38% 이상, 39% 이상, 40% 이상, 41% 이상, 42% 이상, 43% 이상, 44% 이상, 45% 이상, 46% 이상, 47% 이상, 48% 이상, 49% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상 또는 100%)을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 약 1% 내

지 약 5% 미만(예를 들어, 1% 내지 4.9%, 1% 내지 4.5%, 1% 내지 4%, 1% 내지 3.5%, 1% 내지 3%, 1% 내지 2.5% 또는 1% 내지 2%)을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0334] 임의의 이전의 방법의 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 침윤 면역 세포의 약 1% 미만에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 침윤 면역 세포의 약 1% 이상(예를 들어, 약 1% 이상, 2% 이상, 3% 이상, 5% 이상, 6% 이상, 7% 이상, 8% 이상, 9% 이상, 10% 이상, 11% 이상, 12% 이상, 13% 이상, 14% 이상, 15% 이상, 16% 이상, 17% 이상, 18% 이상, 19% 이상, 20% 이상, 21% 이상, 22% 이상, 23% 이상, 24% 이상, 25% 이상, 26% 이상, 27% 이상, 28% 이상, 29% 이상, 30% 이상, 31% 이상, 32% 이상, 33% 이상, 34% 이상, 35% 이상, 36% 이상, 37% 이상, 38% 이상, 39% 이상, 40% 이상, 41% 이상, 42% 이상, 43% 이상, 44% 이상, 45% 이상, 46% 이상, 47% 이상, 48% 이상, 49% 이상, 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90% 이상, 약 95% 이상, 약 96% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 약 99% 이상 또는 100%)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 침윤 면역 세포의 약 1% 내지 약 5% 미만(예를 들어, 1% 내지 4.9%, 1% 내지 4.5%, 1% 내지 4%, 1% 내지 3.5%, 1% 내지 3%, 1% 내지 2.5% 또는 1% 내지 2%)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0335] 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 약 5% 이상을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 약 5% 내지 약 10% 미만(예를 들어, 5% 내지 9.5%, 5% 내지 9%, 5% 내지 8.5%, 5% 내지 8%, 5% 내지 7.5%, 5% 내지 7%, 5% 내지 6.5%, 5% 내지 6%, 5% 내지 5.5%, 6% 내지 9.5%, 6% 내지 9%, 6% 내지 8.5%, 6% 내지 8%, 6% 내지 7.5%, 6% 내지 7%, 6% 내지 6.5%, 7% 내지 9.5%, 7% 내지 9%, 7% 내지 7.5%, 8% 내지 9.5%, 8% 내지 9% 또는 8% 내지 8.5%)을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0336] 더 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 침윤 면역 세포의 약 5% 이상에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 침윤 면역 세포의 약 5% 내지 약 10% 미만(예를 들어, 5% 내지 9.5%, 5% 내지 9%, 5% 내지 8.5%, 5% 내지 8%, 5% 내지 7.5%, 5% 내지 7%, 5% 내지 6.5%, 5% 내지 6%, 5% 내지 5.5%, 6% 내지 9.5%, 6% 내지 9%, 6% 내지 8.5%, 6% 내지 8%, 6% 내지 7.5%, 6% 내지 7%, 6% 내지 6.5%, 7% 내지 9.5%, 7% 내지 9%, 7% 내지 7.5%, 8% 내지 9.5%, 8% 내지 9% 또는 8% 내지 8.5%)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0337] 더 추가의 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 약 10% 이상(예를 들어, 10% 이상, 11% 이상, 12% 이상, 13% 이상, 14% 이상, 15% 이상, 16% 이상, 17% 이상, 18% 이상, 19% 이상, 20% 이상, 21% 이상, 22% 이상, 23% 이상, 24% 이상, 25% 이상, 26% 이상, 27% 이상, 28% 이상, 29% 이상, 30% 이상, 31% 이상, 32% 이상, 33% 이상, 34% 이상, 35% 이상, 36% 이상, 37% 이상, 38% 이상, 39% 이상, 40% 이상, 41% 이상, 42% 이상, 43% 이상, 44% 이상, 45% 이상, 46% 이상, 47% 이상, 48% 이상, 49% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%)을 포함하는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0338] 더 추가의 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플에서의 종양 침윤 면역 세포의 약 10% 이상(예를 들어, 10% 이상, 11% 이상, 12% 이상, 13% 이상, 14% 이상, 15% 이상, 16% 이상, 17% 이상, 18% 이상, 19% 이상, 20% 이상, 21% 이상, 22% 이상, 23% 이상, 24% 이상, 25% 이상, 26% 이상, 27% 이상, 28% 이상, 29% 이상, 30% 이상, 31% 이상, 32% 이상, 33% 이상, 34% 이상, 35% 이상, 36% 이상, 37% 이상, 38% 이상, 39% 이상, 40% 이상, 41% 이상, 42% 이상, 43% 이상, 44% 이상, 45% 이상, 46% 이상, 47% 이상, 48% 이상, 49% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0339] 더 다른 경우에, 환자로부터 얻은 종양 샘플은 종양 샘플의 종양 세포의 약 50% 이상(예를 들어, 약 50% 이상, 51% 이상, 52% 이상, 53% 이상, 54% 이상, 55% 이상, 56% 이상, 57% 이상, 58% 이상, 59% 이상, 60% 이상, 61% 이상, 62% 이상, 63% 이상, 64% 이상, 65% 이상, 66% 이상, 67% 이상, 68% 이상, 69% 이상, 70% 이상, 71% 이상, 72% 이상, 73% 이상, 74% 이상, 75% 이상, 76% 이상, 77% 이상, 78% 이상, 79% 이상, 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92%

이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상)에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준 및/또는 종양 샘플의 약 10% 이상(예를 들어, 10% 이상, 11% 이상, 12% 이상, 13% 이상, 14% 이상, 15% 이상, 16% 이상, 17% 이상, 18% 이상, 19% 이상, 20% 이상, 21% 이상, 22% 이상, 23% 이상, 24% 이상, 25% 이상, 26% 이상, 27% 이상, 28% 이상, 29% 이상, 30% 이상, 31% 이상, 32% 이상, 33% 이상, 34% 이상, 35% 이상, 36% 이상, 37% 이상, 38% 이상, 39% 이상, 40% 이상, 41% 이상, 42% 이상, 43% 이상, 44% 이상, 45% 이상, 46% 이상, 47% 이상, 48% 이상, 49% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%)을 갖는 종양 침윤 면역 세포에서의 PD-L1의 검출 가능한 발현 수준을 갖는 것으로 결정되었다.

[0340] 임의의 이전의 방법에서, 종양 침윤 면역 세포에 의해 포함된 종양 샘플의 백분율이, 예를 들어, 항-PD-L1 항체 (예를 들어, SP142 항체)를 사용한 IHC에 의해 평가된 바와 같이 환자로부터 얻은 종양 샘플의 섹션에서 종양 침윤 면역 세포에 의해 덮인 종양 면적의 백분율의 면에서일 수 있다고 이해되어야 한다.

[0341] IV. 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 PD-L1 측 결합 길항제

[0342] 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암 종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관 육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염증성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 척색종, 윤활막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 용모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핍지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소판증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)을 갖는 개체를 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 임의의 이전의 방법은 개체로부터의 샘플로부터 bTMB 점수의 결정에 기초할 수 있다. 임의의 이전의 방법은 개체로부터의 샘플로부터 MSAF 값을 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의의 이전의 방법은 개체로부터의 샘플로부터 tTMB 값을 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0343] 예를 들어, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 측 결합 길항제는 PD-1 결합 길항제, PD-L1 결합 길항제 및 PD-L2 결합 길항제를 포함한다. PD-1(예정사 1)은 또한 당해 분야에서 "예정 세포사 1", "PDCD1", "CD279" 및 "SLEB2"라 칭해진다. 예시적인 인간 PD-1은 UniProtKB/Swiss-Prot 수탁 번호 Q15116에 기재되어 있다. PD-L1(예정사 리간드 1)은 또한 당해 분야에서 "예정 세포사 1 리간드 1", "PDCD1LG1", "CD274", "B7-H" 및 "PDL1"이라 칭해진다. 예시적인 인간 PD-L1은 UniProtKB/Swiss-Prot 수탁 번호 Q9NZQ7.1에 기재되어 있다. PD-L2(예정사 리간드 2)는 또한 당해 분야에서 "예정 세포사 1 리간드 2", "PDCD1LG2", "CD273", "B7-DC", "Btdc" 및 "PDL2"라 칭해진다. 예시적인 인간 PD-L2는 UniProtKB/Swiss-Prot 수탁 번호 Q9BQ51에 기재되어 있다. 몇몇 경우에, PD-1, PD-L1 및 PD-L2는 인간 PD-1, PD-L1 및 PD-L2이다.

[0344] 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는 리간드 결합 파트너에 대한 PD-1의 결합을 저해하는 분자이다. 특정한 양상에서, PD-1 리간드 결합 파트너는 PD-L1 및/또는 PD-L2이다. 또 다른 경우에, PD-L1 결합 길항제는 결합 리간드에 대한 PD-L1의 결합을 저해하는 분자이다. 특정한 양상에서, PD-L1 결합 파트너는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 경우에, PD-L2 결합 길항제는 리간드 결합 파트너에 대한 PD-L2의 결합을 저해하는 분자이다. 특정한 양상에서, PD-L2 결합 리간드 파트너는 PD-1이다. 길항제는 항체, 이의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질 또는 올리고펩타이드일 수 있다.

[0345] 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는, 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같은, 항-PD-1 항체(예를 들어, 인간 항체, 인간화된 항체 또는 키메라 항체)이다. 몇몇 경우에, 항-PD-1 항체는 MDX-1106(니볼루맵), MK-3475(렙볼리주

맵), CT-011(피딜리주맵), MEDI-0680(AMP-514), PDR001, REGN2810 및 BGB-108로 이루어진 군으로부터 선택된다. MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 또는 니볼루맵으로도 공지된 MDX-1106은 WO 제2006/121168호에 기재된 항-PD-1 항체이다. 캄브롤리주맵 또는 람브롤리주맵으로도 공지된 MK-3475는 WO 제2009/114335호에 기재된 항-PD-1 항체이다. hBAT, hBAT-1 또는 피딜리주맵으로도 공지된 CT-011은 WO 제2009/101611호에 기재된 항-PD-1 항체이다. 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는 면역접합체(예를 들어, 불변 영역(예를 들어, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PD-L1 또는 PD-L2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 면역접합체)이다. 몇몇 경우에, PD-1 결합 길항제는 AMP-224이다. B7-DCIg로도 공지된 AMP-224는 WO 제2010/027827호 및 WO 제2011/066342호에 기재된 PD-L2-Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0346] 몇몇 경우에, 항-PD-1 항체는 MDX-1106이다. "MDX-1106"의 대안적인 명칭은 MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 및 니볼루맵을 포함한다. 몇몇 경우에, 항-PD-1 항체는 니볼루맵(CAS 등록 번호: 946414-94-4)이다. 더 추가의 경우에, 서열번호 1로부터의 중쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열번호 2로부터의 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 단리된 항-PD-1 항체가 제공된다. 더 추가의 경우에, 중쇄 및/또는 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-1 항체가 제공되고, 여기서

[0347] (a) 중쇄 서열은 중쇄 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖고:

[0348] QVQLVESGGGVVQPGKSLRLDCKASGITFSNMGHWVRQAPGKLEWVAVIWDGSKRYIADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSN TKVDKRVEKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK(서열번호 1),

[0349] (b) 경쇄 서열은 경쇄 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRFTFGGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC(서열번호 2).

[0350] 몇몇 경우에, PD-L1 측 결합 길항제는 PD-L2 결합 길항제이다. 몇몇 경우에, PD-L2 결합 길항제는 항-PD-L2 항체(예를 들어, 인간 항체, 인간화된 항체 또는 키메라 항체)이다. 몇몇 경우에, PD-L2 결합 길항제는 면역접합체이다.

[0351] 몇몇 경우에, PD-L1 결합 길항제는, 예를 들어, 하기에 기재된 바와 같은 항-PD-L1 항체이다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체는 PD-L1과 PD-1 사이의 및/또는 PD-L1과 B7-1 사이의 결합을 저해할 수 있다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체는 단일클론 항체이다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체는 Fab, Fab'-SH, Fv, scFv 및 (Fab')₂ 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 단편이다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체는 인간화된 항체이다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체는 인간 항체이다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체는 YW243.55.S70, MPDL3280A(아테졸리주맵), MDX-1105, 및 MEDI4736(더발루맵) 및 MSB0010718C(아벨루맵)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 항체 YW243.55.S70은 WO 제2010/077634호에 기재된 항-PD-L1이다. BMS-936559로도 공지된 MDX-1105는 WO 제2007/005874호에 기재된 항-PD-L1 항체이다. MEDI4736(더발루맵)은 WO 제2011/066389호 및 US 제2013/034559호에 기재된 항-PD-L1 단일클론 항체이다. 본 발명의 방법에 유용한 항-PD-L1 항체, 및 이를 제조하는 방법의 예는 PCT 특허 출원 WO 제2010/077634호, WO 제2007/005874호, WO 제2011/066389호, 미국 특허 제8,217,149호 및 US 제2013/034559호(본 명세서에서 참고로 인용됨)에 기재되어 있다.

[0352] WO 제2010/077634호 A1 및 US 제8,217,149호에 기재된 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 기재된 방법에 사용될 수 있다. 몇몇 경우에, 항-PD-L1 항체는 서열번호 3의 중쇄 가변 영역 서열 및/또는 서열번호 4의 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. 더 추가의 경우에, 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서

[0353] (a) 중쇄 서열은 중쇄 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖고:

[0354] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWRQAPGKLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWP

GGFDYWGQGLTVTVSS(서열번호 3),

- [0355] (b) 경쇄 서열은 경쇄 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다;
- [0356] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGT KVEIKR(서열번호 4).
- [0357] 일 경우에, 항-PD-L1 항체는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서
- [0358] (a) HVR-H1 서열은 GFTFSX₁SWIH(서열번호 5)이고;
- [0359] (b) HVR-H2 서열은 AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG(서열번호 6)이고;
- [0360] (c) HVR-H3 서열은 RHWPGGFDY(서열번호 7)이고;
- [0361] 추가로 여기서, X₁은 D 또는 G이고; X₂는 S 또는 L이고; X₃은 T 또는 S이다. 하나의 특정한 양상에서, X₁은 D이고; X₂는 S이고, X₃은 T이다. 또 다른 양상에서, 폴리펩타이드는 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)의 식에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 중쇄 프레임워크 서열을 더 포함한다. 더 또 다른 양상에서, 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유래된다. 추가의 양상에서, 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 프레임워크 서열의 적어도 하나는 하기이다:
- [0362] FR-H1은 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS(서열번호 8)이고;
- [0363] FR-H2는 WVRQAPGKGLEWV(서열번호 9)이고;
- [0364] FR-H3은 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR(서열번호 10)이고;
- [0365] FR-H4는 WGQGLTVTVSS(서열번호 11)이다.
- [0366] 더 추가의 양상에서, 중쇄 폴리펩타이드는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함하는 가변 영역 경쇄와 추가로 조합되고, 여기서
- [0367] (a) HVR-L1 서열은 RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A(서열번호 12)이고;
- [0368] (b) HVR-L2 서열은 SASX₉LX₁₀S(서열번호 13)이고;
- [0369] (c) HVR-L3 서열은 QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T(서열번호 14)이고;
- [0370] 여기서, X₄는 D 또는 V이고; X₅는 V 또는 I이고; X₆은 S 또는 N이고; X₇은 A 또는 F이고; X₈은 V 또는 L이고; X₉는 F 또는 T이고; X₁₀은 Y 또는 A이고; X₁₁은 Y, G, F 또는 S이고; X₁₂는 L, Y, F 또는 W이고; X₁₃은 Y, N, A, T, G, F 또는 I이고; X₁₄는 H, V, P, T 또는 I이고; X₁₅는 A, W, R, P 또는 T이다. 더 추가의 양상에서, X₄는 D이고; X₅는 V이고; X₆은 S이고; X₇은 A이고; X₈은 V이고; X₉는 F이고; X₁₀은 Y이고; X₁₁은 Y이고; X₁₂는 L이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 H이고; X₁₅는 A이다.
- [0371] 더 추가의 양상에서, 경쇄는 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)의 식에 따라 HVR 사이에 병치된 가변 영역 경쇄 프레임워크 서열을 더 포함한다. 더 추가의 양상에서, 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 프레임워크 서열의 적어도 하나는 하기이다:
- [0372] FR-L1은 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC(서열번호 15)이고;
- [0373] FR-L2는 WYQQKPGKAPKLLIY(서열번호 16)이고;
- [0374] FR-L3은 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC(서열번호 17)이고;
- [0375] FR-L4는 FGQGTKVEIKR(서열번호 18)이다.
- [0376] 또 다른 경우에, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편이 제공되고, 여기서

- [0377] (a) 중쇄는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3을 포함하고, 여기서 추가로
- [0378] (i) HVR-H1 서열은 GFTFSX₁SWIH(서열번호 5)이고;
- [0379] (ii) HVR-H2 서열은 AWIX₂PYGGSX₃YYADSVKG(서열번호 6)이고;
- [0380] (iii) HVR-H3 서열은 RHWPGGFDY(서열번호 7)이고;
- [0381] (b) 경쇄는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3을 포함하고, 여기서 추가로
- [0382] (i) HVR-L1 서열은 RASQX₄X₅X₆TX₇X₈A(서열번호 12)이고;
- [0383] (ii) HVR-L2 서열은 SASX₉LX₁₀S(서열번호 13)이고;
- [0384] (iii) HVR-L3 서열은 QQX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄PX₁₅T(서열번호 14)이고;
- [0385] 여기서, X₁은 D 또는 G이고; X₂는 S 또는 L이고; X₃은 T 또는 S이고; X₄는 D 또는 V이고; X₅는 V 또는 I이고; X₆은 S 또는 N이고; X₇은 A 또는 F이고; X₈은 V 또는 L이고; X₉는 F 또는 T이고; X₁₀은 Y 또는 A이고; X₁₁은 Y, G, F 또는 S이고; X₁₂는 L, Y, F 또는 W이고; X₁₃은 Y, N, A, T, G, F 또는 I이고; X₁₄는 H, V, P, T 또는 I이고; X₁₅는 A, W, R, P 또는 T이다. 특정한 양상에서, X₁은 D이고; X₂는 S이고, X₃은 T이다. 또 다른 양상에서, X₄는 D이고; X₅는 V이고; X₆은 S이고; X₇은 A이고; X₈은 V이고; X₉는 F이고; X₁₀은 Y이고; X₁₁은 Y이고; X₁₂는 L이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 H이고; X₁₅는 A이다. 더 또 다른 양상에서, X₁은 D이고; X₂는 S이고, X₃은 T이고, X₄는 D이고; X₅는 V이고; X₆은 S이고; X₇은 A이고; X₈은 V이고; X₉는 F이고; X₁₀은 Y이고; X₁₁은 Y이고; X₁₂는 L이고; X₁₃은 Y이고; X₁₄는 H이고, X₁₅는 A이다.
- [0386] 추가의 양상에서, 중쇄 가변 영역은 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 더 추가의 양상에서, 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카뎀 하위그룹 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열의 하나 이상은 서열번호 8, 9, 10 및 11로서 기재된다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카뎀 카파 I, II, II 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열의 하나 이상은 서열번호 15, 16, 17 및 18로서 기재된다.
- [0387] 더 추가의 특정한 양상에서, 항체는 인간 또는 쥐과 불변 영역을 더 포함한다. 더 추가의 양상에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더 추가의 특정한 양상에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 더 추가의 양상에서, 쥐과 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B 및 IgG3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더 추가의 양상에서, 쥐과 불변 영역은 IgG2A이다. 더 추가의 특정한 양상에서, 항체는 감소된 또는 최소 효과기 기능을 갖는다. 더 추가의 특정한 양상에서, 최소 효과기 기능은 "효과기가 없는 Fc 돌연변이" 또는 비당화로부터 생긴다. 더 추가의 경우에, 효과기가 없는 Fc 돌연변이는 불변 영역에서의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.
- [0388] 더 또 다른 경우에, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서
- [0389] (a) 중쇄는 각각 GFTFSDSWIH(서열번호 19), AWISPYGGSTYYADSVKG(서열번호 20) 및 RHWPGGFDY(서열번호 21)와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 더 포함하거나,
- [0390] (b) 경쇄는 각각 RASQDVSTAVA(서열번호 22), SASFLYS(서열번호 23) 및 QQYLYHPAT(서열번호 24)와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3 서열을 더 포함한다.
- [0391] 특정한 양상에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.
- [0392] 또 다른 양상에서, 중쇄 가변 영역은 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-

L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 더 또 다른 양상에서, 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카밧 하위그룹 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열의 하나 이상은 서열번호 8, 9, 10 및 11로서 기재되어 있다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카밧 카파 I, II, II 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열의 하나 이상은 서열번호 15, 16, 17 및 18로서 기재된다.

[0393] 추가의 양상에서, 중쇄 가변 영역은 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 더 추가의 양상에서, 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카밧 하위그룹 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열의 하나 이상은 하기이다:

[0394] FR-H1 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (서열번호 27)

[0395] FR-H2 WVRQAPGKGLEWVA (서열번호 28)

[0396] FR-H3 RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (서열번호 10)

[0397] FR-H4 WGQGTLLTVSS (서열번호 11).

[0398] 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카밧 카파 I, II, II 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열의 하나 이상은 하기이다:

[0399] FR-L1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (서열번호 15)

[0400] FR-L2 WYQKPGKAPKLLIY (서열번호 16)

[0401] FR-L3 GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (서열번호 17)

[0402] FR-L4 FGQGTKVEIK (서열번호 26).

[0403] 더 추가의 특정한 양상에서, 항체는 인간 또는 쥐과 불변 영역을 더 포함한다. 더 추가의 양상에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더 추가의 특정한 양상에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 더 추가의 양상에서, 쥐과 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B 및 IgG3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더 추가의 양상에서, 쥐과 불변 영역은 IgG2A이다. 더 추가의 특정한 양상에서, 항체는 감소된 또는 최소 효과기 기능을 갖는다. 더 추가의 특정한 양상에서, 최소 효과기 기능은 "효과기가 없는 Fc 돌연변이" 또는 비당화로부터 생긴다. 더 추가의 경우에, 효과기가 적은 Fc 돌연변이는 불변 영역에서의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.

[0404] 더 또 다른 경우에, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서

[0405] (c) 중쇄는 각각 GFTFSDSWIH(서열번호 19), AWISPYGGSTYYADSVKG(서열번호 20) 및 RHWPGGFDY(서열번호 21)와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-H1, HVR-H2 및 HVR-H3 서열을 더 포함하고/하거나,

[0406] (d) 경쇄는 각각 RASQDVSTAVA(서열번호 22), SASFLYS(서열번호 23) 및 QQYLYHPAT(서열번호 24)와 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 HVR-L1, HVR-L2 및 HVR-L3 서열을 더 포함한다.

[0407] 특정한 양상에서, 서열 동일성은 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%이다.

[0408] 또 다른 양상에서, 중쇄 가변 영역은 (FR-H1)-(HVR-H1)-(FR-H2)-(HVR-H2)-(FR-H3)-(HVR-H3)-(FR-H4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 (FR-L1)-(HVR-L1)-(FR-L2)-(HVR-L2)-(FR-L3)-(HVR-L3)-(FR-L4)로서 HVR 사이에 병치된 하나 이상의 프레임워크 서열을 포함한다. 더 또 다른 양상에서, 프레임워크 서열은 인간 공통 프레임워크 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열은 카밧 하위그룹 I, II 또는 III 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열은 VH 하위그룹 III 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 중쇄 프레임워크 서열의 하나 이상은 서열번호 8, 9,

10 및 WQQTGLTVSSASTK(서열번호 29)로서 기재된다.

- [0409] 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 카바트 카파 I, II, II 또는 IV 하위그룹 서열로부터 유래된다. 더 추가의 양상에서, 경쇄 프레임워크 서열은 VL 카파 I 공통 프레임워크이다. 더 추가의 양상에서, 하나 이상의 of 경쇄 프레임워크 서열은 서열번호 15, 16, 17 및 18로서 기재된다. 더 추가의 특정한 양상에서, 항체는 인간 또는 쥐와 불변 영역을 더 포함한다. 더 추가의 양상에서, 인간 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG2, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더 추가의 특정한 양상에서, 인간 불변 영역은 IgG1이다. 더 추가의 양상에서, 쥐와 불변 영역은 IgG1, IgG2A, IgG2B 및 IgG3으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 더 추가의 양상에서, 쥐와 불변 영역은 IgG2A이다. 더 추가의 특정한 양상에서, 항체는 감소된 또는 최소 효과기 기능을 갖는다. 더 추가의 특정한 양상에서, 최소 효과기 기능은 "효과기가 없는 Fc 돌연변이" 또는 비당화로부터 생긴다. 더 추가의 경우에, 효과기가 없는 Fc 돌연변이는 불변 영역에서의 N297A 또는 D265A/N297A 치환이다.
- [0410] 더 추가의 경우에, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서
- [0411] (a) 중쇄 서열은 중쇄 서열과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖거나:
- [0412] EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWP GGFDFYWGQGLTVTVSSASTK(서열번호 25),
- [0413] (b) 경쇄 서열은 경쇄 서열과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다:
- [0414] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYLYHPATFGQGT KVEIKR(서열번호 4).
- [0415] 몇몇 경우에, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서 경쇄 가변 영역 서열은 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다. 몇몇 경우에, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서 중쇄 가변 영역 서열은 서열번호 25의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다. 몇몇 경우에, 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서 경쇄 가변 영역 서열은 서열번호 4의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖고, 중쇄 가변 영역 서열은 서열번호 25의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99% 또는 100%의 서열 동일성을 갖는다. 몇몇 경우에, 중쇄 및/또는 경쇄의 N 말단에서의 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개의 아미노산 잔기는 결실되거나 치환되거나 변형될 수 있다.
- [0416] 더 추가의 경우에, 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서
- [0417] (a) 중쇄 서열은 중쇄 서열과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖고/갖거나:
- [0418] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHVVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWP GGFDFYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTEPVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSPG(서열번호 30),
- [0419] (b) 경쇄 서열은 경쇄 서열과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다:
- [0420] DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYLYHPATFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKA염료KHKVYACEVTHQLSS PVTKSFNRGEC(서열번호 31).
- [0421] 몇몇 경우에, 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서 경쇄 서열은 서열번호 31의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도

91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는다. 몇몇 경우에, 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서 중쇄 서열은 서열번호 30의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는다. 몇몇 경우에, 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하는 단리된 항-PD-L1 항체가 제공되고, 여기서 경쇄 서열은 서열번호 31의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖고, 중쇄 서열은 서열번호 30의 아미노산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는다.

[0422] 몇몇 경우에, 단리된 항-PD-L1 항체는 비당화된다. 항체의 당화는 전형적으로 N-연결된 또는 O-연결된다. N-연결은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 부착을 지칭한다. 트라이펩타이드 서열 아스파라긴-X-세린 및 아스파라긴-X-트레오닌(여기서, X는 프롤린이 아닌 임의의 아미노산임)은 아스파라긴 측쇄에 대한 탄수화물 모이어티의 효소 부착에 대한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩타이드에서의 이들 트라이펩타이드 서열 중 어느 하나의 존재는 잠재적인 당화 부위를 생성한다. O-연결된 당화는 5-하이드록시프롤린 또는 5-하이드록시라이신이 또한 생성될 수 있지만 하이드록시아미노산, 가장 흔히 세린 또는 트레오닌에 대한 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 자일로스의 하나의 부착을 지칭한다. 항체로부터의 당화 부위의 제거는 편리하게는 (N-연결된 당화 부위에 대한) 상기 기재된 트라이펩타이드 서열의 하나가 제거되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 달성된다. 당화 부위 또 다른 아미노산 잔기(예를 들어, 글라이신, 알라닌 또는 보존적 치환) 내에 아스파라긴, 세린 또는 트레오닌 잔기의 치환에 의해 변경이 이루어질 수 있다.

[0423] 본 명세서에서 임의의 경우에, 단리된 항-PD-L1 항체는 인간 PD-L1, 예를 들어, UniProtKB/Swiss-Prot 수탁 번호 Q9NZQ7.1에 기재된 바와 같은 인간 PD-L1, 또는 이의 변이체에 결합할 수 있다.

[0424] 더 추가의 경우에, 본 명세서에 기재된 임의의 항체를 코딩하는 단리된 핵산이 제공된다. 몇몇 경우에, 핵산은 임의의 이전에 기재된 항-PD-L1 항체를 코딩하는 핵산의 발현에 적합한 벡터를 더 포함한다. 더 추가의 특정한 양상에서, 벡터는 핵산의 발현에 적합한 숙주 세포에 있다. 더 추가의 특정한 양상에서, 숙주 세포는 진핵 세포 또는 원핵 세포이다. 더 추가의 특정한 양상에서, 진핵 세포는 포유류 세포, 예컨대, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포이다.

[0425] 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 예를 들어, 이러한 항체 또는 단편을 제조하기에 적합한 조건하에 발현에 적합한 형태의 임의의 이전에 기재된 항-PD-L1 항체 또는 항원 결합 단편을 코딩하는 핵산을 함유하는 숙주 세포를 배양하고, 항체 또는 단편을 회수하는 것을 포함하는 공정에 의해 당해 분야에 공지된 방법을 이용하여 제조될 수 있다.

[0426] 상기에 열거된 임의의 경우에 사용하기 위한 이러한 PD-L1 측 결합 길항제 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 항-PD-1 항체, 및 항-PD-L2 항체), 또는 본 명세서에 기재된 다른 항체가 하기에 1-7 부문에 기재된 바와 같이 단독으로 또는 조합되어 임의의 특징을 가질 수 있는 것으로 명확히 고려된다.

[0427] 1. 항체 친화도

[0428] 소정의 경우에, 본 명세서에 제공된 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 1 μ M 이하, 100nM 이하, 10nM 이하, 1nM 이하, 0.1nM 이하, 0.01nM 이하 또는 0.001nM 이하(예를 들어, 10⁻⁸ M 또는 미만, 예를 들어, 10⁻⁸ M 내지 10⁻¹³ M, 예를 들어, 10⁻⁹ M 내지 10⁻¹³ M)의 해리 상수(Kd)를 갖는다.

[0429] 일 경우에, Kd는 방사성표지된 항원 결합 검정(RIA)에 의해 측정된다. 일 경우에, RIA는 관심 대상의 항체 및 이의 항원의 Fab 버전으로 수행된다. 예를 들어, 항원에 대한 Fab의 용액 결합 친화도는 비표지된 항원의 적정 시리즈의 존재하에 Fab를 최소 농도의 (¹²⁵I)-표지된 항원으로 평형화시키고, 이어서 결합된 항원을 항-Fab 항체 코팅된 플레이트로 포획함으로써 측정된다(예를 들어, 문헌[Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)] 참조). 검정에 대한 조건을 확립하기 위해, MICROTITER(등록상표) 다중웰 플레이트(Thermo Scientific)는 50mM 탄산나트륨(pH 9.6)에서 5 μ g/ml의 포획 항-Fab 항체(Cappel Labs)로 밤새 코팅되고, 후속하여 실온(대략 23°C)에서 2 내지 5시간 동안 PBS 중에 2%(w/v) 소 혈청 알부민으로 차단된다. 비흡착제 플레이트(Nunc #269620)에서, 100pM 또는 26pM [¹²⁵I]-항원은 (예를 들어, 문헌[Presta et al., *Cancer Res.* 57:4593-4599

(1997)]에서 Fab-12인 항-VEGF 항체의 평가와 일치하는) 관심 대상의 Fab의 시리즈 희석과 혼합된다. 관심 대상의 Fab는 이어서 밤새 항온처리되지만; 항온처리는 평형이 도달된다는 것을 보장하도록 더 긴 기간(예를 들어, 약 65시간) 동안 지속할 수 있다. 이후, 혼합물은 실온에서(예를 들어, 1시간 동안) 항온처리를 위해 포획 플레이트로 옮겨진다. 용액은 이어서 제거되고, 플레이트는 PBS 중의 0.1% 폴리소르베이트 20(TWEEN-20(등록상표))로 8회 세척된다. 플레이트가 건조될 때, 150 μ l/웰의 섬광물질(MICROSCINT-20(상표명); Packard)은 첨가되고, 플레이트는 10분 동안 TOPCOUNT(상표명) 감마 카운터(Packard)에서 계수된다. 최대 결합의 20% 이하인 각각의 Fab의 농도는 경쟁적 결합 검정에 사용하기 위해 선택된다.

[0430] 또 다른 경우에 따르면, K_d는 BIACORE(등록상표) 표면 플라스몬 공명 검정을 이용하여 측정된다. 예를 들어, BIACORE(등록상표)-2000 또는 BIACORE(등록상표)-3000(BIAcore, Inc.(Piscataway, NJ))을 이용한 검정은 약 10 반응 유닛(RU)에서 부동화된 항원 CM5 칩으로 25℃에서 수행된다. 일 경우에, 카복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩(CM5, BIACORE, Inc.)은 공급자의 지시에 따라 *N*-에틸-*N'*-(3-다이메틸아미노프로필)-카보다이이미드 하이드로클로라이드(EDC) 및 *N*-하이드록시석신이미드(NHS)로 활성화된다. 항원은 커플링된 단백질의 대략 10 반응 유닛(RU)을 달성하도록 5 μ l/분의 유속에서의 주사 전에 10mM 아세트산나트륨(pH 4.8)으로 5 μ g/ml(약 0.2 μ M)로 희석된다. 항원의 주사 이후에, 1M 에탄올아민은 비반응된 그룹을 차단하도록 주사된다. 키네틱 측정을 위해, Fab의 2배 시리즈 희석(0.78nM 내지 500nM)은 대략 25 μ l/분의 유속에서 25℃에서 0.05% 폴리소르베이트 20(TWEEN-20(상표명)) 계면활성제(PBST)와 PBS 중에 주사된다. 결합 속도(k_{on}) 및 분해 속도(k_{off})는 결합 및 분해 센소그램을 동시에 피팅함으로써 단순한 1-대-1 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델(BIACORE(등록상표) Evaluation 소프트웨어 버전 3.2)을 이용하여 계산된다. 평형 해리 상수(K_d)는 비율 k_{off}/k_{on}로서 계산된다. 예를 들어, 문헌[Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999)]을 참조한다. 결합 속도가 상기에 표면 플라스몬 공명 검정에 의해 10⁶ M⁻¹s⁻¹ 초과하면, 결합 속도는, 교반된 큐벳을 갖는 분광기, 예컨대, 중단-흐름 장착 분광광도계(Aviv Instruments) 또는 8000-시리즈 SLM-AMINCO(상표명) 분광광도계(ThermoSpectronic)에서 측정된 바와 같이 증가하는 농도의 항원의 존재하에, PBS(pH 7.2) 중의 20nM 항-항원 항체(Fab 형태)의 25℃에서 형광 방출 강도의 증가 또는 감소(여기 = 295nm; 방출 = 340nm, 16nm 밴드-통과)를 측정하는 형광성 켄칭 기법을 이용함으로써 결정될 수 있다.

[0431] 2. 항체 단편

[0432] 소정의 경우에, 본 명세서에 제공된 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 항체 단편이다. 항체 단편은 Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv 및 scFv 단편, 및 하기에 기재된 다른 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 소정의 항체 단편의 검토를 위해, 문헌[Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134(2003)]을 참조한다. scFv 단편의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Pluckthün, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)]을 참조하고; 또한 WO 제93/16185호; 및 미국 특허 제5,571,894호 및 제5,587,458호를 참조한다. 구조 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 증가된 생체내 반감기를 갖는 Fab 및 F(ab')₂ 단편의 검토를 위해, 미국 특허 제5,869,046호를 참조한다.

[0433] 다이아바디는 2가 또는 이중특이적일 수 있는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, 문헌[EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003); 및 Hollinger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448 (1993)]을 참조한다. 트라이아바디 및 테트라바디는 또한 문헌[Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003)]에 기재되어 있다.

[0434] 단일 도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 소정의 경우에, 단일 도메인 항체는 인간 단일 도메인 항체이다(Domantis, Inc., Waltham, MA; 예를 들어, 미국 특허 제6,248,516호 B1 참조).

[0435] 항체 단편은 본 명세서에 기재된 바와 같이 온전한 항체의 단백질분해 소화, 및 재조합 숙주 세포에 의한 제조(예를 들어, 이. 콜라이 또는 파지)(이들로 제한되지는 않음)를 포함하는 다양한 기법에 의해 이루어질 수 있다.

[0436] 3. 키메라 및 인간화된 항체

[0437] 소정의 경우에, 본 명세서에 제공된 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 키메라 항체이다. 소정의 키메라 항체는, 예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호; 및 문헌[Morrison et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.*

USA, 81:6851-6855 (1984))에 기재되어 있다. 일 예에서, 키메라 항체는 비인간 가변 영역(예를 들어, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼 또는 비인간 영장류, 예컨대, 원숭이로부터 유래된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가의 예에서, 키메라 항체는 종류 또는 하위종류가 모 항체의 것으로부터 변화한 "종류 스위칭된" 항체이다. 키메라 항체는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0438] 소정의 경우에, 키메라 항체는 인간화된 항체이다. 전형적으로, 비인간 항체는 모 비인간 항체의 특이성 및 친화도를 보유하면서 인간에 대한 면역원성을 감소시키도록 인간화된다. 일반적으로, 인간화된 항체는 HVR, 예를 들어, CDR(또는 이의 일부)가 비인간 항체로부터 유래되고, FR(또는 이의 일부)이 인간 항체 서열로부터 유래된 하나 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화된 항체는 선택적으로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 또한 포함할 것이다. 몇몇 경우에, 인간화된 항체에서의 몇몇 FR 잔기는, 예를 들어, 항체 특이성 또는 친화도를 복원하거나 개선하기 위해 비인간 항체(예를 들어, HVR 잔기가 유래된 항체)로부터의 상응하는 잔기에 의해 치환된다.

[0439] 인간화된 항체 및 이를 제조하는 방법은, 예를 들어, 문헌[Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)]에 검토되어 있고, 예를 들어, 문헌[Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989)]; US 특허 제5, 821,337호, 제7,527,791호, 제6,982,321호 및 제7,087,409호; 문헌[Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005)](특이성 결정 영역(SDR) 그래프팅을 기재); 문헌[Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991)]("리서페이싱"을 기재); 문헌[Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005)]("FR 서플링"을 기재); 및 문헌[Osborn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) 및 Klimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000)](FR 서플링에 대한 "가이딩된 선택" 접근법을 기재)]에 추가로 기재되어 있다.

[0440] 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은 "베스트-피트(best-fit)" 방법을 이용하여 선택된 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)] 참조); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 하위그룹의 인간 항체의 공통 서열로부터 유래된 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 및 Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)] 참조); 인간 성숙(체세포 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식선 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)] 참조); 및 스크리닝 FR 라이브러리로부터 유래된 프레임워크 영역(예를 들어, 문헌[Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)] 참조)을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0441] 4. 인간 항체

[0442] 소정의 경우에, 본 명세서에 제공된 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 인간 항체이다. 인간 항체는 당해 분야에 공지된 다양한 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 문헌[van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 및 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)]에 기재되어 있다.

[0443] 인간 항체는 항원 유발에 반응하여 인간 가변 영역을 갖는 온전한 인간 항체 또는 온전한 항체를 제조하도록 변형된 형질전환 동물에 면역원을 투여함으로써 제조될 수 있다. 이러한 동물은 전형적으로, 내인성 면역글로불린 유전자좌위를 대체하거나, 염색체의 존재하거나 동물의 염색체로 무작위로 통합된, 인간 면역글로불린 유전자좌위의 전부 또는 일부를 함유한다. 이러한 형질전환 마우스에서, 내인성 면역글로불린 유전자좌위는 일반적으로 불활성화된다. 형질전환 동물로부터 인간 항체를 수득하기 위한 방법의 검토를 위해, 문헌[Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)]을 참조한다. 또한, 예를 들어, XENOMOUSE(상표명) 기술을 기재하는 미국 특허 제6,075,181호 및 제6,150,584호; HUMAB(등록상표) 기술을 기재하는 미국 특허 제5,770,429호; K-M MOUSE(등록상표) 기술을 기재하는 미국 특허 제7,041,870호, 및 VELOCIMOUSE(등록상표) 기술을 기재하는 미국 특허 출원 공보 제US 2007/0061900호를 참조한다. 이러한 동물에 의해 생성된 온전한 항체로부터의 인간 가변 영역은, 예를 들어, 상이한 인간 불변 영역과 조합함으로써 추가로 변형될 수 있다.

[0444] 인간 항체는 또한 하이브리도마 기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 단일클론 항체의 제조를 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 이종골수종 세포주는 기재되어 있다. (예를 들어, 문헌[Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991)] 참조.) 인간 B 세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체는 문헌[Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)]에 또한 기재되어 있다. 추가적인 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제7,189,826호(하이브리도마 세포주로부터의 단일클론 인간 IgM 항체의 제조를 기재) 및 문헌[Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006)](인간-

인간 하이브리도마를 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술(Trioma technology)은 또한 문헌 [Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)]에 기재되어 있다.

[0445] 인간 항체는 또한 인간 유래된 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리시킴으로써 생성될 수 있다. 이러한 가변 도메인 서열은 이어서 원하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하는 기법이 하기에 기재되어 있다.

[0446] 5. 라이브러리 유래된 항체

[0447] 본 발명의 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 및 항-PD-1 항체)는 원하는 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대해 조합 라이브러리를 스크리닝함으로써 단리될 수 있다. 예를 들어, 다양한 방법은 파지 디스플레이 라이브러리의 생성 및 원하는 결합 특징을 보유하는 항체에 대한 이러한 라이브러리의 스크리닝에 대해 당해 분야에 공지되어 있다. 이러한 방법은, 예를 들어, 문헌[Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)]에 검토되어 있고, 예를 들어, 문헌[McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132(2004)]에 추가로 기재되어 있다.

[0448] 소정의 파지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는 중합효소 사슬 반응(PCR)에 의해 별개로 클로닝되고 파지 라이브러리에서 무작위로 재조합되고, 이것은 이어서 문헌[Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455(1994)]에 기재된 바와 같은 항원 결합 파지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파지는 전형적으로 항체 단편을 단일 사슬 Fv(scFv) 단편으로서 또는 Fab 단편으로서 디스플레이한다. 번역화된 소스로부터의 라이브러리는 하이브리도마를 구축할 필요 없이 번역원에 대한 고친화도 항체를 제공한다. 대안적으로, 나이트 레퍼토리는 (예를 들어, 인간으로부터) 클로닝될 수 있어서, 문헌[Griffiths et al., *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993)]에 의해 기재된 바와 같은 임의의 번역화 없이 비자가 및 또한 자가 항원의 넓은 범위로 항체의 단일 소스를 제공한다. 마지막으로, 나이트 라이브러리는 문헌[Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)]에 기재된 바와 같이 고도로 가변적인 CDR3 영역을 코딩하고 시험관내 재배열을 확립하도록 줄기 세포로부터 비재배열된 V-유전자 세그먼트를 클로닝하고 무작위 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 사용함으로써 합성으로 또한 제조될 수 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기재하는 특허 공보는, 예를 들어, US 특허 제5,750,373호 및 US 특허 공보 제2005/0079574호, 제2005/0119455호, 제2005/0266000호, 제2007/0117126호, 제2007/0160598호, 제2007/0237764호, 제2007/0292936호 및 제2009/0002360호를 포함한다.

[0449] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은 본 명세서에서 인간 항체 또는 인간 항체 단편으로 생각된다.

[0450] 6. 다중특이적 항체

[0451] 상기 양상 중 임의의 하나에서, 본 명세서에 제공된 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)는 다중 특이적 항체, 예를 들어, 이중특이적 항체일 수 있다. 다중특이적 항체는 적어도 2개의 상이한 부위에 결합 특이성을 갖는 단일클론 항체이다. 소정의 경우에, 본 명세서에 제공된 항체는 다중특이적 항체, 예를 들어, 이중 특이적 항체이다. 소정의 경우에, 결합 특이성의 하나는 PD-L1에 대한 것이고, 다른 하나는 임의의 다른 항원에 대한 것이다. 소정의 경우에, 이중특이적 항체는 PD-L1의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 또한 PD-L1을 발현하는 세포에 세포독성제를 국소화하도록 사용될 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 제조될 수 있다.

[0452] 다중특이적 항체를 제조하기 위한 기법은 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 재조합 동시발현(문헌[Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)], WO 제93/08829호 및 문헌[Traunecker et al., *EMBO J.* 10: 3655 (1991)] 참조), 및 "구멍에 손잡이(knob-in-hole)" 조작(예를 들어, 미국 특허 제5,731,168호 참조)을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 다중특이적 항체는 또한 항체 Fc-이중이합체 분자를 제조하기 위한 정전기 스테어링 효과의 조작(예를 들어, WO 제2009/089004호 A1 참조); 2개 이상의 항체 또는 단편의 가교결합(예를 들어, US 특허 제4,676,980호, 및 문헌[Brennan et al., *Science* 229: 81 (1985)] 참조); 이중 특이적 항체를 제조하기 위한 류신 지퍼의 사용(예를 들어, 문헌[Kostelny et al., *J. Immunol.* 148(5): 1547-

1553(1992)] 참조); 이중특이적 항체 단편을 제조하기 위한 "다이하바디" 기술의 사용(예를 들어, 문헌[Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)] 참조); 단일 사슬 Fv(sFv) 이합체의 사용(예를 들어, 문헌[Gruber et al., *J. Immunol.* 152:5368 (1994)] 참조); 및, 예를 들어, 문헌[Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991)]에 기재된 바와 같은 삼중특이적 항체의 제조에 의해 제조될 수 있다.

[0453] "옥토푸스 항체"를 포함하는 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체는 본 명세서에 또한 포함된다(예를 들어, US 제2006/0025576호 A1 참조).

[0454] 본 명세서에서 항체 또는 단편은 또한 PD-L1에 결합하는 항원 결합 부위, 및 또 다른 상이한 항원을 포함하는 "이중 작용 Fab" 또는 "DAF"를 포함한다.

[0455] 7. 항체 변이체

[0456] 소정의 경우에, 본 발명의 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 및 항-PD-1 항체)의 아미노산 서열 변이체 아미노산 서열 변이체가 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열로 적절한 변형을 도입함으로써 또는 펩타이드 합성에 의해 제조될 수 있다. 이러한 변형은, 예를 들어, 항체의 아미노산 서열 내의 잔기로 부위의 결실, 및/또는 이로의 삽입 및/또는 이의 치환을 포함한다. 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합은 최종 작제물에 도달하도록 이루어지질 수 있고, 단 최종 작제물은 원하는 특징, 예를 들어, 항원 결합을 보유한다.

[0457] I. 치환, 삽입, 및 결실 변이체

[0458] 소정의 경우에, 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환 돌연변이유발에 대한 관심 대상의 부위는 HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환은 "바람직한 치환"의 제목 아래에 표 2에 기재된다. 더 실질적인 변화는 "예시적인 치환"의 제목 아래에 표 2에 제공되고, 아미노산 측쇄 종류와 관련하여 하기에 더 기재되어 있다. 아미노산 치환은 관심 대상의 항체로 도입되고, 생성물은 원하는 활성, 예를 들어, 보유된/개선된 항원 결합, 감소된 면역원성, 또는 개선된 항체 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC) 또는 보체 의존적 세포독성(CDC)에 대해 스크리닝될 수 있다.

표 2

예시적이고 바람직한 아미노산 치환

원래의 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0459]

- [0460] 아미노산은 혼한 측쇄 특성에 따라 그룹화될 수 있다:
- [0461] (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- [0462] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- [0463] (3) 산성: Asp, Glu;
- [0464] (4) 염기성: His, Lys, Arg;
- [0465] (5) 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro;
- [0466] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0467] 비보존적 치환은 또 다른 종류에 대한 이들 종류 중 하나의 구성원의 변경을 동반할 것이다.
- [0468] 치환 변이체의 하나의 유형은 모 항체(예를 들어, 인간화된 또는 인간 항체)의 하나 이상의 추가변 영역 잔기의 치환을 수반한다. 일반적으로, 추가의 연구에 선택된 생성된 변이체(들)는 모 항체에 비해 소정의 생물학적 특성(예를 들어, 증가된 친화도 및/또는 감소된 면역원성)에서의 변형(예를 들어, 개선)을 가질 수 있고/있거나, 모 항체의 실질적으로 보유된 소정의 생물학적 특성을 가질 것이다. 예시적인 치환 변이체는, 예를 들어, 파지 디스플레이 기반 친화도 성숙 기법, 예컨대, 본 명세서에 기재된 것을 사용하여 편리하게 생성될 수 있는 친화도 성숙된 항체이다. 간단히, 하나 이상의 HVR 잔기는 성숙되고, 변이체 항체는 파지에서 디스플레이되고 특정한 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝된다.
- [0469] 변경(예를 들어, 치환)은 HVR, 예를 들어, 항체 친화도를 개선하도록 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은 HVR "핫스팟", 즉 체세포 돌연변이 과정 동안 높은 빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 코딩된 잔기(예를 들어, 문헌[Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)] 참조), 및/또는 항원과 접촉하는 잔기(생성된 변이체 VH 또는 VL은 결합 친화도에 대해 시험됨)에서 이루어질 수 있다. 2차 라이브러리로부터의 작제 및 재선택에 의한 친화도 성숙은, 예를 들어, 문헌[Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))]에 기재되어 있다. 친화도 성숙의 몇몇 경우에, 다양성은 임의의 다양한 방법(예를 들어, 오류 발생이 쉬운 PCR, 사슬 서플링 또는 올리고뉴클레오타이드 지정 돌연변이유발)에 의해 성숙에 선택된 다양한 유전자로 도입된다. 2차 라이브러리는 이어서 생성된다. 라이브러리는 이어서 원하는 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 확인하도록 스크리닝된다. 다양성을 도입하기 위한 또 다른 방법은 몇몇 HVR 잔기(예를 들어, 함께 4개 내지 6개의 잔기)가 무작위화된 HVR 지정 접근법을 수반한다. 항원 결합에 관여된 HVR 잔기는, 예를 들어, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 또는 모델링을 이용하여 특이적으로 확인될 수 있다. CDR-H3 및 CDR-L3은 특히 대개 표적화된다.
- [0470] 소정의 경우에, 이러한 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 치환, 삽입 또는 결실은 하나 이상의 HVR 내에 발생할 수 있다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경(예를 들어, 본 명세서에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 HVR에서 이루어질 수 있다. 이러한 변경은, 예를 들어, HVR에서 항원 접촉 잔기 밖에 있을 수 있다. 상기에 제공된 변이체 VH 및 VL 서열의 소정의 경우에, 각각의 HVR은 비변경되거나, 1개, 2개의 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.
- [0471] 돌연변이유발에 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 문헌[Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"이라 불린다. 이 방법에서, 잔기 또는 표적 잔기의 그룹(예를 들어, 충전된 잔기, 예컨대, Arg, Asp, His, Lys 및 Glu)은 항체와 항원의 상호작용이 영향을 받는지를 결정하기 위해 확인되고 중성 또는 음으로 충전된 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체된다. 추가의 치환은 초기 치환에 대한 기능적 민감도를 나타내는 아미노산 위치에서 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 항체와 항원 사이의 접촉 점을 확인하기 위한 항원-항체 복합체의 결정 구조. 이러한 접촉 잔기 및 이웃하는 잔기는 치환에 대한 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 이들이 원하는 특성을 함유하는지를 결정하도록 스크리닝될 수 있다.
- [0472] 아미노산 서열 삽입은 1개의 잔기로부터 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩타이드로의 길이의 범위의 아미노 및/또는 카복실 말단 융합, 및 단일 또는 다수의 아미노산 잔기에 대한 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N 말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소(예를 들어, ADEPT에 대해) 또는 폴리펩타이드에 대한 항체의 N 또는 C 말단에 대한 융합을 포함한다.

[0473] II. 당화 변이체

[0474] 소정의 경우에, 본 발명의 항체는 항체가 글라이코실화된 정도를 증가시키거나 감소시키도록 변경될 수 있다. 하나 이상의 당화 부위가 생성되거나 제거되도록 본 발명의 항체에 대한 당화 부위의 첨가 또는 결실은 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성될 수 있다.

[0475] 항체가 Fc 영역을 포함할 때, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 포유류 세포에 의해 제조된 천연 항체는 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 N-연결에 의해 일반적으로 연결된 분지된 바이안테너리(biantennary) 올리고당을 전형적으로 포함한다. 예를 들어, 문헌[Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고당은 다양한 탄수화물, 예를 들어, 만노스, N-아세틸 글루코사민(GlcNAc), 갈락토스 및 시알산, 및 바이안테너리 올리고당 구조의 "줄기"에서 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 몇몇 경우에, 본 발명의 항체에서의 올리고당의 변형은 소정의 개선된 특성을 갖는 항체 변이체를 생성하도록 이루어질 수 있다.

[0476] 일 경우에, Fc 영역에 (직접적으로 또는 간접적으로) 부착된 푸코스가 결여된 탄수화물 구조를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들어, 이러한 항체에서의 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은, 예를 들어, WO 제2008/077546호에 기재된 바와 같이 MALDI-TOF 질량 분광 분석법에 의해 측정된 바와 같이 Asn 297에 부착된 모든 당구조(예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 높은 만노스 구조)의 합에 대해 Asn297에서의 당 사슬 내의 푸코스의 평균 양을 계산함으로써 결정된다. Asn297은 Fc 영역에서의 약 297번 위치에 위치한 아스파라긴 잔기를 지칭하지만(Fc 영역 잔기의 EU 넘버링); Asn297은 또한 297번 위치의 상류 또는 하류의 약 ± 3 아미노산에, 즉 항체에서의 소수 서열 변이로 인해 294번 위치와 300번 위치 사이에 위치할 수 있다. 이러한 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 공보 US 제2003/0157108호 및 US 제2004/0093621호를 참조한다. "탈푸코실화된" 또는 "푸코스 결핍된" 항체 변이체에 관한 공보의 예는 US 제2003/0157108호; WO 제2000/61739호; WO 제2001/29246호; US 제2003/0115614호; US 제2002/0164328호; US 제2004/0093621호; US 제2004/0132140호; US 제2004/0110704호; US 제2004/0110282호; US 제2004/0109865호; WO 제2003/085119호; WO 제2003/084570호; WO 제2005/035586호; WO 제2005/035778호; WO 제2005/053742호; WO 제2002/031140호; 문헌[Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)]을 포함한다. 탈푸코실화된 항체를 제조할 수 있는 세포주의 예는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포(Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)); 미국 특허 출원 US 제2003/0157108호 A1; 및 WO 제2004/056312호 A1(Adams 등), 특히 실시예 11에서), 및 넥아웃 세포주, 예컨대, 알파-1,6-푸코실 전환효소 유전자, *FUT8*, 넥아웃 CHO 세포(예를 들어, 문헌[Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)]; 및 WO 제2003/085107호 참조)를 포함한다.

[0477] 항체 변이체에, 예를 들어, 항체의 Fc 영역에 부착된 바이안테너리 올리고당이 GlcNAc에 의해 이분화된 이분화 올리고당이 추가로 제공된다. 이러한 항체 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체의 예는, 예를 들어, WO 제2003/011878호; US 특허 제6,602,684호; 및 US 제2005/0123546호에 기재되어 있다. 올리고당에서의 적어도 하나의 갈락토스 잔기가 Fc 영역에 부착된 항체 변이체가 또한 제공된다. 이러한 항체 변이체는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어, WO 제1997/30087호; WO 제1998/58964호; 및 WO 제1999/22764호에 기재되어 있다.

[0478] III. Fc 영역 변이체

[0479] 소정의 경우에, 하나 이상의 아미노산 변형은 본 발명의 항체의 Fc 영역으로 도입되어서, Fc 영역 변이체를 생성할 수 있다. Fc 영역 변이체는 하나 이상의 아미노산 위치에서 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열(예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0480] 소정의 경우에, 본 발명은 생체내 항체의 반감기가 이제 중요한 분야에 대해 이것이 바람직한 후보가 되게 하는 모두가 아닌 약간의 효과기 기능을 보유하지만, 소정의 효과기 기능(예컨대, 보체 및 ADCC)이 불필요하거나 해로운 항체 변이체를 고려한다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정은 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인시키도록 구성될 수 있다. 예를 들어, Fc 수용체(FcR) 결합 검정은 항체가 Fc γ R 결합이 부족(그러므로 ADCC 활성이 부족)하지만, FcRn 결합 능력을 보유한다는 것을 보장하도록 구성될 수 있다. NK 세포인 ADCC를 매개하기 위한 1차 세포는 오직 Fc γ RIII를 발현하지만, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포에 대한 FcR 발현은 문헌[Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)]의 464페이지에서 표 3에 요약되어 있다. 관심 대상의 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 검정의 비제한적인 예는 미국 특허 제5,500,362호에 기재되어 있다(예를 들어, 문헌[Hellstrom, I. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*

83:7059-7063 (1986)) 및 Hellstrom, I et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)]; 미국 특허 제5,821,337호(문헌[Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)] 참조). 대안적으로, 비방사능 검정 방법이 이용될 수 있다(예를 들어, 유세포계산법에 대한 ACTI(상표명) 비방사능 세포독성 검정(CellTechnology, Inc.(캘리포니아주 마운틴 뷰)); 및 CYTOTOX 96(등록상표) 비방사능 세포독성 검정(Promega(위스콘신주 매디슨)) 참조). 이러한 검정에 대한 유용한 효과기 세포는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 및 천연 살해(NK) 세포를 포함한다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 관심 대상의 분자의 ADCC 활성은, 예를 들어, 문헌[Clynes et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)]에 개시된 것과 같은 동물 모델에서 생체내 평가될 수 있다. C1q 결합 검정은 항체가 C1q에 결합할 수 없고 그러므로 CDC 활성이 결여된다는 것을 확인하도록 또한 수행될 수 있다. 예를 들어, WO 제2006/029879호 및 WO 제2005/100402호에서 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 검정은 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg et al., *Blood*. 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg et al., *Blood*. 103:2738-2743 (2004)] 참조). FcRn 결합 및 생체내 청소율/반감기 결정은 당해 분야에 공지된 방법을 이용하여 또한 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Petkova et al. *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)] 참조).

[0481] 감소된 효과기 기능을 갖는 항체는 238, 265, 269, 270, 297, 327 및 329의 Fc 영역 잔기의 하나 이상의 치환을 갖는 것을 포함한다(미국 특허 제6,737,056호 및 제8,219,149호). 이러한 Fc 돌연변이체는 알라닌에 대한 265번 및 297번 잔기의 치환을 갖는 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 포함하는 265, 269, 270, 297 및 327번의 아미노산 위치의 2개 이상에서의 치환을 갖는 Fc 돌연변이체를 포함한다(US 특허 제7,332,581호 및 제8,219,149호).

[0482] FcR에 대한 개선된 또는 감소된 결합을 갖는 소정의 항체 변이체가 기재되어 있다. (예를 들어, 미국 특허 제6,737,056호; WO 제2004/056312호 및 문헌[Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)]을 참조한다.)

[0483] 소정의 경우에, 항체 변이체는 ADCC를 개선하는 하나 이상의 아미노산 치환, 예를 들어, Fc 영역의 298번, 333번 및/또는 334번 위치에서의 치환(잔기의 EU 넘버링)을 갖는 Fc 영역을 포함한다.

[0484] 몇몇 경우에, 예를 들어, US 특허 제6,194,551호, WO 제99/51642호 및 문헌[Idusogie et al. *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)]에 기재된 바와 같이, 변경된(즉, 개선된 또는 감소된) C1q 결합 및/또는 보체 의존적 세포독성(CDC)을 발생시키는 Fc 영역에서 변경이 이루어진다.

[0485] 태아로의 모계 IgG의 전달을 담당하는, 신생 Fc 수용체(FcRn)에 대한 개선된 결합 및 증가된 반감기를 갖는 항체(Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976) 및 Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994))는 US 제2005/0014934호 A1(Hinton 등)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 내부에 하나 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체는 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434의 Fc 영역 잔기의 하나 이상에서의 치환, 예를 들어, Fc 영역 434번 잔기의 치환을 갖는 것을 포함한다(US 특허 제7,371,826호).

[0486] Fc 영역 변이체의 다른 예에 관해 문헌[Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 제5,648,260; 미국 특허 제5,624,821호; 및 WO 제94/29351호를 또한 참조한다.

[0487] IV. 시스테인 조작된 항체 변이체

[0488] 소정의 경우에, 항체의 하나 이상의 잔기가 시스테인 잔기로 치환된 시스테인 조작된 항체, 예를 들어, "티오 MAb"를 생성하는 것이 바람직할 수 있다. 특정한 경우에, 치환된 잔기는 항체의 접근 가능한 부위에서 발생한다. 이 잔기를 시스테인으로 치환함으로써, 반응성 티올기는 이로써 항체의 접근 가능한 부위에 배치되고, 본 명세서에 추가로 기재된 바와 같이 면역접합체를 생성하도록 항체를 다른 모이어티, 예컨대, 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합시키도록 사용될 수 있다. 소정의 경우에, 하기 잔기의 임의의 하나 이상은 시스테인으로 치환될 수 있다: 경쇄의 V205(카바트 넘버링); 중쇄의 A118(EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400(EU 넘버링). 시스테인 조작된 항체는, 예를 들어, 미국 특허 제7,521,541호에 기재된 바와 같이 생성될 수 있다.

[0489] V. 항체 유도체

[0490] 소정의 경우에, 본 명세서에 제공된 항체는 당해 분야에 공지되고 용이하게 이용 가능한 추가적인 비단백질성 모이어티를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 항체의 유도체화에 적합한 모이어티는 수용성 중합체를 포함하지만, 이것으로 제한되지는 않는다. 수용성 중합체의 비제한적인 예는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG), 에틸렌 글라

이콜/프로필렌 글라이콜의 공중합체, 카복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1, 3-다이옥솔란, 폴리-1,3,6-트라이옥산, 에틸렌/말레산 언하이드라이드 공중합체, 폴리아미노산(단독중합체 또는 랜덤 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글라이콜, 프로프로필렌 글라이콜 단독중합체, 프롤리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올(예를 들어, 글라이세롤), 폴리비닐 알코올 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 폴리에틸렌 글라이콜 프로피온알데하이드는 물 중의 이의 안정성으로 인해 제조에서 이점을 가질 수 있다. 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지 또는 비분지될 수 있다. 항체에 부착된 중합체의 수는 변할 수 있고, 하나 초과 중합체가 부착되면, 이들은 동일한 또는 상이한 분자일 수 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용된 중합체의 수 및/또는 유형은 개선되어야 하는 항체의 특정한 특성 또는 기능, 항체 유도체가 한정된 조건하에 치료에 사용되는지 등(이들로 제한되지는 않음)과 같은 고려사항에 기초하여 결정될 수 있다.

[0491] 또 다른 경우에, 방사선에 대한 노출에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 항체 및 비단백질성 모이어티의 접합체가 제공된다. 일 경우에, 비단백질성 모이어티는 탄소 나노관이다(Kam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 임의의 과장을 가질 수 있고, 보통의 세포에 해가 아니지만, 비단백질성 모이어티를 항체-비단백질성 모이어티에 근위인 세포가 사멸되는 온도로 가열하는 과장을 포함하지만, 이것으로 제한되지는 않는다.

[0492] VI. 면역접합체

[0493] 본 발명은 또한 하나 이상의 세포독성제, 예컨대, 화학치료제 또는 약물, 성장 저해 물질, 독소(예를 들어, 단백질 독소, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소, 또는 이의 단편), 또는 방사능 동위원소에 접합된 본 명세서에서의 항체(예를 들어, 항-PD-L1 항체 또는 항-PD-1 항체)를 포함하는 면역접합체를 제공한다.

[0494] 일 경우에, 면역접합체는 항체가 하나 이상의 약물, 예를 들어, 메이탄시노이드(미국 특허 제5,208,020호, 제5,416,064호 및 유럽 특허 EP 제0 425 235호 B1 참조); 아우리스타틴, 예컨대, 모노메틸아우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF(MMAE 및 MMAF)(미국 특허 제5,635,483호 및 제5,780,588호 및 제7,498,298호 참조); 돌라스타틴; 칼리키아마인신 또는 이의 유도체(미국 특허 제5,712,374호, 제5,714,586호, 제5,739,116호, 제5,767,285호, 제5,770,701호, 제5,770,710호, 제5,773,001호 및 제5,877,296호; 문헌[Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993); 및 Lode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)] 참조); 안트라사이클린, 예컨대, 다우노마이신 또는 독소루비신(Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002); King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002); 및 미국 특허 제6,630,579호 참조); 메토트렉세이트; 빈데신; 탁산, 예컨대, 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀 및 오르타탁셀; 트라이초테센; 및 CC1065(이들로 제한되지는 않음)에 접합된 항체-약물 접합체(ADC)이다.

[0495] 또 다른 경우에, 면역접합체는 효소 활성 독소 또는 이의 단편, 예를 들어, 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A 사슬(슈도모나스 아에루기노사로부터의), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사르신, 알루리테스 포르디(Aleurites fordii) 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나(*Phytolaca americana*) 단백질(PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*momordica charantia*) 저해제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 저해제, 켈로닌, 미토켈린, 레스트릭토신, 페노마이신, 예노마이신 및 트라이코테센(이들로 제한되지는 않음)에 접합된 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다.

[0496] 또 다른 경우에, 면역접합체는 방사접합체를 형성하도록 방사능 원자에 접합된 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다. 다양한 방사능 동위원소는 방사접합체의 제조에 이용 가능하다. 예는 ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{212}Pb 및 Lu의 방사능 동위원소를 포함한다. 방사접합체가 검출에 사용될 때, 이것은 섬광조영술 연구를 위한 방사능 원자, 예를 들어, tc99m 또는 I123, 또는 핵 자기 공명(NMR) 영상화(자기 공명 영상화(mri)로도 공지됨)에 대한 스핀 표지, 예컨대, 다시 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 붐소-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망간 또는 철을 포함할 수 있다.

[0497] 항체 및 세포독성제의 접합체는 다양한 이작용성 단백질 커플링 물질, 예컨대, N-석신이미딜-3-(2-피리딜다이티오) 프로피오네이트(SPDP), 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카복실레이트(SMCC), 이미노티올란(IT), 이미도에스터의 이작용성 유도체(예컨대, 다이메틸 아디피미데이트 HCl), 활성 에스터(예컨대, 다이석

신이미딜 수베레이트), 알데하이드(예컨대, 글루타르알데하이드), 비스-아지도 화합물(예컨대, 비스(p-아지도벤조일) 헥사다이아민), 비스-다이아조늄 유도체(예컨대, 비스-(p-다이아조늄벤조일)-에틸렌다이아민), 다이아이소사이아네이트(예컨대, 톨루엔 2,6-다이아이소사이아네이트), 및 비스-활성 불소 화합물(예컨대, 1,5-다이플루오로-2,4-다이나이트로벤젠)을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌[Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지화된 1-아이소티오시아네이트벤질-3-메틸다이에틸렌 트라이아민펜타아세트산(MX-DTPA)은 항체에 대한 라디오뉴클레오타이드의 접합에 대한 예시적인 킬레이트제이다. WO 제94/11026호를 참조한다. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 촉진하는 "절단 가능한 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산 불안정 링커, 펩티다제 민감 링커, 광불안정 링커, 다이메틸 링커 또는 다이설파이드 함유 링커(Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992); 미국 특허 제5,208,020호)를 사용할 수 있다.

[0498] 본 명세서에서 면역접합체 또는 ADC는 가교결합체 시약, 예를 들어, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 설포-EMCS, 설포-GMBS, 설포-KMUS, 설포-MBS, 설포-SIAB, 설포-SMCC, 설포-SMPB 및 SVSB(석신이미딜-(4-비닐설폰)벤조에이트)((예를 들어, Pierce Biotechnology, Inc.(미국 일리노이주 록퍼드)로부터) 상업적으로 구입 가능)(이들로 제한되지는 않음)로 제조된 이러한 접합체를 명확히 고려하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0499] V. 약제학적 제형

[0500] 면역 관문 저해제, 예를 들어, 본 발명에 따라 사용된 PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체(예를 들어, MPDL3280A)) 및 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체))의 치료학적 제형은 동결건조된 제형 또는 수성 용액의 형태로 원하는 정도의 순도를 갖는 길항제를 선택적인 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합함으로써 저장에 대해 제조된다. 제형에 관한 일반적인 정보에 대해, 예를 들어, 문헌[Gilman et al. (eds.) *The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 8th Ed., Pergamon Press, 1990; A. Gennaro (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, Mack Publishing Co., Pennsylvania, 1990; Avis et al. (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications* Dekker, New York, 1993; Lieberman et al. (eds.) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* Dekker, New York, 1990; Lieberman et al. (eds.), *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems* Dekker, New York, 1990; 및 Walters (ed.) *Dermatological and Transdermal Formulations* (Drugs and the Pharmaceutical Sciences), Vol 119, Marcel Dekker, 2002]을 참조한다.

[0501] 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투약량 및 농도에서 수혜자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대, 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기 산; 항산화제, 예를 들어, 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(예컨대, 옥타데실다이메틸벤질 염화암모늄; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레솔); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 라이신; 당류, 이당류, 및 다른 탄수화물, 예를 들어, 글루코스, 만노스 또는 덱스트린; 킬레이트제, 예컨대, EDTA; 당, 예컨대, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염 형성 반대 이온, 예컨대, 나트륨; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대, TWEEN(상표명), PLURONICS(상표명), 또는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG)을 포함한다.

[0502] 본 명세서에서 제형은 또한 하나 이상의 활성 화합물, 바람직하게는 서로 부정적으로 영향을 주지 않는 상보성 활성을 갖는 것을 함유할 수 있다. 이러한 약제의 유형 및 유효량은, 예를 들어, 제형에 존재하는 길항제의 양 및 유형, 및 대상체의 임상 매개변수에 따라 달라진다.

[0503] 활성 성분은 또한 각각, 콜로이드성 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포솜, 알부민 미소구체, 마이크로에멀션, 나노입자 및 나노캡슐)에서 또는 마크로에멀션에서, 예를 들어, 코아세르베이션 기법 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어, 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐에 포획될 수 있다. 이러한 기법은 문헌[*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0504] 지속 방출 조제는 제조될 수 있다. 지속 방출 조제의 적합한 예는 길항제를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 매트릭스는 성형품, 예를 들어, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속 방출

매트릭스의 예는 폴리에스터, 하이드로겔(예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐 알코올)), 폴리락타이드(미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산 및 γ 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글라이콜산 공중합체, 예컨대, LUPRON DEPOT(상표명)(락트산-글라이콜산 공중합체 및 류프롤라이드 아세테이트로 이루어진 주사용 미소구체) 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다.

[0505] 생체내 투여에 사용되는 제형은 무균이어야 한다. 이것은 무균 여과 막을 통해 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0506] 임의의 상기 제조 물질이 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제 대신의 또는 이것 이외의 본 명세서에 기재된 면역접합체를 포함할 수 있다고 이해되어야 한다.

[0507] VI. 진단학적 키트 및 제조 물질

[0508] 개체로부터의 샘플(예를 들어, 전혈 샘플, 혈장 샘플, 혈청 샘플, 또는 이들의 조합)로부터, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수, 또는 bTMB 점수 및 최대 체세포 대립유전자 빈도(MSAF)를 결정함으로써 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제를 포함하는 치료로부터의 이익을 얻을 수 있는, 암(예를 들어, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암(NSCLC)), 신장암(예를 들어, 신장 요로상피 암종), 방광암(예를 들어, 방광 요로상피(전이성 세포) 암종), 유방암, 결장직장암(예를 들어, 결장 선암), 난소암, 췌장암, 위 암종, 식도암, 중피종, 흑색종(예를 들어, 피부 흑색종), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)), 갑상선암, 육종(예를 들어, 연조직 육종, 섬유육종, 혼합육종, 지방육종, 골원성 육종, 골육종, 연골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피종, 평활근육종 또는 횡문근육종), 전립선암, 교모세포종, 자궁경부암, 흉선 암종, 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수구성 백혈병(AML), 만성 골수구성 백혈병(CML), 만성 호산구성 백혈병 또는 만성 림프구성 백혈병(CLL)), 림프종(예를 들어, 호지킨 림프종 또는 비호지킨 림프종(NHL)), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종(MM)), 균상식육종, 머켈 세포 암, 혈액학적 악성종양, 혈액 조직의 암, B 세포 암, 기관지암, 위암, 뇌 또는 중추 신경계 암, 말초 신경계 암, 자궁암 또는 자궁내막암, 구강 또는 인두의 암, 간암, 고환암, 담도암, 소장암 또는 맹장암, 침샘암, 부신암, 선암, 염색성 근섬유아세포 종양, 위장 기질 종양(GIST), 결장암, 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 장애(MPD), 진성 다혈증, 적색종, 윤회막종, 유잉 종양, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암, 땀샘 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암, 수질 암종, 기관지원성 암종, 신장 세포 암종, 간세포 암, 담도 암종, 융모암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름스 종양, 방광암종, 상피 암종, 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관아세포종, 천신경종, 핏지교종, 뇌수막종, 신경모세포종, 망막모세포종, 여포성 림프종, 미만성 대형 B 세포 림프종, 외투 세포 림프종, 간세포 암종, 갑상선암, 소세포 암, 본태성 고혈소관증, 원인불명 골수성 화생, 과다호산구성 증후군, 전신 비만세포증, 가족성 호산구증가증, 신경내분비 암 또는 카르시노이드 종양)을 갖는 개체를 식별하기 위한 하나 이상의 시약을 포함하는 진단학적 및 예후적 키트가 본 명세서에 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 키트는 개체로부터의 샘플(예를 들어, 종양 샘플)로부터 tTMB 점수를 결정하기 위한 하나 이상의 시약을 더 포함한다.

[0509] 선택적으로, 키트는 개체로부터의 샘플로부터 얻은 bTMB 점수가 기준 bTMB 점수보다 높은 경우 암을 치료하기 위해 약제(예를 들어, 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, MPDL3280A)), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 선택하도록 키트를 사용하기 위한 설명서를 더 포함할 수 있다. 또 다른 경우에, 설명서는 개체로부터의 샘플로부터 획득된 bTMB 점수가 기준 bTMB 점수보다 낮은 경우 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제가 아니거나 이것 이외의 항암 치료제를 선택하도록 키트를 사용하는 것이다. 몇몇 경우에, 키트는 개체로부터의 샘플로부터 결정된 bTMB 점수 및 MSAF의 조합에 기초하여 암을 치료하기 위한 약제를 선택하기 위해 키트를 사용하기 위한 설명서를 더 포함할 수 있다. 몇몇 경우에, 키트는 개체로부터의 샘플로부터 결정된 bTMB 점수 및 개체로부터의 종양 샘플로부터 결정된 tTMB 점수의 조합에 기초하여 암을 치료하기 위한 약제를 선택하기 위해 키트를 사용하기 위한 설명서를 더 포함할 수 있다.

[0510] 함께 패키징된, 약제학적으로 허용 가능한 담체에서 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합, 및 면역 관문 저해제가 체세포 돌연변이의 존재에 기초하여 본 명세서에 기재된 바와 같이 암을 앓는 환자를 치료하기 위한 것이라는 것을 나타내는 패키지 인서트를 포함하는 제조 물질이 본 명세서에 또한

제공된다. 치료 방법은 본 명세서에 개시된 임의의 치료 방법을 포함한다. 본 발명은 또한 패키지에서 면역 관문 저해제, 예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체), 동시저해 분자에 대해 지향된 길항제(예를 들어, CTLA-4 길항제(예를 들어, 항-CTLA-4 항체), TIM-3 길항제(예를 들어, 항-TIM-3 항체) 또는 LAG-3 길항제(예를 들어, 항-LAG-3 항체)), 또는 임의의 이들의 조합을 포함하는 억제학적 조성물, 및 개체로부터의 샘플로부터 획득된 bTMB 점수에 기초하여 질환 또는 장애를 갖는 환자를 치료하기 위한 것이라는 것을 나타내는 패키지 인서트를 조합한 제조 물품을 제조하는 방법에 관한 것이다. 몇몇 실시형태에서, 패키지 인서트는 개체로부터의 샘플로부터 획득된 bTMB 점수 및 개체로부터의 종양 샘플로부터 획득된 tTMB 점수에 기초하여 질환 또는 장애를 갖는 환자를 치료하기 위한 것이라는 것을 나타낸다.

[0511] 제조 물품은, 예를 들어, 컨테이너 및 컨테이너 상의 또는 이와 연관된 표지 또는 패키지를 포함할 수 있다. 적합한 컨테이너는, 예를 들어, 병, 바이알, 주사기 등을 포함한다. 컨테이너는 다양한 재료, 예컨대, 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 컨테이너는 활성 물질로서 암 약제를 함유하는 조성물을 보유하거나 함유하고, 무균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 컨테이너는 피하 주사 침이 관통할 수 있는 스톱퍼를 갖는 정맥 내 용액 백 또는 바이알 일 수 있음).

[0512] 제조 물품은 억제학적으로 허용 가능한 희석제 완충제, 예컨대, 정균성 주사용수(BWFI), 인산염 완충 식염수, 링거액, 및/또는 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 컨테이너를 더 포함할 수 있다. 제조 물품은 상업용 및 사용자 관점으로부터 바람직한 다른 재료, 예를 들어, 다른 완충제, 희석제, 필터, 침 및 주사기를 더 포함할 수 있다.

[0513] 본 발명의 제조 물품은 또한 조성물이 본 명세서에서 체세포 돌연변이(들)의 존재에 기초하여 및/또는 바이오마커의 발현(예를 들어, 종양 세포 및/또는 종양 침윤 면역 세포에서, 예를 들어, PD-L1 발현 수준)에 기초하여 암을 치료하기 위해 사용된다는 것을 나타내는, 예를 들어, 패키지 인서트의 형태의 정보를 포함한다. 인서트 또는 표지는 임의의 형태, 예컨대, 종이 또는 전자 매체 상, 예컨대, 자기 기록된 매체(예를 들어, 플로피 디스크), CD-ROM, 유니버설 시리얼 버스(Universal Serial Bus: USB) 플래시 드라이브 등을 취할 수 있다. 표지 또는 인서는 키트 또는 제조 물품에서 억제학적 조성물 및 투여형에 관한 다른 정보를 또한 포함할 수 있다.

[0514] 실시예

[0515] 하기는 본 발명의 방법의 실시예이다. 상기 제공된 일반 설명을 고려하여 다양한 다른 실시형태가 실행될 수 있다고 이해된다.

[0516] 실시예 1. 방법

[0517] 혈액 기반 검정은, 아테졸리주맵이 단일치료로서 투여된, II상 임상 시험, POPLAR(임상 시험 번호: NCT01903993) 및 III상 임상 시험, OAK(임상 시험 번호: NCT02008227)인, 2개의 임상 시험에 등록된 비소세포 폐암(NSCLC)을 갖는 환자에서 아테졸리주맵(MPD3280A)에 의한 치료에 대한 임상 반응과 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 점수 사이의 연관을 평가하도록 사용되었다.

[0518] 연구 설계

[0519] 아테졸리주맵이 단일치료로서 투여된 POPLAR 및/또는 OAK 연구에서 등록된 NSCLC를 갖는 환자로부터의 치료전 혈액 샘플은 bTMB 점수 및/또는 최대 체세포 대립유전자 빈도(MSAF)에 대해 평가되었다.

[0520] bTMB 점수에 대해 평가된 POPLAR(임상 시험 번호: NCT01903993) 환자 집단은 273명의 환자로 이루어졌다. 환자는 국소 진행성 또는 전이성(예를 들어, IIIB 단계, IV 단계 또는 재발성) 비소세포 폐암(NSCLC); 국소 진행된, 절제 불가능한/수술 불가능한 또는 전이성 NSCLC에 대한 선행의 백금 함유 요법에 의한 치료 동안의 또는 이후의 질환 진행 또는 백금 기반 애주번트/네오애주번트 요법에 의한 치료의 6개월 내의 질환 재발; RECIST v1.1에 의해 정의된 바와 같은 측정 가능한 질환; 및 0 또는 1의 동부 종양학 협력 그룹(Eastern Cooperative Oncology Group: ECOG) 성능 상태를 갖는 경우 POPLAR 연구의 등록에 적격이었다. 참가자는 3주마다 정맥내로 1200mg 또는 3주마다 정맥내로 75mg/제곱미터(mg/m^2)의 도세탁셀의 용량으로 아테졸리주맵을 받도록 무작위화되었다. 아테졸리주맵에 의한 치료는 참가자가 임상 이익을 경험하는 한, 즉 허용 불가능한 독성 또는 질환 진행에 기인한 증상적 악화가 부재한 한 계속될 수 있다.

[0521] bTMB 점수에 대해 평가된 OAK(임상 시험 번호: NCT02008227) 환자 집단은 583명의 환자로 이루어졌다. 환자는 국소 진행성 또는 전이성(예를 들어, IIIB 단계, IV 단계 또는 재발성) NSCLC; 국소 진행된, 절제 불가능한/수술 불가능한, 또는 전이성 NSCLC에 대한 선행의 백금 함유 요법에 의한 치료 동안의 또는 이후의 질환 진행 또

는 백금 기반 애쥬번트/네오애쥬번트 요법에 의한 치료의 6개월 내의 질환 재발; RECIST v1.1에 의해 정의된 바와 같은 측정 가능한 질환; 및 0 또는 1의 ECOG 성능을 갖는 경우 OAK 연구의 등록에 적격이었다. 참가자는 3주마다 정맥내로 1200mg 또는 3주마다 정맥내로 75mg/제곱미터(mg/m^2)의 도세탁셀의 용량으로 아테졸리주맙을 받도록 무작위화되었다. 아테졸리주맙에 의한 치료는 참가자가 임상 이익을 경험하는 한, 즉 허용 불가능한 독성 또는 질환 진행에 기인한 증상적 악화가 부재한 한 계속될 수 있다.

[0522] POPLAR 및 OAK 둘 다는 임상 시험 기준(Good Clinical Practice) 및 헬싱키 선언(Declaration of Helsinki)에 대한 가이드라인을 완전히 따라서 수행되고, 및 모든 환자는 서면 동의가 주어졌다. 프로토콜 허가는 연구 둘 다에 대해 각각의 참여 지역에 대한 독립 윤리 위원회(ethics committees)로부터 얻었다.

[0523] bTMB의 분석은 후향적으로 수행되었다. 무진행 생존율(PFS)은 무작위의 날짜와 RECIST v.1.1을 이용하여 조사자가 평가한 바와 같은 제1 기록된 질환 진행의 날짜 또는 임의의 원인으로부터의 사망(어느 것이든 처음에 일어나는 것) 사이의 시간으로 정의된다. 전체 생존율(OS)은 임의의 원인으로부터의 사망까지의 무작위의 날짜 사이의 시간으로 정의된다. 치료 아암은 바이오마커 평가 가능한 집단(BEP) 및 이의 하위그룹에서 계층화가 없는 일변수 Cox 회귀 모델을 이용하여 또는 ITT 집단에서 (무작위 계층화 인자에 의해) 계층화된 Cox 모델을 이용하여 개별적으로 OS 및 PFS에 대해 비교되었다. 다중도 보정은 p-값 또는 신뢰도 간격(CI)으로 적용되지 않았다. 카플란-마이어 방법론은 중앙치 OS 및 PFS 및 작제물 생존율 곡선을 예측하도록 이용되었다.

[0524] 각각의 연구에 대해 BEP를 구성한 환자는 하기와 같이 정의되었다:

[0525] OAK ITT 집단(N = 850)에서, 797개의 샘플은 분석에 이용 가능하였다. 이들 샘플 중에서, 13명은 1% 초과 샘플 오염에 대해 제거되고; 42개는 중앙치 엑손 커버리지 <800X에 대해 제거되고; 100개는 낮은 MSAF <1%에 대해 제거되었다.

[0526] OAK BEP(N = 642)는 EGFR 돌연변이 또는 ALK 재배열을 갖는 59명의 환자, 및 공지된 변경이 없는 583명의 환자를 포함하였다.

[0527] POPLAR ITT 집단(N = 287)에서, 273개의 샘플은 분석에 이용 가능하였다. 이들 중에서, 6개는 1% 초과 샘플 오염에 대해 제거되고; 9개는 중앙치 엑손 커버리지 <800X에 대해 제거되고; 47개는 낮은 MSAF <1%에 대해 제거되었다.

[0528] POPLAR BEP(N = 211)는 EGFR 돌연변이 또는 ALK 재배열을 갖는 15명의 환자, 및 공지된 변경이 없는 196명의 환자를 포함하였다.

[0529] 이들 2개의 실험의 효율 결과는 실시예 2에서 표 8 및 표 9에 요약되어 있다.

[0530] **혈장 분리 및 무세포 DNA(cfDNA) 추출**

[0531] 임상 샘플은 -80°C에서 저장된 동결된 혈장으로서 수취되었다. 혈장은 해동되고, 제2 원심분리는 4°C에서 20분 동안 16,000 x g에서 수행되고, 이후에 상청액은 cfDNA 추출에 사용되는 혈장으로서 수집되었다. 혈장은 60°C에서 20분 동안 프로테이게나제 K로 처리되고, cfDNA 결합 용액(Thermo Scientific(매사추세츠 왈탐))의 1.25x 용적 및 500ng/ml의 상자성 MYONE(상표명) 실란 비드(Thermo Scientific)와 혼합되었다. 비드는 cfDNA 세척 용액(Thermo Scientific)으로 2회 세척되고, 80% 에탄올로 2회 세척되고, cfDNA 용리 용액(Thermo Scientific) 중에 용리되었다. cfDNA 농도는 100 내지 700 염기 쌍의 단편에 집중함으로써 4200 TapeStation(Agilent Technologies)에서 D1000 ScreenTape 검정을 이용하여 결정되었다. 20 내지 100ng의 cfDNA는 라이브러리 작제에 사용되었다.

[0532] **라이브러리 작제**

[0533] 라이브러리 작제는 라이브러리 수율 및 복잡성을 최대화하기 위해 "비드 함유(with-bead)" 프로토콜을 이용하여 말단-보수, dA 첨가 및 결찰에 대한 혼합을 함유하는 NEBNext(등록상표) 라이브러리 제조 시약(New England BioLabs Inc.)을 갖는 BRAVO(상표명) Benchbot(Agilent Technologies) 자동화 시스템에서 수행되었다. 일련의 특정한 설계된 단편-수준 인덱싱된 어댑터는 각각의 유입된 듀플렉스 cfDNA 단편의 말단 둘 다에 무작위로 결찰되었다. 결찰된 서열분석 라이브러리는 고충실도 중합효소(Kapa Biosystems(매사추세츠 윌밍턴))로 10회 사이클 동안 보편적 PCR 프라이머 및 인덱싱된 PCR 프라이머로 PCR 증폭되고, 1.8x SPRI 정제되고, PICOGREEN(등록상표) DNA 정량화 용액(Invitrogen)에 의해 정량화되었다. 500 내지 2,000ng의 서열분석 라이브러리를 생성시키는 샘플은 하이브리드 포획으로 진행되었다.

[0534] 패널 설계, 하이브리드 포획 및 서열분석

[0535] 용액 혼성화는 개별적으로 합성된 5' 바이오틴화 ssDNA 올리고뉴클레오타이드 "베이트(bait)" (검정 베이트세트 버전 T7) (Integrated DNA Technology)의 풀의 50배 초과와 물 초과를 이용하여 수행되었다. 베이트세트는 인간 게놈의 1.125개의 암호화 메가염기(Mb)를 표적화하였다. 베이트 설계 및 혼성화 포획은, 혼성화 완충제로 베이트 세트의 최종 첨가물, 인간 Cot-1 DNA, 잘린 연어 정자 DNA, 및 어댑터 특이적 차단 올리고뉴클레오타이드로 동결건조된 서열분석 라이브러리의 500 내지 2,000ng을 사용하여 수행되고, 물 중에 현탁되고, 95°C에서 5분 동안 열 변성되고, 68°C에서 항온처리되었다. 혼성화 반응은 68°C에서 12 내지 24시간 동안 항온처리되고, 라이브러리-베이트세트 듀플렉스는 상자성 MYONE(상표명) 스트랩타비딘 비드(Invitrogen)에서 포획되었다. 오프 타겟 라이브러리는 25°C에서 1x 식염수-나트륨 시트레이트(SSC) 완충제로 1회 및 55°C에서 0.25x SSC로 4회 세척함으로써 제거되었다. PCR 마스터 믹스(Kapa Biosystems)는 포획된 라이브러리를 증폭시키도록 비드에 직접 첨가되었다. 샘플은 PICOGREEN(등록상표)(Invitrogen)에 의해 정제되고 정량화된 1.8x 고상 리버스 부동화(SPRI)였다. 라이브러리는 1.05nM으로 정규화되고, 혼주되고, 유세포에 직접적으로 주형 연장 반응에 대한 Illumina cBot에 로딩되고, 이것은 2 x 151bp를 갖는 Illumina HISEQ(등록상표) 4000(Illumina)에 로딩되었다.

[0536] 아테졸리주맙의 bTMB 점수 및 효율의 분석

[0537] 체세포 돌연변이를 확인하고 bTMB 점수를 계산하기 위해, (EDTA 또는 Streck 관에서 수집된) 각각의 환자로부터의 전혈 샘플은 무세포 DNA(cfDNA)가 서열분석 분석을 위해 추출되는 혈장을 분리시키기 위해 일련의 스핀을 통해 처리되었다. 구체적으로, 적어도 20ng의 정제된 cfDNA는 라이브러리 작제를 위해 사용되었다. 단편 바코드 및 하이브리드 포획을 사용한 차세대 서열분석 라이브러리는 대략 1.125Mb의 엑솜을 커버하는 394개의 유전자의 미리 결정된 세트를 분석하고 서열분석하도록 작제되었다. 구체적으로, 정제된 라이브러리는 394-유전자 베이트 세트를 사용하여 하이브리드 포획되고, 이어서 추가로 정제되고, 혼주되고 ILLUMINA(등록상표) HISEQ(등록상표) 4000 서열분석 시스템에 로딩되었다. 서열분석된 라이브러리는 정렬되고 분류되었다. 낮은 대립유전자 빈도에서 변이체를 정확히 호출하고, 서열분석, PCR 또는 DNA 손상 관련된 오차로부터의 인위 결과를 최소화하기 위해, 서열분석된 라이브러리는 단편 바코드의 사용을 통해 오차를 보정한 cfDNA 컴퓨터 파이프라인에 의해 처리되었다. 간단히, 단편 바코딩된 오차 보정은 각각의 샘플에서의 대부분의 DNA 단편에 대한 다수의 관찰을 얻도록 충분히 높은 깊이로 서열분석에 의해 그리고 라이브러리 제조 및 서열분석 동안 도입된 오차를 정확히 검출하고 배제하도록 단편 바코드를 사용하여 수행되었다. 오차 보정된 판독은 hg19 기준 게놈으로 정렬되고, 염기 치환은 호출되었다. 라이브러리 크기는 문헌[Chalmers et al. (*Genome Medicine*. 9(34), 2017)]에 기재된 방법론에 따라 The Cancer Genome Atlas(TCGA)로부터의 전장 엑솜 서열(WES) 데이터를 이용하여 계산된 bTMB 점수의 비교 분석으로부터 기초하였다. 이 분석에서, 엑솜의 0.5Mb 또는 1.0Mb를 다루는 서열 데이터를 이용하여 계산된 10의 bTMB 점수는 WES 데이터를 이용하여 계산된 10의 bTMB 점수로부터 각각 오직 20% 또는 10%만큼 벗어나는 것으로 관찰되었다. 이 분석은 코딩 게놈의 약 0.5Mb를 표적화하는 서열분석 라이브러리가 전장 엑솜의 서열분석과 비교된 bTMB를 정확히 평가할 수 있다는 것을 나타냈다.

[0538] bTMB 점수는 체세포, 코딩, 염기 치환의 수로 측정되었다. 동의 변형을 포함하는 표적화된 유전자의 모든 코딩 영역에서의 염기 치환은 하기에 기재된 바와 같이 여과 전에 초기에 계수되었다. 비코딩 변형은 계수되지 않았다. COSMIC 데이터베이스(Forbes et al. (2014) *Nucl. Acids Res.* 43:D805-11)에서 공지된 체세포 변형에 기재된 변형 및 종양 억제자 유전자에서의 절두는 계수되지 않았다. 체세포-생식선-접합성(somatic-germline-zygosity: SGZ) 알고리즘에 의해 생식선인 것으로 예측된 변형은 계수되지 않았다(Sun et al. *Cancer Research* 2014; 74(19S):1893-1893). SGZ 방법은 아마도 체세포 또는 생식선으로서 변이체의 상태를 규명하도록 게놈-와이드 카피수 및 종양/정상 혼합물의 통계 모델을 이용한다. 남은 돌연변이는 포획에 사용된 유전자와 연관된 바이어스를 최소화하도록 이의 예측된 드라이버 상태에 따라 추가로 여과되었다. 평가된 임상 시험의 코호트로서 생식선인 것으로 재발하여 예측된 변형은 계수되지 않았다. dbSNP 데이터베이스(Sherry et al. (2001) *Nucleic Acids Res.* 29(1):308-11)에 기재된 공지된 생식선 변형은 계수되지 않았다.

[0539] Exome Aggregation Consortium(ExAC) 데이터베이스에서 2개 이상의 계수치로 발생하는 생식선 변형은 계수되지 않았다(Lek et al. *Nature* 2016; 536:285-91). 추가적으로, 암에서 공지된 또는 아마도 드라이버 돌연변이인 것으로 간주되는 염기 치환은 유전자 패널과 연관된 바이어스를 계수하도록 bTMB 계산으로부터 제거되었다.

[0540] ctDNA의 전체 양을 예측하고 MSAF를 계산하기 위해, 각각의 환자로부터 수득된 혈액 샘플에서의 체세포 돌연변이는 상기에 기재된 바와 같이 확인되었다. 샘플에 대해 20% 미만인 가장 흔히 생기는 대립유전자(예를 들어, 체세포 돌연변이를 갖는 유전자 변이체)의 빈도는 이어서 MSFA로서 확인되었다.

- [0541] BEP는 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 환자로서 정의되었다. 하기 실시예 중 몇몇에서, BEP는 기준 bTMB 점수 및 미리 결정된 MSAF이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 환자로서 정의되거나, 오직 미리 결정된 MSAF를 갖는 환자로서 정의되었다.
- [0542] 분석 검증
- [0543] bTMB 검정의 분석 검증의 일부로서, 합치 분석은 분할되고 검정 둘 다에 의해 분석된, 비실험 샘플(N=69)의 독립적인 코호트를 사용하여 본 명세서에 기재된 이전에 검증된 FOUNDATIONONE(등록상표) TMB 방법 및 bTMB 방법 사이에 수행되었다.
- [0544] 혈액 종양 돌연변이 부담(bTMB) 검정의 분석 검증은 각각 bTMB 계수치 및 상태, 및 MSAF의 정확성 및 신뢰도 둘 다의 확립에 집중하였다. bTMB 계수치는 394개의 유전자(약 1.1Mb)의 코딩 영역에 걸쳐 0.5% 이상의 대립유전자 빈도로 존재하는 모든 염기 치환을 확인하고, dbSNP 및 ExAC 데이터베이스에 대해 비교함으로써 생식선 사건을 필터링함으로써 결정되었다. 추가적으로, 이들 데이터베이스에서 발견되지 않은 희귀 생식선 사건은 생식선 상태 확률을 배정하는 카피수 모델링을 이용하는 체세포-생식선 집합성 알고리즘을 이용하여 제거되었다(문헌[Sun et al. *PLoS Computational Biology* 14(2): e1005965, 2018] 참조). 남은 돌연변이는 포획에 사용된 유전자와 연관된 바이어스를 최소화하도록 이의 예측된 드라이버 상태에 따라 추가로 여과되었다. MSAF에 의한 종양 분획의 예측은, 이의 드라이버 상태에 무관하게, 20% 미만의 확인된 체세포 염기 치환에 대해 가장 높은 대립유전자 분획에 따라 정의된다. 이 한계치는 예측에 영향을 미치는 매우 이수체인 종양에서 희귀 생식선 사건의 기회를 최소화하도록 선택되었다.
- [0545] 이전에 분석적으로 검증된 FOUNDATIONACT(등록상표)에 대해 bTMB에서의 변이체 대립유전자 빈도 쿨의 일치도는 하기와 같이 평가되었다. 양의 백분율 합치(PPA) 또는 민감도는 FOUNDATIONACT(등록상표) 검정에 의해 검출된 변이체의 수에 대한 bTMB 검정 및 FOUNDATIONACT(등록상표) 둘 다에 의해 검출된 변이체의 수를 나눔으로써 측정되었다. 양의 예측적 값(PPV)은 bTMB 검정으로 검출된 변이체의 수로 bTMB 검정 및 FOUNDATIONACT(등록상표) 둘 다에 의해 검출된 변이체의 수를 나눔으로써 측정되었다. PPA 및 PPV 둘 다는 검정 둘 다에 의해 표적화된 영역으로 제한되고, 이것은 FOUNDATIONACT(등록상표) 검정에 의해 커버된 영역이다.
- [0546] bTMB의 정확성은 직각으로 검증된 방법(FOUNDATIONONE(등록상표) TMB)에 대해 평가되었다, 이것은 TMB의 전장 엑스 서열분석 측정과 잘 상관하는 것으로 이전에 나타났다. 비교성은 PPA 및 음의 백분율 합치(NPA) 둘 다를 평가함으로써 확립되었다. 추가적으로, MSAF 값은 희석 시리즈에서 예상된 값에 대해 관찰된 값을 비교함으로써 정확성에 대해 평가되었다.
- [0547] bTMB 계수치(점수)의 정확성은 23개의 그룹에 걸쳐 77개의 전체 샘플의 평균 변동 계수(CV)를 측정함으로써 확립되었고, bTMB 계수치는 비소세포 폐암(NSCLC)을 갖는 환자에서 관찰된 임상적으로 의미 있는 범위(0 내지 34 돌연변이)에 이른다. 각각의 복제물 그룹 내에, 샘플은 대부분의 쿨에 대해 평가되고, 16 이상의 bTMB 점수에 따라 재현 가능하게 계산되었다. MSAF에 대한 정확성은 38개의 그룹에 걸쳐 127개의 복제 샘플로부터 유사하게 계산되었고, 신뢰도는 신뢰성 있고 정확한 bTMB 쿨을 만들기 위해 cfDNA 샘플에서 1% 이상의 MSAF의 품질 관리 기준에 따라 결정되었다.
- [0548] MSAF 값의 정확성을 평가하기 위해, 6개의 상이한 암 기준 세포주로부터 추출된 DNA는 0.1% 내지 20%의 MSAF 값의 범위를 반영하도록 비종양 세포주로부터의 DNA로 희석되었다. MSAF의 정확성은 모든 6개의 세포주에 걸쳐 관찰된 및 예상된 값으로부터 선형 회귀를 평가함으로써 결정되고, 결정 계수(R^2)는 각각의 각자의 세포주에 대해 계산되었다. 평균 R^2 값은 모든 6개의 측정으로부터 컴퓨팅되었다(표 3).

표 3

회석 시리즈에서 6 개의 세포주에 걸쳐 예상된 값 대 관찰된 값을 비교하는 MSAF 의 정확성

AGS	0.96
HCC-1599	0.99
NCI-H146	0.98
NCI-H2009	1.00
NCI-H727	0.96
TUR	0.96

MSAF, 최대 체세포 대립유전자 빈도.

* 피어슨 상관관계 계수.

[0549]

[0550]

조직으로부터의 종양 돌연변이 부담(tMB)은 문헌[Frampton et al. *Nat. Biotechnol.* 31:1023-1031, 2013]에 기재된 바와 같이 FOUNDATIONONE(F1) 검정을 이용하여 POPLAR 및 OAK 연구로부터의 포르말린 고정된 파라핀 포매된(FFPE) 조직 샘플에서 포괄적인 게놈 프로파일링이 수행된 후 결정되었다. 종양 순도는 (대조군에 대한) 게놈에 걸친 커버리지 및 단일-뉴클레오타이드 다형성(SNP) 대립유전자 빈도에 기초한 카피-수 모델로부터 컴퓨터로 도출되었다(상기 Frampton 등의 문헌). tMB는 이전에 기재된 바와 같이(Chalmers et al. *Genome Med.* 9:34-017-0424-2, 2017) 공지된 및 아마도 종양발생 드라이버 사건 및 생식선 SNP의 제거 후 5% 이상의 대립유전자 빈도로 검출된 삽입 및 결실(인델) 및 체세포, 코딩, 단일-뉴클레오타이드 변이체(SNV)의 수로 정의되었다. 인공물 제거는 정상인 FFPE 조직으로부터 포함된 인공물 데이터베이스와의 비교 및 이전에 기재된 바와 같이 스트랜드 바이어스에 대한 컴퓨터 필터링에 의해 수행되었다(상기 Frampton 등).

[0551]

혈액 기반 TMB(bTMB) 검정은 F1 TMB 시험으로서 정확한 동일한 혼성화 포획 패널을 사용하고, 이것은 게놈에서의 1.1Mb의 코딩 영역을 포함한다. 이 패널은 문헌[Chalmers et al. *supra*. While Chalmers et al. mention 315 유전자]에 자세히 기재되어 있고, 이 번호는 F1 시험에서 암과 연관된 특이적 변경을 보고하기 위해 사용되는 유전자를 지칭한다. F1 보고서에 포함되지 않고 따라서 Chalmers 문헌에 기재되지 않은 관심 대상의 고려된 탐색적 유전자인 Chalmers 등이 기재한 기술에 포함된 추가적인 79개의 유전자가 있다. 그러나, Chalmers 연구에서 사용된 베이트 세트, 1.1Mb)는 여기에 기재된 베이트 세트와 동일하다. 완전 1.1Mb는 이 연구에서 bTMB의 계산에 사용되었다.

[0552]

bTMB 점수의 정확성은 FOUNDATIONONE(등록상표)(F1) 흐름도의 일부인 직각으로 검증된 방법을 이용하여 호출 TMB ≥ 10 또는 ≥ 16 의 합치를 평가함으로써 확립되었다. 이 방법은 bTMB 검정에 기재된 것과 유사한 실험실 흐름도를 이용하지만, 그 공정은 20% 이상의 종양 함량을 갖는 포르말린 고정된 파라핀 포매된 조직 샘플에 대해 조직화되었다. 더구나, bTMB 컴퓨터 분석은 2개의 방식으로 조직 기반 TMB(tTMB) 계산으로부터 다르다: 처음에, 혈액 기반 검정은 bTMB를 결정하기 위해 오직 단일-뉴클레오타이드 변이체(SNV) 콜을 사용하는 한편, tTMB 검정은 SNV 및 삽입 또는 결실 둘 다를 이용하고; 둘째로, bTMB 컴퓨터 파이프라인 tTMB와 비교하여 훨씬 더 낮은 대립유전자 빈도(0.5%) 아래로 SNV를 호출한다. 따라서, 파이프라인 둘 다에 걸쳐 분석된 동일한 차세대 서열분석(NGS) 데이터는 주어진 샘플에서 유전자 변이체의 스펙트럼에 따라 다소 상이한 결과를 생성시킬 것이다. 전체 69개의 샘플은 DNA 추출 스테이지 후 분할되고, 각각의 별개의 과정에 따라 분석되었다. PPA는 진양성 및 위음성의 전체 합에 의해 16 이상의 직각으로 결정된 TMB 값으로 정의된 진양성의 수를 나눔으로써 계산되었다. NPA는 모든 진음성 및 긍정 오류의 합에 의해 16 미만의 직각으로 결정된 TMB 값으로 정의된 진음성의 수를 나눔으로써 계산되었다. PPV는 모든 진양성 및 긍정 오류의 합에 의해 진양성의 수를 나눔으로써 또한 계산되었다. 유사한 분석은 10의 bTMB 컷-포인트에 대해 수행되었다.

[0553]

bTMB 계산의 PPV 및 정확성 둘 다는 cfDNA 샘플 내의 종양 함량(MSAF)에 의해 영향을 받는다. 따라서, 10 이상 또는 16 이상의 일치하는 bTMB 바이오마커 점수를 유지시키는 데 필요한 최소 MSAF의 평가는, 0.1% 아래로의 MSAF 값의 범위를 생성시키도록 정상 DNA 중에 연속 회석된, 시작 bTMB 값의 범위로 129개의 강구된 종양 세포주 DNA 샘플을 사용하여 평가되었다. 각각의 MSAF 복제품 그룹에 대해, 16 이상의 bTMB 상태는 비회석된 샘플 상태와 비교되고, 생성된 누적 상태 재현성은 20% MSAF로부터 시작하여 0.1% MSAF로 계산되었다.

[0554]

추가적으로, 종양치 엑손 표적 커버리지의 품질 관리 미터법은 8개의 임상 시험의 인 실리코 다운 샘플링을 이용하여 bTMB 점수 및 MSAF 값 둘 다의 정확성을 평가함으로써 평가되었다. 커버리지 다운-샘플링은 2000X 내지 800X의 종양치 엑손 커버리지를 반영하도록 공통 리드의 전체 수를 무작위로 감소시킴으로써 인 실리코 수행되

었다. 각각의 각자의 커버리지에서, 10개의 인 실리코 복제물은 CV를 계산하기 위해 평가되고, 대부분의 샘플에서의 30% 미만의 bTMB 점수 및 MSAF 계산 둘 다에 대해 평균 CV를 생성시키는 가장 낮은 커버리지가 선택되었다.

- [0555] 적어도 800x 서열 커버리지를 달성하기 위한 최소 cfDNA 유입 질량은 1,000 초과의 임상 샘플에 걸쳐 유입 질량과 서열 커버리지 사이에 관계식을 평가함으로써 결정되었다. 100% 빈도에서 적어도 800x 커버리지를 달성한 가장 낮은 질량은 최소 cfDNA 유입 질량으로서 선택되었다.
- [0556] 피어슨(Pearson) 및 스피어만 상관관계, 변동 계수, PPA, NPA, PPV 및 NPV를 포함하는 상술된 검정 성능 미터법을 계산하기 위한 통계 방법은 Microsoft EXCEL(등록상표)(2016 MS Office) 또는 JMP 소프트웨어(©SAS Institute, Inc.)에 의해 제공된 통계 소프트웨어를 사용하여 수행되었다.
- [0557] TMB 검정의 모의된 민감도 및 특이성은 이의 계산에 사용된 패널의 크기에 따라 나타났다(도 15). 이들 값을 생성하기 위해, 전체 25000만개의 무작위 샘플링은 각각의 패널 크기(5Mb 내지 50kb) 및 전장 엑솔 TMB(100 mut/Mb 내지 0.5 mut/Mb)에 대해 수행되었다. $\geq$ 또는 <14 mut/Mb의 TMB 값 또는 bTMB 검정으로부터의 16 전체 돌연변이를 유지시킨 샘플링의 분획은 기초하는 전장 엑솔 유래된 TMB 값과 비교되고, 각각의 각자의 패널 크기에 대해 컴퓨팅되었다. 결과는 Foundation Medicine 데이터베이스($n=19,320$)를 사용하여 NSCLC를 갖는 환자로부터 유래된 TMB 값의 실세계 분포와 비교되었다. 민감도는 모든 진양성 및 위음성의 합으로 나눈 진양성의 분획으로 계산되고, 특이성은 모든 진음성 및 긍정 오류의 합으로 나눈 진음성의 수로서 계산되었다. 작도된 값은 이 분석으로부터 유래된 결과를 나타내고, 음영 영역은 적어도 85% 민감도 및 특이성을 유지시키는 데 필요한 패널의 크기를 나타낸다.
- [0558] 종양 샘플에서의 PD-L1 발현의 면역조직화학(IHC) 분석
- [0559] 포르말린 고정된, 파라핀 포매된 조직 절편은 항원 회수, 차단 및 1차 항-PD-L1 항체와의 항온처리 전에 탈파라핀화되었다. 2차 항체에 의한 항온처리 및 효소 색상 전개 이후에, 절편은 대조염색되고 커버슬리핑 전에 알코올 및 자일렌의 시리즈에서 탈수되었다.
- [0560] 하기 프로토콜은 IHC에 사용되었다. Ventana Benchmark XT 또는 Benchmark Ultra system은 하기 시약 및 재료를 사용하여 PD-L1 IHC 염색을 수행하도록 사용되었다:
- [0561] 1차 항체: 항-PD-L1 토끼 단일클론 1차 항체(SP142)
- [0562] 시편 유형: 종양 샘플의 포르말린 고정된 파라핀 포매된(FFPE) 절편
- [0563] 에피토프 회수 조건: 세포 컨디셔닝, 표준 1(CC1, Ventana, 카탈로그 950-124호)
- [0564] 1차 항체 조건: 1/100, 36°C에서 16분 동안 6.5 μ g/ml
- [0565] 희석제: 항체 희석 완충제(운반 단백질 및 BRIJ(상표명)-35를 함유하는 트리스 완충 식염수)
- [0566] 음성 대조군: 6.5 μ g/ml에서의 나이트 토끼 IgG(Cell Signaling) 또는 희석제 단독
- [0567] 검출: Optiview 또는 ultraView Universal DAB Detection 키트(Ventana), 및 증폭 키트(적용 가능한 경우)는 제조사의 지시(Ventana)에 따라 사용되었다.
- [0568] 대조염색: Ventana Hematoxylin II(카탈로그 790-2208호)와 Bluing 시약(카탈로그 760-2037호)(각각 4분 및 4분)
- [0569] Ventana Benchmark 프로토콜은, 예를 들어, 국제 특허 출원 공보 WO 제2016/183326호(본 명세서에서 그 전문이 참고로 인용됨)에 기재되어 있다.
- [0570] 종양 샘플은 각각 표 4 및 표 5에 나타난 진단학적 평가에 대해 기준의 둘 다에 따라 종양 침윤 면역 세포 및 종양 세포에서 PD-L1 긍정성에 점수화되었다.

표 4

종양-침윤 면역 세포(IC) IHC 진단 기준

PD-L1 진단 평가	IC 점수
임의의 구분 가능한 PD-L1 염색의 부재 또는 종양 세포, 연관된 종양내 간질 및 인접 종양주변 결합조직형성 간질에 의해 점유된 종양 면적의 <1%를 덮는 종양 침윤 면역 세포에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	IC0
종양 세포, 연관된 종양내 간질 및 인접 종양주변 결합조직형성 간질에 의해 점유된 종양 면적의 ≥1% 내지 <5%를 덮는 종양 침윤 면역 세포에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	IC1
종양 세포, 연관된 종양내 간질 및 인접 종양주변 결합조직형성 간질에 의해 점유된 종양 면적의 ≥5% 내지 <10%를 덮는 종양 침윤 면역 세포에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	IC2
종양 세포, 연관된 종양내 간질 및 인접 종양주변 결합조직형성 간질에 의해 점유된 종양 면적의 ≥10%를 덮는 종양 침윤 면역 세포에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	IC3

[0571]

표 5

종양 세포(IC) IHC 진단 기준

PD-L1 진단 평가	IC 점수
구분 가능한 PD-L1 염색의 부재 또는 종양 세포의 <1%에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	TC0
종양 세포의 ≥1% 내지 <5%에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	TC1
종양 세포의 ≥5% 내지 <50%에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	TC2
종양 세포의 ≥50%에서의 임의의 강도의 구분 가능한 PD-L1 염색의 존재	TC3

[0572]

[0573]

실시예 2. 아테졸리주맵에 의한 치료에 NSCLC를 갖는 환자의 임상 반응과 bTMB 점수 사이의 연관성의 분석

[0574]

bTMB 점수가 아테졸리주맵 치료에 대한 환자 반응의 예측적 바이오마커로서 사용될 수 있는지를 평가하기 위해, bTMB 점수는 실시예 1에 기재된 바와 같이 POPLAR 또는 OAK 실험에서 환자로부터 수득된 치료전 혈액 샘플에서 평가되었다. POPLAR 및 OAK 실험으로부터의 전체 생존율(OS) 및 무진행 생존율(PFS)은 각각 ≥4 내지 ≥20 내지 ≥4 내지 ≥26의 기준 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수에 기초한 진단학적 양성(Dx+)인 환자에서 관찰되었다(도 1a, 도 1b, 도 2a 및 도 2b). PFS 및 OS 이익은 POPLAR에서 ≥10 내지 ≥20의 모든 bTMB 점수 컷오프에서 관찰되었다(예를 들어, ≥12 내지 ≥20)(도 1a 및 도 1b). 18의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 Dx+ 환자는 POPLAR 및 OAK 연구 둘 다에서 진단학적 음성(Dx-) 환자보다 아테졸리주맵 치료로부터 초과 PFS 이익을 도출하는 것을 발견되었다(도 3a, 도 3b, 도 4a 및 도 4b). 아테졸리주맵 치료로부터의 PFS 이익은 또한 OAK 연구에서 16 또는 14의 기준 bTMB 점수이거나 이보다 높은 bTMB 점수를 갖는 Dx+ 환자에서 관찰되었다(도 5a, 도 5b, 도 6a 및 도 6b). bTMB 점수는 POPLAR 및 OAK 데이터가 조합될 때 더 양호한 PFS와 연관된다고 발견되었다(도 7a 및 도 7b). POPLAR 및 OAK 환자 집단에서의 bTMB 점수와 효율 중점과의 연관성의 요약은 하기에 표 8 및 표 9에 제시되어 있다. 이 결과는 bTMB 점수가 아테졸리주맵 치료에 대한 환자 반응의 예측적 바이오마커로서 사용될 수 있다는 것을 입증한다. 이 연구로부터의 결과는 하기에 더 자세히 기재되어 있다.

[0575]

POPLAR

[0576]

POPLAR에서의 ITT 집단에서의 287명의 환자 중에서, 273명은 후향적 bTMB 분석에 이용 가능한 기준치(주기 1 1 일 치료전) 혈장 샘플을 가졌다. 준최적 샘플 용적으로 인해, 273개 중 211개의 샘플(BEP)은 최소 800x 커버리지를 달성하였다. 임상병리학적 및 인구통계학적 변수는 POPLAR 연구에서 ITT 집단과 BEP 사이에 일치하였다(표 6). 필적하는 임상 이익은 PFS(ITT HR, 0.92 대 BEP HR, 0.90) 및 OS(ITT HR, 0.69 대 BEP HR, 0.68)에 대해 BEP와 비교된 POPLAR ITT 집단에서 관찰되었다(도 1a 및 도 1b). POPLAR에서의 중앙치 bTMB 점수는 8개의 돌연변이였다(사분위수 하한: 4개의 돌연변이; 사분위수 상한: 17개의 돌연변이).

표 6

POPLAR 연구에서 BEP 및 ITT 집단의 특징

	아테졸리주맵		도세탁셀	
	BEP (n=105)	ITT (n=144)	BEP (n=106)	ITT (n=143)
중앙치 연령(범위), 세	61 (42, 82)	62 (42, 82)	63 (36, 80)	62 (36, 84)
남성, n (%)	72 (69%)	93 (64%)	58 (55%)	76 (53%)
인종, n (%)				
아시아인	18 (17%)	23 (16%)	8 (8%)	13 (9%)
백인	78 (74%)	110 (76%)	89 (84%)	116 (81%)
기타	9 (9%)	11 (8%)	9 (8%)	14 (10%)
ECOG 수행도, n (%)				
0	29 (28%)	48 (33%)	30 (28%)	46 (32%)
1	76 (72%)	96 (67%)	76 (72%)	97 (68%)
흡연 상태, n (%)				
현재/이전	78 (84%)	117 (81%)	88 (83%)	114 (80%)
결코 아님	17 (16%)	27 (19%)	18 (17%)	29 (20%)
이전의 치료, n (%)				
1	67 (64%)	93 (65%)	76 (72%)	96 (67%)
2	38 (36%)	51 (35%)	30 (28%)	47 (33%)
종양 조직학, n (%)				
비평면	67 (64%)	95 (66%)	68 (64%)	95 (66%)
평면	38 (36%)	49 (34%)	38 (36%)	48 (34%)
중앙치 가장 긴 직경 합(SLD)(범위)	80 (11, 241)	71 (11, 241)	78 (11, 269)	74 (10, 269)

[0577]

[0578]

본 발명자들은 bTMB 4 이상 내지 20 이상의 돌연변이의 정수 값으로 기준 bTMB 점수의 범위("bTMB 컷-포인트"라고 고도 칭함)에 걸쳐 POPLAR에서의 임상 결과와 bTMB 사이의 연관을 탐구하였다. PFS 및 OS 이익은 10 이상의 bTMB 점수 컷-포인트로서 관찰되었다(도 1a 및 도 1b). 예를 들어, 개선된 PFS 및 OS 이익은 POPLAR 연구에서 BEP 및 ITT 집단에 비해 10 이상, 16 이상 및 20 이상의 모든 3개의 bTMB 컷-포인트에 대해 관찰되었다(도 1a 및 도 1b). 10 이상 및 20 이상에 대한 95% CI의 상한은 PFS HR에 대해 1 및 또한 OS HR에 대해 20 이상이었다. 16 이상의 bTMB 컷-포인트로서, PFS HR은 0.57(95% CI, 0.33 내지 0.99)이었다(도 1a 내지 도 1c). 16 이상의 bTMB에서, 중앙치 PFS는 아테졸리주맵 아암에서 4.2개월이고 도세탁셀 아암에서 2.9개월이고; 각각의 중앙치 OS 값은 각각 13.0개월 및 7.4개월이었다. 16 이상의 bTMB를 갖는 환자는 도세탁셀과 비교하여 아테졸리주맵로 더 긴 PFS를 가졌다(상호작용 $P=0.055$)(도 1d). POPLAR 연구의 BEP에서의 16 이상의 bTMB의 유병률은 29.9%였다. bTMB ≥ 16 하위그룹 및 <16 하위그룹에서의 전체 생존율의 카플란-마이어 예측치는 각각 도 1e 및 도 1f에 나타난다.

[0579]

16 이상의 컷-포인트로서의 bTMB 검정의 기술적 성능, 및 10 이상 또는 20 이상과 비교된 더 강한 PFS 치료 효과에 기초하여, 16 이상은 OAK 연구에서 확정적 분석에 선택되었다.

[0580]

OAK

[0581]

bTMB가 POPLAR에서 효율과 연관된다고 입증되면서, bTMB 분석은 중심적 OAK 실험으로부터의 혈장 샘플을 사용하여 수행되었다. 임상 결과를 갖는 797명의 환자로부터의 기준치 혈장 샘플은 분석되었다; 583(BEP)은 1% 이상의 종양 함량(MSAF)으로 800x의 최소를 달성하기에 충분한 cfDNA를 가졌다. OAK 연구에서의 1차-분석 ITT 집단 ($N=850$)과 BEP($N=583$) 사이의 인구통계학은, (이들 환자가 미래의 암 면역요법 실험에서 등록하지 않으므로) BEP로부터의 EGFR 및 ALK 드라이버 돌연변이를 제외하고, 치료 아암 둘 다에 걸쳐 유사하였다. 표 7을 참조한다. OAK에서, 결과는 ITT(PFS: HR, 0.95; OS: HR, 0.73)에서보다 BEP(PFS: HR, 0.87; OS: HR, 0.64)에서 더 양호하다(도 5a 및 도 5b).

표 7

OAK 연구에서 BEP 및 ITT 집단의 특징

	아테졸리주맵		도세탁셀	
	BEP (n=293)	ITT (n=425)	BEP (n=290)	ITT (n=425)
중앙치 연령(범위), 세	63 (41, 82)	63 (33, 82)	64 (34, 85)	64 (34, 85)
남성, n (%)	193 (66%)	261 (61%)	183 (63%)	259 (61%)
인종, n (%)				
아시아인	55 (19%)	85 (20%)	54 (19%)	95 (22%)
백인	212 (72%)	302 (71%)	213 (73%)	296 (70%)
기타	26 (9%)	38 (9%)	23 (8%)	34 (8%)
ECOG 수행도, n (%)				
0	101 (34%)	155 (36%)	99 (34%)	160 (38%)
1	192 (66%)	270 (64%)	191 (66%)	265 (62%)
흡연 상태, n (%)				
현재/이전	251 (86%)	341 (80%)	260 (90%)	353 (83%)
결코 아님	42 (14%)	84 (20%)	30 (10%)	72 (17%)
이전의 치료, n (%)				
1	225 (77%)	320 (75%)	219 (76%)	320 (75%)
2	68 (23%)	105 (25%)	71 (24%)	105 (25%)
중앙 조직학, n (%)				
비평편	206 (70%)	313 (74%)	201 (69%)	315 (74%)
평편	87 (30%)	112 (26%)	89 (31%)	110 (26%)

[0582]

[0583]

16 이상의 bTMB를 갖는 OAK 환자가 아테졸리주맵 대 도세탁셀로 상당한 PFS 이익(HR, 0.65; 95% CI, 0.47 내지 0.92; $P=0.013$)을 가졌다(도 5a). PFS와의 바이오마커에 대한 연관이 독립적으로 검증되지만, bTMB 높은 하위그룹은 BEP와 비교된 OS의 추가의 개선을 나타내지 않았다(HR, 0.64 [95% CI: 0.44, 0.92]; $P = 0.017$)(도 5c 및 도 5d). BEP에서 관찰된 OS 이익은 바이오마커 양성 하위그룹에서 보존되었다. 중앙치 OS는 도세탁셀 아암에서의 6.8개월과 비교된 아테졸리주맵 치료 아암에서 16 이상의 bTMB를 갖는 환자에 대해 13.5개월이었다. 16 이상의 bTMB 점수 사이의 상호작용은 PFS에 대해 유의미하였다(상호작용 p -값: 0.036). OAK BEP에서의 16 이상의 bTMB의 유병률은 27%였다. POPLAR에서 관찰된 개선된 OS 이익을 검출하지 못함은 OAK BEP에서의 0.64의 탁월한 OS HR로 인한다고 생각된다. 이 결과는 16 이상의 bTMB 점수가 아테졸리주맵으로부터 이익, 예를 들어, 아테졸리주맵 치료로부터의 PFS 이익인 환자를 재현 가능하게 확인한다는 것을 제안한다.

[0584]

다변량 적응 회귀 스플라인(MARS; Friedman et al. *Stat. Methods Med. Res.* 4:197-217, 1995)을 이용하여, 본 발명자들은 PFS HR과 컷-포인트 값 사이에 관계식을 모델링하였다. OAK에서의 이 데이터 주도 접근법은 12와 18 사이의 "엘보(elbow)" 영역을 제안하고(도 2c), 이것은 POPLAR 데이터의 분석으로부터 앞으로 보유된 16의 컷-포인트 값과 일치한다.

[0585]

추가적인 탐색적 분석은 bTMB의 다양한 컷-포인트로서 수행되었다. POPLAR에서 관찰된 것과 유사하게, bTMB와 PFS 이익의 연관은 10개의 돌연변이만큼 낮은 bTMB 컷-포인트에서 관찰되었다(도 2a). 종합적으로, 증가하는 bTMB 점수와 PFS 결과 사이에 명확한 단조로운 관계식이 있었다(도 2a). OS에 대해 유사하지만, 덜 강력한 단조로운 경향이 관찰되었다(도 2b). 특히, OS와의 연관은 가장 높은 bTMB 컷-포인트(bTMB ≥ 24 및 ≥ 26)에서 오직 관찰되었다(도 2b). 이 하위그룹의 낮은 유병률을 고려하면, 본 발명자들은 POPLAR 연구에서 이 관찰의 재현성을 평가할 수 없었다. 최고의 전체 반응률은 bTMB ≥ 16 환자에서 아테졸리주맵(21%) 대 도세탁셀(10%)에 의한 이익의 경향이 있었다(도 8).

[0586]

요약

[0587]

종합하면, 이들 데이터는 bTMB 점수가 PD-L1 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵)를 포함하는 치료제의 치료학적 효율을 예측하는 예측적 바이오마커로서 작용할 수 있다는 것을 나타낸다. 결과적으로, bTMB 점수의 평가는, 예를 들어, PD-L1 결합 길항제(예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맵)를 포함하는 PFS 이익, OS 이익, 또는 PFS 및 OS 치료로부터의 이익 둘 다를 유래시키는 암(예를 들어, NSCLC)을 앓는 환자를 확인하기 위해 사용되었다. DNA 소스로서의 조직 대신에 혈액 샘플(예를 들어, 혈장)의

사용은 생검에 수정 불가능하거나 종양 조직이 이용 불가능한 환자에 대해, 예를 들어, 전이성 NSCLC를 갖는 환자에 대해 bTMB 검정이 특히 매력적인 대안이 되게 한다. (예를 들어, PFS의 면에서) 치료학적 효율을 예측하는 바이오마커로서의 bTMB의 확인은, 예를 들어, 제1선 환경에서 면역 관문 저해제(예를 들어, PD-L1 축 결합 길항제, 예컨대, 항-PD-L1 항체(예를 들어, 아테졸리주맙)에 대해 환자를 확인하는 데 있어서 중요한 성분일 수 있다. 이들 데이터는 또한 bTMB가 아테졸리주맙로부터의 PFS 이익을 끌어내는 PD-L1 IHC에 의해 확인되지 않고, 2선 환경에서 OS 이익을 보유한 환자의 집단을 확인한다는 것을 나타낸다. 제1선 환경에 대한 유사한 적용은 분자 시험에 대한 조직이 결여된, 예를 들어, NSCLC를 갖는 환자의 30%에서 적절할 수 있다.

표 8

POPLAR 환자 집단에서의 효율 중점			
	POPLAR (임상 시험 번호: NCT01903993)		
	ITT (n = 287)	BEP (n = 211)	
OS HR (95% CI)	0.73 (0.53, 0.99)	0.68 (0.50, 0.93)	
PFS HR (95% CI)	0.94 (0.72, 1.23)	0.9 (0.68, 1.20)	
bTMB 점수 하위그룹	≥ 10	≥ 16	≥ 20
환자의 수	96	63	42
OS HR	0.59	0.56	0.51
PFS HR	0.68	0.57	0.58
BEP, 바이오마커 평가 가능한 집단; bTMB, 혈액에서의 종양 돌연변이 부담; ITT, 치료 의향.			

[0588]

표 9

OAK 환자 집단에서의 효율 중점			
	OAK (임상 시험 번호: NCT02008227)		
	ITT (n = 850)	BEP (n = 583)	
OS HR (95% CI)	0.73 (0.62, 0.87)	0.64 (0.53, 0.77)	
PFS HR (95% CI)	0.95 (0.82, 1.10)	0.87 (0.73, 1.04)	
bTMB 점수 하위그룹	≥ 10	≥ 16	≥ 20
환자의 수	251	158	105
OS HR	0.69	0.64	0.65
PFS HR	0.73	0.65	0.61

[0589]

[0590] 실시예 3: bTMB는 PD-L1 IHC 및 조직학에 독립적이다

[0591] OAK에서의 bTMB 하위그룹의 임상 특징은 표 10 및 표 11에 기재된다. OAK BEP 내에, 양의 bTMB 상태(≥16)는 중증 돌연변이원 노출과 일치하는 흡연($P=1.3e-10$), 기준치에서의 표적 병변의 SLD($P=4.8e-08$), 전이성 부위의 수($P=0.0055$), 및 PD-L1 발현(TC1/2/3 또는 IC1/2/3($P=0.0062$))과 연관된다(표 10). 기준치 특징은 bTMB ≥16 컷-포인트 이상의 치료 아암 사이에 균형을 이루었다(표 11). 비편평 조직학을 갖는 환자에서의 평균 bTMB 값은 편평 조직학을 갖는 환자에서 11.22(95% CI: 10.09, 12.36) 및 12.4(95% CI: 11, 13.8)이었다(도 10).

표 10

OAK 연구에서 bTMB > 16 하위그룹의 특징

	아테졸리주맙 (N=77)	도세탁셀 (N=81)	P 값
중앙치 연령 (범위), 세	62 (44, 78)	63 (41, 79)	0.3
인종, n (%)			0.52
아시아인	10 (13%)	12 (15%)	
기타	10 (13%)	6 (7%)	
백인	57 (74%)	63 (78%)	
남성, n (%)	55 (71%)	60 (74%)	0.72
종양 조직학, n (%)			1
비평면	50 (65%)	53 (65%)	
평면	27 (35%)	28 (35%)	
ECOG 수행도, n (%)			0.61
0	23 (30%)	28 (35%)	
1	54 (70%)	53 (65%)	
이전의 치료, n (%)			0.15
1	53 (69%)	64 (79%)	
2	24 (31%)	17 (21%)	
IC, n (%)	N=77	N=79	0.15
0	38 (49%)	31 (39%)	
1	28 (36%)	31 (39%)	
2	8 (10%)	12 (15%)	
3	3 (4%)	5 (6%)	
TC, n (%)	N=77	N=79	0.69
0	42 (55%)	51 (65%)	
1	9 (12%)	2 (3%)	
2	18 (23%)	15 (19%)	
3	8 (10%)	11 (14%)	
흡연 상태, n (%)			0.78
현재의	20 (26%)	20 (25%)	
이전의	56 (73%)	61 (75%)	
결코 아님	1 (1%)	0 (0%)	
기준치 SLD, 중앙치 (범위)	82 (22, 309)	93 (12, 227)	0.21
전이 부위의 수, 평균 (범위)	3 (1, 7)	3 (1, 7)	0.6
KRAS 돌연변이 상태, n (%)	N=21	N=26	1
부정	17 (81%)	22 (85%)	
긍정	4 (19%)	4 (15%)	
PD-L1 IHC*, n (%)			
TC3IC3			0.84
	N=76	N=80	

[0592]

TC0/1/2 및 IC0/1/2	62 (82%)	64 (80%)	
TC3 또는 IC3	14 (18%)	16 (20%)	
TC2IC2			1
	N=75	N=79	
TC0/1 및 IC0/1	46 (61%)	48 (61%)	
TC2/3 또는 IC2/3	29 (39%)	31 (39%)	
TC1IC1			0.87
	N=77	N=79	
TC0 및 IC0	27 (35%)	26 (33%)	
TC1/2/3 또는 IC1/2/3	50 (65%)	53 (67%)	

TC0 및 IC0, PD-L1 을 발현하는 TC 및 IC 의 <1%; TC1/2/3 또는 IC1/2/3, PD-L1 을 발현하는 TC 또는 IC 의 >1%;

TC2/3 또는 IC2/3, PD-L1 을 발현하는 TC 또는 IC 의 >5%; TC3 또는 IC3, PD-L1 을 발현하는 IC 의 TC 의 >50% 또는 >10%.

* “TC3 또는 IC3”은 TC3IC3 바이너리 병리학자 판독으로부터의 것이고, “TC2/3 또는 IC2/3” 및 “TC2/3”은 TC2IC2 병리학자 판독으로부터의 것이고; “TC1/2/3 또는 IC1/2/3”, “TC0 및 IC0” 및 “TC123”은 TC1IC1 병리학자 판독으로부터의 것이다.

[0593]

표 11

OAK 연구에서 치료 아암에 걸쳐 bTMB <16 및 bTMB ≥16 하위그룹의 특징

	bTMB <16	bTMB ≥ 16	P 값
	N=425	N=158	
중앙치 연령 (범위), 세	65 (34, 85)	63 (41, 79)	0.0071
인종, n (%)			
아시아인	87 (20%)	22 (14%)	
기타	33 (8%)	16 (10%)	
백인	305 (72%)	120 (76%)	
남성, n (%)	261 (61%)	115 (73%)	0.011
종양 조직학, n (%)			0.16
비평면	304 (72%)	103 (65%)	
평면	121 (28%)	55 (35%)	
ECOG 수행도, n (%)			0.56
0	149 (35%)	51 (32%)	
1	276 (65%)	107 (68%)	
이전의 치료, n (%)			0.51
1	327 (77%)	117 (74%)	
2	98 (23%)	41 (26%)	
IC n (%)	n=422	n=156	0.059
0	219 (52%)	69 (44%)	
1	150 (36%)	59 (38%)	
2	37 (9%)	20 (13%)	
3	16 (4%)	8 (5%)	
TC (n (%))	n=422	n=156	0.058
0	293 (69%)	93 (60%)	
1	18 (4%)	11 (7%)	
2	70 (17%)	33 (21%)	
3	41 (10%)	19 (12%)	
흡연 상태, n (%)	n=425	n=158	1.3e-10
현재의	54 (13%)	40 (25%)	
이전의	300 (71%)	117 (74%)	
결코 아님	71 (17%)	1 (1%)	
기준치 SLD, 중앙치 (범위) ^b	63.9 (10, 316)	86.5 (12, 309)	4.8e-08
KRAS 돌연변이 상태, n (%)	n=128	n=47	0.17
부정	92 (72%)	39 (83%)	
긍정	36 (28%)	8 (17%)	
전이 부위의 수, 평균 (범위)	2.9 (0, 8)	3.2 (1, 7)	0.0055
PD-L1 IHC ^a , n (%)			
TC3IC3			0.62
	n=423	n=156	
TC0/1/2 및 IC0/1/2	350 (83%)	126 (81%)	

[0594]

TC3 또는 IC3	73 (17%)	30 (19%)	
TC2IC2			0.24
	n = 421	n = 154	
TC0/1 및 IC0/1	281 (67%)	94 (61%)	
TC2/3 또는 IC2/3	140 (33%)	60 (39%)	
TC1IC1			0.0062
	n = 422	n = 156	
TC0 및 IC0	197 (47%)	53 (34%)	
TC1/2/3 또는 IC1/2/3	225 (53%)	103 (66%)	

TC0 및 IC0, PD-L1을 발현하는 TC 및 IC의 <1%; TC1/2/3 또는 IC1/2/3, PD-L1을 발현하는 TC 또는 IC의 >1%;

TC2/3 또는 IC2/3, PD-L1을 발현하는 TC 또는 IC의 >5%; TC3 또는 IC3, PD-L1을 발현하는 IC의 TC의 >50% 또는 >10%.

^aTC3 또는 IC3"은 TC3IC3 바이너리 병리학자 판독으로부터의 것이고, "TC2/3 또는 IC2/3" 및 "TC2/3"은 TC2IC2 병리학자 판독으로부터의 것이고; "TC1/2/3 또는 IC1/2/3", "TC0 및 IC0" 및 "TC123"은 TC1IC1 병리학자 판독으로부터의 것이다.

^b 비교를 위해, tTMB 검정에 기초한 중앙치 기준치 SLD는 >16에 대해 78.4(15, 281.6) 및 <16에 대해 71.7(0.1, 237.8)이다.

[0595]

[0596]

이전에, 본 발명자들은 OAK ITT는 PD-L1-양성 환자(VENTANA SP142 PD-L1 IHC 검정에 의한 TC1/2/3 또는

IC1/2/3)에서 개선된 상당한 OS 이익을 갖지만, 증대된 PFS 이익은 PD-L1 IHC의 가장 높은 컷오프에서 오직 관찰된다(TC3 또는 IC3, 중앙 세포[TC]의 $\geq 50\%$ 염색 또는 중앙 침윤 면역 세포(IC)의 $\geq 10\%$ 염색)는 것을 나타내어서, 약 16%의 유병률을 나타낸다. 본 발명자들은 bTMB 및 PD-L1 IHC가 유사한 환자 집단을 확인하는지를 평가하였다. OAK에서 PD-L1 발현 및 bTMB를 비교하여, 본 발명자들은 상당한 연관성을 발견하지 못했고(도 9a); 중앙치 bTMB 점수는 상호 배타적인 IHC 하위그룹(도 9a 및 도 9e) 사이에 다르지 않았고, 최대 값은 모든 하위그룹에 걸쳐 마찬가지로 유사하였다(도 9e). 이들 데이터는 bTMB가 (IHC에 의해) PD-L1 발현에 독립적이라는 것을 나타낸다.

[0597] bTMB ≥ 16 집단에서 관찰된 임상 이익이 PD-L1 TC3/IC3 양성 집단의 과발현에 의해 설명되는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 bTMB ≥ 16 에 의해 정의된 바와 같이 OAK에서의 양성 환자 집단과 몇몇 PD-L1 발현 하위그룹 사이의 중첩의 정도를 조사하였다. 본 발명자들은 bTMB와 PD-L1 IHC 하위그룹 사이의 중첩의 유사한 비율을 발견하였고; 중앙치 및 최대 bTMB 값은 또한 유사하였다(도 9e, 표 10). 전체 229명의 환자는 bTMB 또는 가장 높은 수준의 PD-L1 IHC(TC3 또는 IC3)에 양성이지만, 불과 30명의 환자(bTMB ≥ 16 환자의 19.2%; TC3 또는 IC3 환자의 29.1%)는 검정 둘 다(피서 정확한 시험, $P=0.62$)에 의해 양성인 것으로 발견되었다(도 9b). 다른 IHC 컷-포인트에서의 중첩의 정도는 또한 조사되었다(도 9c 및 도 9d; 표 10 및 11).

[0598] 통계적으로 유의미한 상관관계가 높은 PD-L1 발현과 bTMB 사이에 관찰되지 않았지만, 본 발명자들은 2개의 상이한 접근법을 이용하여 PFS 이익을 향한 이의 기여의 독립성을 추가로 평가하였다: 첫째로, 본 발명자들은 치료 상호작용에 의한 PD-L1 상태(TC3 또는 IC3, 또는 무), bTMB 상태(≥ 16 또는 무), PD-L1, 및 치료 상호작용에 의한 bTMB 상태에 대해 조정된 PFS 치료로부터의 이익에 대해 Cox 모델을 고정하였다. 상호작용 HR은 PD-L1에 대해 0.73(95% CI: 0.46, 1.13; $P=0.160$) 및 bTMB에 대해 0.66(95% CI: 0.45, 0.97; $P=0.035$)이었다. 상당한 치료 상호작용은 bTMB 상태가 PD-L1 상태 및 치료와의 이의 상호작용을 제어하면서 PFS HR에 영향을 미친다고 제안한다.

[0599] 둘째로, 본 발명자들은 2개의 바이오마커 사이에 중첩 및 비중첩 하위집단에서의 PFS 이익을 조사하였다. 바이오마커 둘 다에 대해 양성인 환자는 아테졸리주맵(PFS: HR, 0.38 [95% CI, 0.17 내지 0.85]; OS: HR, 0.23 [95% CI, 0.09 내지 0.58])으로부터의 가장 임상적인 이익을 유래시키는 것으로 나타났지만, 오직 TC3 또는 IC3 또는 오직 bTMB ≥ 16 (다른 마커에 대해 음성)을 갖는 환자는 OAK에서 BEP에서의 0.87의 HR(95% CI: 0.73, 1.04)과 비교된 각각 0.71(95% CI: 0.43, 1.16) 또는 0.70(95% CI: 0.48, 1.03)의 PFS HR을 가졌다(표 12). 특히, bTMB ≥ 16 을 갖는 TC0 및 IC0 환자는 PFS 이익(HR, 0.68 [95% CI, 0.37 내지 1.25])에 대한 경향을 나타냈다(표 12).

표 12

OAK 에서 바이오마커 하위그룹에서 진행부 생존율

	n		PFS HR ^a (95% CI)	
ITT	850		0.95 (0.82, 1.10)	
BEP	583		0.87 (0.73, 1.04)	
PD-L1 IHC 하위그룹 ^b	IHC+ (평가 가능한 bTMB)		IHC+ 및 bTMB <16	
	n	PFS HR ^a (95% CI)	n	PFS HR ^a (95% CI)
TC3 또는 IC3	103	0.62 (0.41, 0.93)	73	0.71 (0.43, 1.16)
TC2/3 또는 IC2/3	200	0.71 (0.52, 0.95)	140	0.73 (0.51, 1.05)
TC1/2/3 또는 IC1/2/3	328	0.83 (0.66, 1.05)	225	0.94 (0.71, 1.24)
TC0 및 IC0	250	0.95 (0.73, 1.24)	197	1.03 (0.77, 1.39)
TC2/3	150	0.65 (0.46, 0.92)	106	0.70 (0.46, 1.05)
TC1/2/3	192	0.65 (0.48, 0.89)	129	0.72 (0.50, 1.04)
PD-L1 IHC 하위그룹 ^b	IHC+ 및 bTMB ≥16		IHC- ^c 및 bTMB ≥16	
	n	PFS HR ^a (95% CI)	n	PFS HR ^a (95% CI)
TC3 또는 IC3	30	0.38 (0.17, 0.85)	126	0.70 (0.48, 1.03)
TC2/3 또는 IC2/3	60	0.65 (0.38, 1.11)	94	0.65 (0.42, 1.02)
TC1/2/3 또는 IC1/2/3	103	0.65 (0.43, 0.98)	53	0.68 (0.37, 1.25)
TC0 및 IC0	53	0.68 (0.37, 1.25)	103	N/A
TC2/3	44	0.55 (0.29, 1.04)	110	0.69 (0.46, 1.04)
TC1/2/3	63	0.55 (0.32, 0.96)	93	0.78 (0.50, 1.22)

TC0 및 IC0, PD-L1 을 발현하는 TC 및 IC 의 <1%; TC1/2/3 또는 IC1/2/3, PD-L1 을 발현하는 TC 또는 IC 의 >1%; TC2/3 또는 IC2/3, PD-L1 을 발현하는 TC 또는 IC 의 >5%; TC3 또는 IC3, PD-L1 을 발현하는 TC 의 >50% 또는 IC 의 >10%. n 은 각각의 하위그룹에서 환자의 수를 나타낸다. N/A, 적용 불가. ^aITT 에서의 계층화된 HR; BEP 및 바이오마커 하위그룹에서의 비계층화된 HR.
^b“TC3 또는 IC3”은 TC3IC3 바이너리 IHC 컷으로부터의 것이고, “TC2/3 또는 IC2/3” 및 “TC2/3”은 TC2IC2로부터의 것이고; “TC1/2/3 또는 IC1/2/3”, “TC0 및 IC0” 및 “TC123”은 TC1IC1로부터의 것이다.
^cIHC-는 기재된 PD-L1 IHC 하위그룹에 보완적인 환자를 나타낸다.

[0600]

[0601]

OAK BEP 내에서, 양의 bTMB 상태는 가장 긴 거리 합(SLD)($P=4.8e-08$)으로 및 전이성 부위의 수로($P=0.0055$) 중 증 돌연변이인 노출과 일치된 흡연($P=1.3e-10$)과 연관되었다. 또한 표 13을 참조한다. 이 발견은 더 높은 전체 질환 부담과 일치하고, 이는 혈류로의 증가된 ctDNA 발산을 발생시킬 수 있다. ctDNA를 검출할 가능성은 전체 중앙 부담에 따라 달라진다. 이와 일치하여, 샘플이 서열 커버리지 및 오염 QC를 통과한 OAK 환자 중에서, 1% 미만의 MSAF를 갖는 환자가 1% 이상의 MSAF를 갖는 환자와 비교하여 더 낮은 평균 기준치 SLD를 가졌다(각각 62.3mm 대 80.4mm). 다른 기준치 특징은 bTMB와 연관되지 않고, 명확한 예측적 효과는 16 이상의 기준 bTMB 점수에서 관찰되지 않았다. 비편평 조직학과 편평 조직학 사이에 bTMB 값의 평균 분포에서 차이가 없는 것으로 나타났다(도 10). 표 14는 유효한 bTMB 및 PD-L1 IHC 결과를 갖는 OAK BEP에서 OS 및 PFS HR의 요약을 나타낸다.

표 13

OAK 에서 bTMB 하위그룹에서 기준치 특징의 상당한 차이

	bTMB <16 N=425	bTMB ≥16 N=158	P-값
흡연 상태, n (%)			1.3e-10
현재의	54 (13%)	40 (25%)	
이전의	300 (71%)	117 (74%)	
결코 아님	71 (17%)	1 (1%)	
SLD, 중앙치 (범위)	63.9 (10, 316)	86.5 (12, 309)	4.8e-8
전이 부위, 평균 (범위)	2.9 (0, 8)	3.2 (1, 7)	0.0055

[0602]

표 14

유효한 bTMB 및 PD-L1 IHC 결과를 갖는 OAK BEP에서의 OS 및 PFS HR

	n	PFS HR (95% CI)	OS HR (95% CI)
bTMB ≥16	156	0.64 (0.46, 0.91)	0.64 (0.44-0.93)
TC3 또는 IC3	103	0.62 (0.41-0.93)	0.44 (0.27-0.71)
bTMB ≥16 및 TC3 또는 IC3	30	0.38 (0.17, 0.85)	0.23 (0.09, 0.58)

[0603]

[0604]

실시예 4: bTMB 분석 검증

[0605]

bTMB 검정 검증 연구는 ctDNA 샘플로부터의 서열분석 데이터의 동일한 세트에서 FOUNDATIONONE(등록상표) TMB 알고리즘에 대해 bTMB 알고리즘을 이용한 TMB 점수를 비교하도록 수행되었다.

[0606]

bTMB 검정의 발생의 일부로서, 본 발명자들은 POPLAR(N=74) 및 OAK(N=244)의 하위집단으로부터 수득된 TMB의 조직 기반 분석으로부터의 결과를 동일한 환자로부터의 치료전 혈장으로부터 수득된 상응하는 bTMB 결과에 의한 분석에 충분한 조직과 비교하였다. 종합적으로, tTMB 점수와 bTMB 점수 사이의 양의 상관관계가 관찰되었다(스피어만 상관관계 = 0.59; 95% CI, 0.49 내지 0.67)(도 11e). 또 다른 실험에서, tTMB 점수와 bTMB 점수 사이의 양의 상관관계가 관찰되었다(스피어만 상관관계 = 0.64; 95% CI, 0.56 내지 0.71)(도 11f). 양의 상관관계가 있지만, 몇몇 인자는 tTMB와 bTMB 사이의 상관관계가 중앙 이질성(잠재적으로 다수의 병변, 예를 들어, 전이성 중앙양으로부터의 단일 생검 대 네트 ctDNA 유입), 컴퓨터 파이프라인의 차이(tTMB는 ≥5% 대립유전자 빈도(AF)에서 단일-뉴클레오타이드 변이체(SNV)를 호출하고, 삽입 및 결실(인델) 둘 다를 포함하지만, bTMB는 ≥0.5% AF에서 제외하고 SNV를 오직 호출함) 또는 샘플 특징의 차이(예를 들어, FFPE 조직 유래된 DNA 대 ctDNA), 수집 시간(예를 들어, 보관소 중앙 조직 대 치료전 혈장), 샘플 유형(예를 들어, 생검 대 절제), 진단 시 병기, 조직 순도, ctDNA MSAF 및 무세포 DNA 유입(TMB의 차이를 발생시킴)을 포함하여 왜 더 높지 않은지를 설명할 수 있다.

[0607]

tTMB 컴퓨터 알고리즘은 인델 및 SNV 둘 다를 계수하는 한편, bTMB 컴퓨터 알고리즘은 오직 SNV를 계수한다. 따라서, 본 발명자들은 오직 SNV를 이용하여 2개의 측정치 사이에 상관관계를 비교하였다. 흥미롭게도, 아마도 인델이 이 연구에서 체세포 변이체의 불과 4%를 차지하므로, 이것은 쌍별 상관관계를 변화시키지 않았다(스피어만 순위 상관관계 = 0.65; 95% CI: 0.57, 0.71; 도 11g).

[0608]

어떠한 인자가 bTMB 및 tTMB 컴퓨터 파이프라인 사이의 변이를 차지하는지를 구별하기 위해, 합치 분석은 비실험 ctDNA 샘플(N=69)의 독립 코호트를 사용하여 수행되었고, 이들의 각각은 분할되고, F1 tTMB 또는 bTMB 컴퓨터 파이프라인을 이용하여 분석되었다(도 11a, 도 11b 및 도 11h). 이 분석에서, 스피어만 상관관계는 0.93이었다(95% CI, 0.59 내지 0.96). 스피어만 순위 상관관계 계수는 실험 환자로부터 수득된 조직 유래된 DNA 및 혈장 유래된 ctDNA의 비교에 대해 비실험 샘플로부터의 ctDNA의 이 비교에서 현저히 더 높았다. 이들 데이터는, 본 명세서에 기재된 광범위한 분석 검증 실험과 함께, 검정 성능이 혈액 유래된 ctDNA 또는 조직 유래된 DNA로부터 계산된 TMB 사이에 관찰된 변화의 오직 작은 분획을 차지한다는 것을 제안한다.

[0609]

bTMB 검정에 의해 이루어진 변이체 콜이 신뢰 가능하다는 것을 추가로 검증하기 위해, 본 발명자들은 bTMB 검정에 의해 이루어진 개별 변이체 콜을 직각으로 검증하도록 추구하였다. 이 분석에 대해, 본 발명자들은 임상 샘플 및 세포주의 조합을 사용하고, bTMB 검정에 의해 검출된 중첩 영역에서의 변이체 콜 및 FOUNDATIONACT(FACT)에 의해 발견된 것, 혈장으로부터 cfDNA에서 낮은-풍부도 변이체를 검출하기 위해 높은-깊이 서열분석을 이용하는 이전에 검증된 검정을 비교하였다(He et al. *Blood* 127:3004-3014, 2016). 양의 백분율 합치(PPA)는, bTMB 검정에 의해 또한 검출된 FACT에 의해 검출된 체세포 변이체의 분획을 비교함으로써 계산되었다. PPA는 93.4%였다. 본 발명자들은 FACT에 의해 조사된 중첩 게놈 영역에서의 것으로 bTMB에서 검출된 변이체를 제한함으로써 양의 예측적 값(PPV)을 측정하고, 2개의 시험 사이에 공유된 분획을 계산하였다. PPV는 93.5%였다(도 11i). PPA 및 PPV 둘 다에 대해, 부조화 변이체 콜은 낮은 AF(<1%) 또는 근처의 단독중합체의 결과이다(도 11i 및 도 11j). 검정 사이의 일관성을 추가로 평가하기 위해, 본 발명자들은 각각의 일치 변이체에 대해 변이체 대립유전자 빈도(VAF)를 비교하였다. 각각의 검정에 의해 검출된 VAF는 매우 일치하였다($R^2=1.00$, 도 11j, 상부 패널), 그러나, 일치성은 1% VAF보다 더 낮았다($R^2=0.68$, 도 11j, 하부 패널). 이들 데이터는 검정 둘 다가 동

일한 변이체를 검출한다는 것을 나타낸다.

[0610] NSCLC는 상당한 종양내 이질성을 보유하는 것으로 나타났고(예를 들어, 문헌[Abbosh et al. *Nature* 545:446-451, 2017 및 Jamal-Hanjani et al. *N. Engl. J. Med.* 376:2109-2121, 2017] 참조), 이에 따라, 임의의 단일 국제화된 생검에서 발견된 변이체의 세트는 환자에 존재하는 종양 세포에 의해 혈액으로 방출된 DNA 단편에서 발견된 변이체의 응집체 세트로부터 유의미하게 다를 수 있다. 이러한 이질성이 본 명세서에 기재된 혈액 및 조직 샘플 사이에 TMB 값의 차이를 설명하는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 혈액 및 조직 시편 둘 다에 존재하는 개별 변이체의 분획을 평가하였다. 혈액 및 조직 둘 다에서 높은 TMB(30 이상의 돌연변이)를 갖는 환자에서, 평균적으로 변이체의 1/3은 혈액 샘플에 고유하고, 전체 변이체의 1/4는 조직 샘플에 고유하고, 남은 변이체가 둘 다에서 확인되었다(도 11k). 조직에서 30 이상의 돌연변이를 갖는 환자는 bTMB와 tTMB 사이의 일치의 범위를 가졌다. 22개 중 7개는 혈액에서 검출된 매우 적은 돌연변이를 갖고, 따라서 조직과 매우 약간 중첩한다. 이에 반해, 샘플의 대략 68%는 조직과 혈액 사이에 대부분의 TMB 변이체를 공유하였다. 이것은 상이한 변이체의 존재가 조직 및 혈액 TMB 사이의 차이의 큰 부분을 차지할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0611] 샘플과 연관된 인자가 자체가 POPLAR 및 OAK에서 tTMB 및 bTMB의 쌍별 비교에서 관찰된 변이에 기인하는지를 결정하기 위해, 본 발명자들은 샘플 유형(생검 대 절제), 진단 시 병기, 샘플에서 최대 체세포 대립유전자 빈도(MSAF)에 의해 측정된 바와 같이 ctDNA인 cfDNA의 분획, 샘플 수집 시간(혈액 대 조직), RECIST v1.1에 의해 결정된 바와 같은 기준치 종양 부담 및 종양 순도를 포함하는 일련의 샘플 특징, 및 다른 인자를 평가하였다. 원시 메타데이터의 요약은 표 15에 보인다.

표 15

POPLAR 및 OAK 연구에서의 혈액 대 조직 메타데이터

	전 체 (N=259)	bTMB+ tTMB+ (N=56)	bTMB+ tTMB- (N=16)	bTMB- tTMB+ (N=32)	bTMB- tTMB- (N=155)	bTMB- tTMB- (부합) (N=109)	bTMB- tTMB- (비부합) (N=46)
종양치 bTMB 점수	8	22.5	22	11	6	7	4
종양치 tTMB 점수	11	24	12.5	19.5	8	7	11
종양치 분획 인델, 혈액	0	0	0	0	0	0	0
종양치 분획 인델, 조직	0.18	0.09	0.20	0.13	0.23	0.25	0.15
종양치 Jaccard	0.33	0.60	0.29	0.26	0.25	0.35	0.07
종양치 MSAF	6.3%	13.3%	16.8%	4.6%	5.2%	5.7%	3.6%
종양치 민감도, 혈액	58.3%	78.3%	80.9%	30.8%	46.2%	60.0%	10.0%
종양치 민감도, 조직	50.0%	70.6%	32.4%	63.6%	40.0%	50.0%	20.0%
조직과 혈액 수집 사이의 종양치 일자	-239.0	-207.0	-199.5	-267.0	-225.0	-246.0	-235.0
SLD	77.5	88.5	96.5	83.0	67.5	72.0	76.8
종양치 % 종양 핵	30.0	30.0	32.5	35.0	30.0	30.0	30.0
종양치 순도 평가	40.8	41.8	45.3	40.4	40.0	40.0	42.1

[0612]

[0613] 각각의 경우에 대해, 본 발명자들은, 부합의 측정치로서, 모든 조직 및 혈액 SNV의 통합으로 나눈 공유된 SNV의 수로서 정의되는, 조직 및 혈액 변이체 사이의 Jaccard 지수를 결정하였다. 본 발명자들은 이어서 관심 대상의 변수가 각각의 혈액-대-조직 부합 그룹에서 Jaccard 지수에 어떻게 영향을 미치는지를 조사하였다: MSAF, 기준치 가장 긴 거리 합(SLD), 및 요약 통계에 기초한 부합 그룹 사이에 다른 샘플 수집 사이의 시간(표 15). 본 발명자들은 조직과 혈액 사이의 부합에 영향을 미치는 가장 중요한 인자가 낮은 MSAF 및 샘플 수집 사이의 더 긴 시간(일의 간격)(사례 둘 다에서 $P < 2 \times 10^{-16}$)이라는 것을 발견하였다(도 11l 및 도 11m). 흥미롭게도, 본 발명자들은 새로 수집된(<100일) 조직(0.06 [95% CI: -0.18, 0.3])에서 부재한 더 오래된(약 3개월 이상) 조직 샘플(스피어만 순위 상관관계 및 부트스트랩 95% CI: -0.3 [95% CI: -0.42, -0.16])에서 Jaccard 지수와 샘플 수

집 일 사이의 음의 관계식에 주목하였다(도 11l). 도 11n은 tTMB 및 bTMB 검정에 의해 관찰된 SNV의 벤 다이어그램을 나타낸다.

[0614] bTMB 분석 검증의 일부로서, bTMB의 정확성은, TMB의 전장 엑스 서열분석 기반 측정과 잘 상관하는 것으로 이전에 나타난, 직각으로 검증된 방법(FOUNDATIONONE(등록상표) TMB)에 대해 평가되었다. 비교성은 추정상 컷-포인트(bTMB ≥ 10 내지 ≥ 20)의 범위에 대해 PPA 및 음의 퍼센트 합치(NPA) 둘 다를 평가함으로써 확립되었다. 상이한 컷-포인트에 대한 PPA는 85.7%(bTMB ≥ 15) 내지 100%(bTMB ≥ 10)의 범위였다(도 11c 및 도 11h). NPA는 81.8%(bTMB ≥ 19) 내지 100%(bTMB ≥ 10 , ≥ 16)의 범위였다. 이 결과는 POPLAR 연구로부터의 데이터와 관련하여 검정 성능이 bTMB ≥ 10 , ≥ 16 및 ≥ 20 의 3개의 컷-포인트로서 특히 선호된다는 것을 나타낸다.

[0615] 표 16은 ≥ 10 및 ≥ 16 의 2개의 명확한 컷-포인트에 대한 bTMB 검정의 평균된 성능의 요약을 나타낸다. PPA 및 NPA, 및 PPV는 이전에 검증된 FOUNDATIONONE(등록상표) TMB 검정에 대해 상기에 기재된 bTMB 검정을 이용하여 처리될 때 동일한 샘플로부터 유래된 TMB 점수를 평가함으로써 결정되었다. 정확성은 ≥ 10 및 ≥ 16 의 명확한 컷-포인트에 대해 bTMB 결과의 신뢰도로서 평가되었다. CV는 복제품 샘플로부터의 bTMB 점수의 반복 가능성을 나타낸다. 검출 한계(LoD)는 80%를 초과하는 신뢰도를 유지시키는 데 필요한 (MSAF의 면에서) 최소 종양 함량으로서 이 실시예의 목적을 위해 정의되었다. 서열분석된 게놈 영역이 더 작을 때 LoD가 더 높다고 예상되는 반면, 게놈의 더 큰 부분의 서열분석이 더 낮은 LoD를 생성시키는 것으로 이해되어야 한다.

표 16

bTMB 검정의 수행	
미터법	결과
PPA	95.2% (CI: 88.6%-98.2%)
NPA	100.0% (CI: 87.4%-100.0%)
PPV	100.0% (CI: 92.7%-100.0%)
정확성	95.5%
CV	16.7%
LoD	20ng cfDNA 에서의 1% MSAF

[0616]

[0617] 16 이상의 bTMB의 평균 정확성은 97.8%(6.3% CV)이었다. 1% $\geq$ 품질 관리 미터법의 MSAF의 정확성은 99.3%(12.1% CV)이었다. 6개의 세포주 회색 시리즈에 걸쳐 관찰된 대 예상된 MSAF 값의 선형 회귀 분석으로부터 유래된 스피어만 상관관계는 0.98이었다. 129개의 샘플의 회색 시리즈에서, 91%는 MSAF에 의해 예측된 바와 같이 1%의 종양 함량만큼 적게 16 이상의 정확한 bTMB 바이오마커 상태를 유지시켰다. bTMB 및 MSAF 값에 대한 정확성 값은 종양치 엑스 커버리지가 800x를 초과할 때 일치하게 유지되었다(도 16 및 표 17). 1,076개의 임상 샘플의 분석에서, 100.0%는 cfDNA의 적어도 20ng 유입으로 이 표적 깊이를 달성하였다(도 11a 내지 도 11d). 도 13은 10 이상 및 16 이상의 2개의 명확한 bTMB 컷-포인트에 대한 검정의 재현성, 및 MSAF에 의해 예측된 바와 같이 1% 순환 종양 DNA(ctDNA)의 품질 관리 미터법에 따라 평가된 정확성 분석을 나타낸다. 이전의 연구는 종양 부담이 혈장 샘플에서 cfDNA 또는 ctDNA를 검출할 가능성의 중요한 결정부위라는 것을 나타냈다. OAK 및 POPLAR 연구에서 각각의 환자에 대해 수집된 혈장의 준최적 용적(평균, 4.2mL)으로 인해, 본 발명자들은 추출된 cfDNA의 전체 질량(중양치, 29.3ng)이 품질 관리를 통과한 모든 샘플에 대해 bTMB 측정에 대한 영향을 갖는지를 시험하였다. 전체 추출된 cfDNA와 bTMB 점수 사이에 작지만 통계학적으로 유의미한 양성 스피어만 상관관계가 있었다(스피어만 $r = 0.15$, [95% CI: 0.07, 0.23], 도 17). bTMB와 MSAF 사이에 양의 상관관계가 있고($r^2 = 0.2223$), bTMB와 SLD 사이에는 없어서($r^2 = 0.05373$), MSAF 변이가 bTMB 변이의 작은 부분을 설명하고, SLD가 bTMB 변이의 최소 부분을 설명한다는 것을 제안한다(도 18a 및 도 18b).

표 17

14 내지 42의 bTMB 점수 및 1.1% 내지 2.0%의 MSAF 값의 범위를 갖는 6개의 샘플에 걸친 bTMB의 분산 계수

샘플	bTMB 점수	MSAF	800X CV	1000X CV	1200X CV	1400X CV	1600X CV	1800X CV	2000X CV
15-049_DNAx0068	14	1.1%	0.248	0.184	0.106	0.173	0.096	0.112	
15-049_DNAx0155	15	1.6%	0.211	0.163	0.119	0.087	0.08	0.044	
15-049_DNAx0163	16	1.5%	0.222	0.165					
15-049_DNAx0076	16	2.0%	0.192	0.077	0.088	0.08	0.043	0.047	0.062
15-049_DNAx0044	19	1.8%	0.162	0.083	0.113	0.056	0.035		
16-035_DNAx_0120	20	1.5%	0.194	0.175	0.131	0.063	0.058		
16-035_DNAx_0128	23	1.9%	0.134	0.137	0.066	0.024			
GO29436_DNAx_0026	42	1.3%	0.183	0.139	0.087	0.075	0.056		
평균 bTMB CV			0.193	0.140	0.101	0.080	0.061	0.068	0.062

[0618]

[0619]

주어진 환자의 혈액에서의 ctDNA의 절대 질량의 가변성에 기저하는 생물학이 공지되어 있지 않지만, 전체 종양 부담과 증가하는 bTMB 사이에 연관이 있다는 것이 예상된다. POPLAR 및 OAK 연구 둘 다는 의무적인 조직 동원을 갖고, 이는 ctDNA(예컨대, 종양 부담)의 검출에 영향을 미치는 인자에 대한 영향을 가질 수 있다. 본 발명자들은 MSAF에 의해 예측된 바와 같이 ctDNA로부터 유래된 1% 이상으로 20ng의 유입 cfDNA가 bTMB 점수의 정확하고 재현 가능한 콜링을 허용한다는 것을 발견하였다(도 12). 도 14는 MSAF에 의해 예측된 바와 같이 샘플에서의 종양 함량의 함수로서 10 이상 및 16 이상의 컷-포인트에 따라 bTMB 검정의 재현성을 나타낸다. MSAF에 의해 예측된 유입 재료가 적거나 ctDNA 함량이 더 적은 샘플은 종양 돌연변이 부담을 과소평가하는 경향이 있지만; 긍정 오류 샘플이 없다(도 11a 내지 도 11d). 이 결과는 다른 혈액 기반 검정의 성능과 일치하고, 품질 관리 기준이 충족되는지와 무관하게 높은 bTMB 점수가 결과를 예측할 수 있다는 것을 제안한다.

[0620]

표 18은 bTMB 및 tTMB 둘 다에 대해 평가 가능한 환자의 임상 특징을 나타낸다. 종합적으로, 이들 환자는 BEP 및 ITT 집단과 비교된 유사한 특징을 갖는다.

표 18

bTMB 및 tTMB 둘 다에 대해 평가 가능한 환자의 특징

	이중 BEP ^a	ITT 집단
	N=229	N=850
중앙치 연령 (범위), 세	64	64
인종, n (%)		
아시아인	49 (21%)	180 (21%)
기타	21 (9%)	72 (8%)
백인	159 (69%)	598 (70%)
남성, n (%)	152 (66%)	520 (61%)
종양 조직학, n (%)		
비평편	152 (66%)	628 (76%)
평편	77 (33%)	222 (23%)
ECOG 수행도, n (%)		
0	71 (31%)	315 (37%)
1	158 (69%)	535 (63%)
이전의 치료, n (%)		
1	174 (76%)	640 (75%)
2	55 (24%)	210 (25%)
IC, n (%)		
	n=229	n=842
0	97 (42%)	429 (51%)
1	97 (42%)	300 (36%)
2	28 (12%)	79 (9.4%)
3	7 (3%)	34 (4%)
TC, n (%)		
	n=229	n=842
0	154 (67%)	590 (70%)
1	17 (7%)	40 (5%)
2	38 (16%)	133 (16%)
3	20 (9%)	79 (9%)
흡연 상태, n (%)		
현재의	29 (13%)	126 (16%)
이전의	163 (71%)	568 (67%)
결코 아님	37 (16%)	156 (18%)
기준치 SLD, 중앙치 (범위)	76 (10, 309)	63 (10, 316)
전이 부위의 수, 평균 (범위)	3 (0, 8)	3 (1, 8)

[0621]

KRAS 돌연변이 상태, n (%)		
	n=72	n=262
부정	60 (83%)	203 (75%)
긍정	12 (17%)	59 (23%)
EGFR 돌연변이 상태, n (%)		
	n=189	n=713
부정	171 (91%)	628 (88%)
긍정	18 (10%)	85 (12%)
PD-L1 IHC ^b , n (%)		
TC3IC3		
	n=229	n=850
TC0/1/2 및 IC0/1/2	193 (84%)	704 (83%)
TC3 또는 IC3	36 (16%)	137 (16%)
TC2IC2		
	n=229	n=50
TC0/1 및 IC0/1	147 (64%)	574 (67%)
TC2/3 또는 IC2/3	82 (36%)	265 (31%)
TC1IC1		
	n=229	n=850
TC0 및 IC0	84 (37%)	379 (45%)
TC1/2/3 또는 IC1/2/3	145 (63%)	463 (54%)

bTMB, 혈액-기반 종양 돌연변이 부담; ECOG, 동부 종양학 협력 그룹; IC, 종양 침윤 면역 세포; IHC, 면역조직화학; ITT, 치료 의향; PD-L1, 예정 사멸-리간드 1; SLD, 가장 긴 직경의 합; TC, 종양 세포; TC0 및 IC0, PD-L1 을 발현하는 TC 및 IC 의 <1%; TC1/2/3 또는 IC1/2/3, PD-L1 을 발현하는 TC 또는 IC 의 >1%; TC2/3 또는 IC2/3, PD-L1 을 발현하는 TC 또는 IC 의 >5%; TC3 또는 IC3, PD-L1 을 발현하는 TC 의 >50% 또는 IC 의 >10%.

* 이 중 BEP 는 혈액 및 조직 기반 TMB 분석 둘 다에 평가 가능한 기준치 샘플을 갖는 OAK ITT 집단(N=850)으로부터의 환자를 포함하였다.

^b“TC3 또는 IC3”은 TC3IC3 바이너리 병리학자 판독으로부터의 것이고, “TC2/3 또는 IC2/3” 및 “TC2/3”은 TC2IC2 병리학자 판독으로부터의 것이고; “TC1/2/3 또는 IC1/2/3”, “TC0 및 IC0” 및 “TC123”은 TC1IC1 병리학자 판독으로부터의 것이다.

[0622]

[0623]

실시에 5. 1선(1L) 진행성 또는 전이성 NSCLC를 갖는 환자에서 혈액 1선 준비 스크리닝 실험(B-FIRST) 및 혈액 제1 검정 스크리닝 실험(BFAST)

[0624]

연구 설계

[0625]

bTMB 점수 및 체세포 돌연변이(예를 들어, 체세포 돌연변이, 예를 들어, 종양발생 체세포 돌연변이, 예컨대, *ALK* 또는 *RET* 변경의 존재 및/또는 부재)를 측정하는 혈액 기반 진단학적 검정을 추가로 평가하고 정량적으로 검증하기 위해, 그리고 NSCLC 환자에서 1L 아테졸리주맙 또는 알렉티닙 치료의 효율 및 안전성을 결정하기 위해, 2개의 임상 실험이 수행된다.

[0626]

bTMB 점수에 평가되는 B-FIRST(임상 실험 번호: NCT02848651) 환자 집단은 20개 내지 25개의 연구 지역(세트 = 153)에서 대략 150명의 환자로 이루어진다. 환자는 치료 미경험, 국소 진행성 또는 전이성(예를 들어, IIIB-IVB 단계) NSCLC; RECIST v1.1에 의해 정의된 바와 같은 측정 가능한 질환; 및 0 또는 1의 ECOG 성능 상태를 갖는 경우 B-FIRST 연구에서의 등록에 적격이다. 배제 기준은 *EGFR* 돌연변이 또는 *ALK* 재배열의 감작화; 치료를 요하는 활성 뇌 전이; 연질뇌척수막 질환; 등록 5년 내에 다른 악성종양; HBV, HCV 또는 HIV 감염; 또는 자동면역 장애의 병력을 포함한다. 참가자는 bTMB 점수에 기초하여 코호트로 분할되고, 3주마다 정맥내로 1200mg의 용량에서 아테졸리주맙을 받는다. 모든 환자는 기준치에서 및 주기 1 1일 이후에 처음의 12개월 동안 6주마다, 및 이어서 이후 9주마다 종양 평가를 받는다. 아테졸리주맙에 의한 치료는 참가자가 임상 이익을 경험하는 한, 즉 질환 진행으로 인한 허용 불가능한 독성 또는 증상성 악화의 부재에 있는 한 계속될 수 있다. 종양 평가는 RECIST v1.1에 따른 질환 진행 또는 임상 이익의 소실(평가된 조사자), 동의 철회, 연구 중단, 연구 완료 또는 사망까지 지속한다. 의무적인 혈액 샘플은 탐색적 바이오마커의 변화를 평가하기 위해 기준치에, 치료 동안에 및 진행에서 취해진다. 중간 분석은 16 이상의 미리 기재된 bTMB 점수로 환자의 50%가 등록한 후 6개월에 발생하는 것으로 미리 기재되었다. 동시-1차 종점은 (RECIST v1.1에 따라 조사자 평가된 ORR에 의해 평가된 바와 같이) 아테졸리주맙의 임상 효율 및 (RECIST v1.1에 따라 조사자 평가된 PFS에 의해 평가된 바와 같이) bTMB와 PFS 이익 사이의 관계식이다. 2차 목적은 조사자 평가된 반응 기간(DOR) 및 OS에 의한 효율의 평가 및 안전성이

다.

[0627] BFAST(임상 실험 번호: NCT03178552) 환자 집단은 bTMB 점수 및/또는 체세포 돌연변이 상태(예를 들어, 체세포 돌연변이, 예를 들어, 종양발생 체세포 돌연변이, 예컨대, *ALK* 또는 *RET*에서의 돌연변이의 존재 및/또는 부재)에 대해 평가된다. 환자는 조합된 양상 화학방사선에 의한 치료에 수정 가능하지 않는 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인된, 국소 진행성 또는 전이성(예를 들어, IIIB-IVB 단계) NSCLC; RECIST v1.1에 의해 정의된 바와 같은 측정 가능한 질환; 0 내지 2의 ECOG 성능 상태; 적절한 기관 기능; 12주 이상의 기대 수명; 및 임신 가능한 여성 참가자 및 남성 참가자에 대해, 허용 가능한 피임 방법을 기꺼이 사용함; 및 혈액 샘플의 제공을 갖지 않는 경우 BFAST 연구에서의 등록에 적격이다. 배제 기준은 활성, 비치료된 뇌 전이; 스크리닝의 5년 내에 다른 악성종양의 병력; 또는 중요한 심혈관 질환을 포함한다. 참가자는 bTMB 점수 및/또는 체세포 돌연변이 상태(예를 들어, *ALK* 또는 *RET* 돌연변이 상태, 예를 들어, *ALK* 또는 *RET* 음성)에 기초하여 코호트로 분할되고, 3주마다 정맥내로 1200mg의 용량에서 아테졸리주맙, 매일 2회 입으로 600mg의 용량 또는 900mg 내지 1200mg의 상승 용량에서 아나플라스틱 림프종 키나제(ALK) 저해제인 알렉티닙을 받는다. 코호트 1은 ALK I1171N, ALK I1171S, 또는 ALK G1202R 염기 치환을 또한 갖지 않는 알렉티닙에 의한 치료에 대해 자격 있는 ALK 융합으로 환자를 무작위화하고; 코호트 2는 알렉티닙에 대해 자격 있는 RET 융합으로 환자를 무작위화하고; 코호트 3은 임의의 이전에 확인된 자격 있는 ALK 또는 RET 융합, 또는 EGFR L858R 또는 엑손 19 비프레임쉬프트 결실을 함유하지 않고, CD137 효능제 또는 면역 관문 저해제, 예컨대, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 치료학적 항체에 의한 이전의 치료를 갖지 않는, 아테졸리주맙에 의한 치료에 대해 자격 있는 bTMB 점수로 환자를 무작위화한다. 아테졸리주맙 또는 알렉티닙에 의한 치료는 참가자가 임상 이익을 경험하는 한, 즉 질환 진행으로 인한 허용 불가능한 독성 또는 증상성 악화의 부재에 있는 한 계속될 수 있다. 추가적인 코호트는 다른 체세포 돌연변이(예를 들어, *ALK* 또는 *RET* 돌연변이 이외의 체세포 돌연변이)를 해결하도록 미래에 첨가될 수 있다. 환자는 기준치에서 및 주기 1 1일 이후에 48주 동안 6주마다, 이어서 이후 9주마다 종양 평가를 겪는다. 의무적인 혈액 샘플은 탐색적 예후적 및/또는 예측적 바이오마커를 평가하기 위해 기준치에, 치료 동안에(즉, 각각의 종양 평가에서) 및 질환 진행에서 취해진다.

[0628] 이들 2개의 실험의 원하는 효율 증점은 하기에 표 19에 요약된다.

표 19

B-FIRST 및 BFAST 연구 상세내용

연구	치료	계획된 등록 (N)	1차 종점	중요한 2차 종점
B-FIRST II 상	아테졸리주맵 (MPDL3280A) 1200 mg IV q3w	150	효율 목적을 위해 RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) ORR 바이오마커 목적에 대한 RECIST v1.1에 따른 PFS와 다양한 bTMB 점수 분위수 사이의 관계	RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) PFS 및 DOR OS 다양한 바이오마커의 평가 및 임상 결과와의 상관관계
BFAST - II/III상				
코호트 A ALK+	알렉티닙 600 mg PO b.i.d.	78	RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) ORR	RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) DOR, CBR 및 PFS RECIST v1.1에 따른(IRF 평가된) ORR, DOR, CBR 및 PFS OS
코호트 B RET+	알렉티닙 900, 1200 또는 750 mg PO b.i.d. mg 용량 상승	52-62	RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) ORR	RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) DOR, CBR 및 PFS RECIST v1.1에 따른(IRF 평가된) ORR, DOR, CBR 및 PFS OS
코호트 C bTMB 점수+	아테졸리주맵(MPDL3280A) 1200 mg IV q3w 또는 백금 기반 화학요법 ³	440 (R, 1:1)	RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) PFS	OS RECIST v1.1에 따른(IRF 평가된) PFS, ORR 및 DOR RECIST v1.1에 따른(INV 평가된) ORR 및 DOR 6개월 및 12개월 PFS율
* 비편평 조직학에 대한 시스플라틴 또는 카보플라틴 + 페메트렉시드(500 mg/m ²)(페메트렉시드가 각각의 21일 주기의 1일에 투여되고, 이후 대략 30분 후 카보플라틴 또는 시스플라틴이 투여됨), 및 편평 조직학에 대한 시스플라틴 또는 카보플라틴 + 겐시타빈(겐시타빈 1250mg/m ² (시스플라틴과 조합) 또는 1000mg/m ² (카보플라틴과 조합)가 각각의 21일 주기의 1일 및 8일에 30분에 걸쳐 IV 점적주사에 의해 투여되고, 이후 오직 1일에 겐시타빈 점적주사의 완료 후 대략 30분에 시스플라틴 또는 카보플라틴이 투여됨). 표준 권리에 따라 투여됨. INV, 조사자; IRF, 독립 검토 시설; R, 무작위화됨; bTMB, 혈액 중앙 돌연변이 부담; PO, 개월에 의해; b.i.d., 1일 2회				

[0629]

[0630] B-FIRST 중간 분석 집단으로부터의 결과

[0631] B-FIRST 연구로부터의 중간 분석 집단(IAP)에서의 78명의 치료된 환자 중에서, 58명은 순환 종양 DNA(MSAF ≥ 1%)의 충분한 검출로 적절한 혈액 샘플을 갖고, 바이오마커 평가 가능한 집단(BEP)을 포함하였다. IAP의 1명의 환자는 결코 치료되지 않고 따라서 안전성 또는 효율 평가 불가능하다. 16의 bTMB 점수(유병률, 19% [11/58])는 BEP에서 임상 효율(bTMB 높은, ≥ 16; bTMB 낮은, < 16)을 평가하도록 미리 기재되었다. 통계 시험은 0.1 수준 및 90% 신뢰 간격에서 2측이었다. 도 19를 참조한다.

[0632] 기준치 특징은 IAP 및 BEP에서 유사하였다(도 20). 6개월의 최소 추적관찰에 의해서, 중앙치 PFS는 bTMB 하이 대 로우에 대해 9.5 대 2.8개월이었다; HR, 0.51(90% CI, 0.24, 1.08; P=0.1315)(도 24 및 표 20). bTMB 점수가 증가하면서 PFS HR은 개선되었다(표 21 및 도 25). BEP에서, ORR은 12.1%(7/58)이고, 질환 조절 비율은 25.9%였다(15/58)(표 22 및 도 21). bTMB 하이 대 로우 그룹에서, ORR은 36.4%(4/11) 대 6.4%(3/47); 승산비, 8.38(90% CI, 2.02, 34.79; P=0.02)이었다(표 22 및 도 21). 도 22는 중간 분석 집단에서 bTMB 하위그룹에 의한 기준치로부터의 최대 SLD 감소를 나타낸다. 이들 데이터는 가장 bTMB 높은 환자가 감소된 SLD에 의해 측정된

바와 같이 임상 이익을 갖는다는 것을 나타낸다. 도 23a 및 도 23b는 bTMB 하위그룹에 의해 시간에 걸친 종양 부담의 변화를 나타낸다. 이들 데이터는 bTMB 높은 하위그룹이 더 높은 수의 PR 및 더 적은 PD의 면에서 개선된 반응을 갖고, 이익이 오래간다는 것을 나타낸다. 치료 관련된 중증 AE 및 치료 관련된 3/4 등급 AE는 각각 환자의 14.1% 및 16.7%에서 발생하고; 15.4%는 중단을 발생시키는 AE를 경험하였다(표 23). 표 24는 Medical Dictionary for Regulatory Activities(MedDRA)에 따라 특별히 관심 있는 AE를 나타낸다. 도 27은 안전성 평가 가능한 중간 분석 집단의 10% 이상에서 관찰된 AE를 나타낸다.

표 20

bTMB ≥16 대 <16 하위그룹에서 무진행 생존율

	bTMB 하이 (n = 11)	bTMB 로우 (n = 47)
중앙치 PFS	9.5개월	2.8개월
90% CI ^a	1.3, 9.5	1.7, 4.3
HR	0.51	
90%CI ^a	0.24, 1.08	
p 값	0.1315	

^a 프로토콜에 따라, bTMB 고 대 저 하위그룹 사이의 효율 차이는 0.1의 유의 수준에서 시험되고, 90%CI가 제공된다.

[0633]

표 21

bTMB 컷오프 점수에 의한 PFS(개월)(BEP, n=58)

bTMB 점수	bTMB 하이 중앙치 (n)	bTMB 로우 중앙치 (n)	HR	90% CI
12	3.0 (22)	3.2 (36)	0.95	0.55, 1.63
14	3.4 (14)	3.2 (44)	0.73	0.39, 1.39
16	9.5 (11)	2.8 (47)	0.49	0.23, 1.04
20	9.5 (8)	2.7 (50)	0.23	0.08, 0.62

[0634]

표 22

RECIST v.1.1 에 따른 ORR

	IAP (n = 78)	BEP (n = 58)	bTMB 로우 (n = 47)	bTMB 하이 (n = 11)
ORR	15.4%	12.1%	6.4%	36.4%
PR	15.4%	12.1%	6.4%	36.4%
SD	33.3%	34.5%	36.2%	27.3%
PD	37.2%	37.9%	38.3%	36.4%

[0635]

표 23

중간 분석 집단(IAP)에 대한 안전성 요약

IAP에서의 환자 (n = 78)	n (%)
AE, 임의의 원인	78 (100.0%)
치료 관련된 AE	59 (75.6%)
SAE, 임의의 원인	35 (44.9%)
치료 관련된 SAE	12 (15.4%)
등급 3-4 AE, 임의의 원인	40 (51.3%)
치료 관련된 등급 3-4 AE	15 (19.2%)
등급 5 AE, 임의의 원인 ^a	3 (3.8%)
치료 중단을 발생시키는 AE	12 (15.4%)

^a 등급 5 사건은 '사망'(n=1), 심박 정지(n=1) 및 폐 색전(n=1)으로 보고됨.

^b 치료 관련된 등급 5 AE 가 보고되지 않음.

[0636]

표 24

특별히 관심 있는 AE

특별히 관심 있는 AE, n (%)	전체 (n = 78)	등급 3-4 ^c (n = 78)
MedDRA PT		
폐장염	6 (7.7%)	4 (5.1%)
피부 및 피하	12 (15.4%)	0
AST 상승	5 (6.4%)	0
ALT 상승	5 (6.4%)	0
감상전기능저하증	5 (6.4%)	0
감상전기능항진증	2 (2.6%)	0
부신기능부전증	1 (1.3%)	1 (1.3%)
대장염	2 (2.6%)	1 (1.3%)
각막염	1 (1.3%)	0

ALT, 알라닌 아미노전달효소; AST, 아스파르테이트 아미노전달효소; PT, 바람직한 기간; SAE, 심각한 부작용. ^c결장염(등급 4)을 제외한 모든 등급 3 사건.

[0637]

[0638]

결론

[0639]

B-FIRST는 1L NSCLC에서 아테졸리주맵에 대한 예측적 치료 마커로서 bTMB를 평가하는 제1 전향적 임상 실험이다. 중간 데이터는 16 이상의 bTMB 점수가 아테졸리주맵 단일치료로 치료된 환자에서 PFS 이익에 대해 예측적일 수 있다는 것을 나타낸다(bTMB 높은 하위그룹 대 낮은 하위그룹에 대한 중앙치 PFS, 9.5 대 2.8개월; HR = 0.51, 90% CI: 0.24, 1.08; p = 0.1315). 36.4 및 6.4%의 ORR은 각각 bTMB 높은 및 낮은 하위그룹에서 관찰되어서, bTMB 높은 환자가 더 높은 ORR을 갖는다는 것을 나타낸다. 아테졸리주맵은 잘 관용되고, 새로운 안전성 신호가 관찰되지 않았다. 이들 데이터는 진행중인 III상 BFAST 실험에서 환자의 bTMB 선택을 지지한다. B-FIRST는 진행중이고, 153명의 환자에서 완전히 등록하였다. 실시예 1 내지 5에 기재된 데이터는 높은 bTMB가 PD-L1 축 결합 길항제, 예컨대, 항-PD-L1 항체, 아테졸리주맵에 반응할 것 같은 환자를 확인하기 위해 사용될 수 있는 암-에그노스틱 바이오마커로서 작용할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0640]

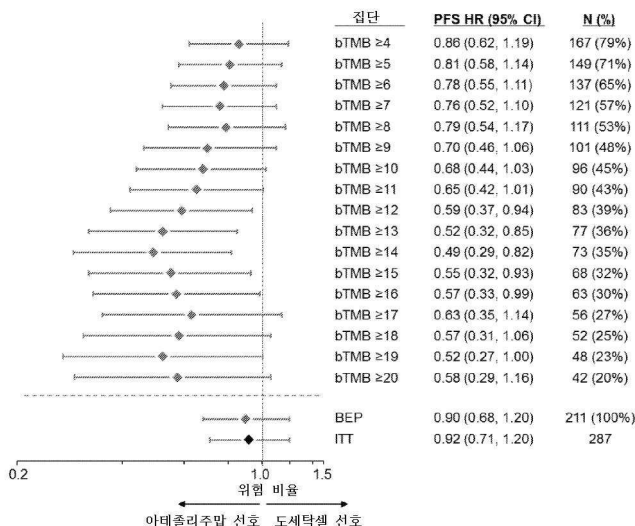
다른 실시형태

[0641]

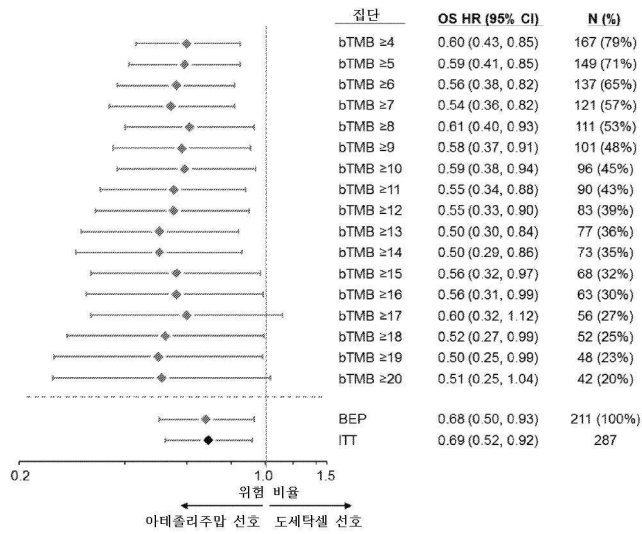
상기 발명이 이해의 명확성의 목적을 위해 예시 및 예로 약간 자세히 기재되어 있지만, 설명 및 예는 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본 명세서에 인용된 모든 특허 및 과학 문헌의 개시내용은 그 전문이 참고로 명확히 인용된다.

도면

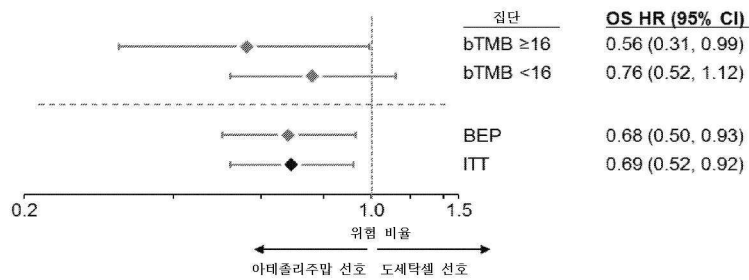
도면1a



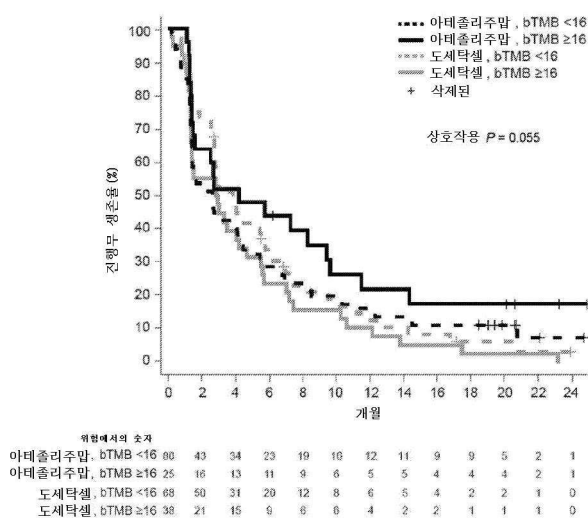
도면1b



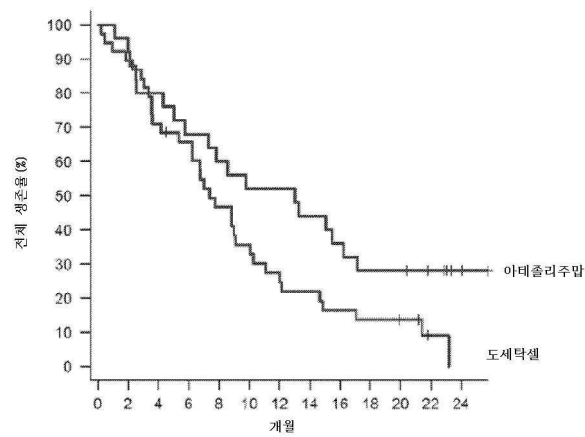
도면1c



도면1d

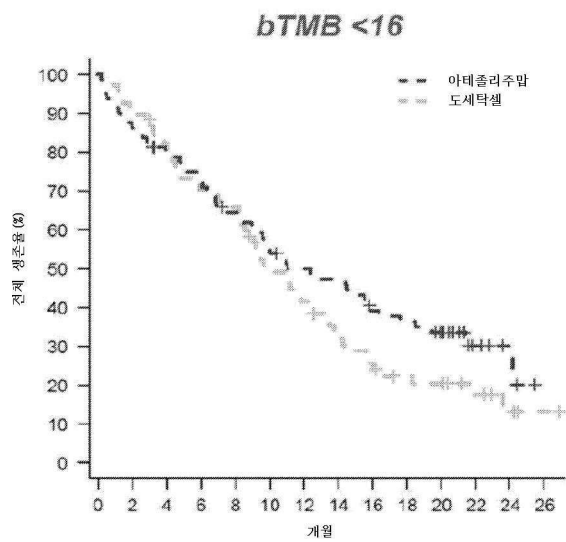


도면1e



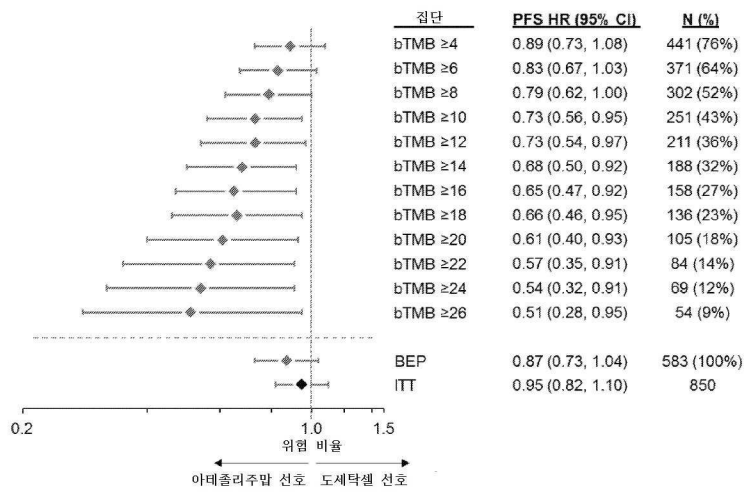
아테졸리주맙	25	24	20	17	15	13	13	11	9	7	7	5	2
도세탁셀	38	34	27	24	17	13	10	8	6	5	4	1	0

도면1f

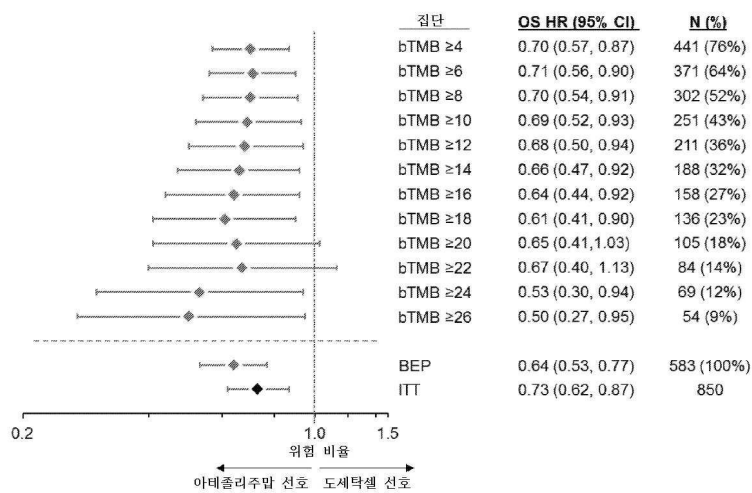


아테졸리주맙	80	70	62	57	49	43	37	35	28	26	22	7	3	0
도세탁셀	68	62	55	47	44	33	27	21	16	12	11	6	3	1

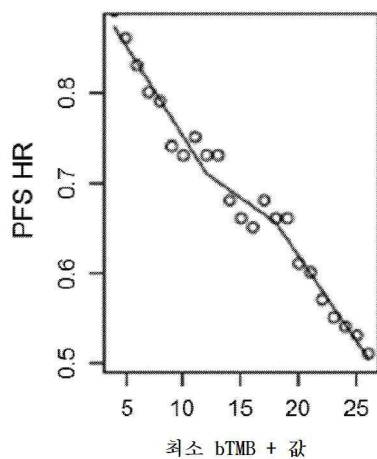
도면2a



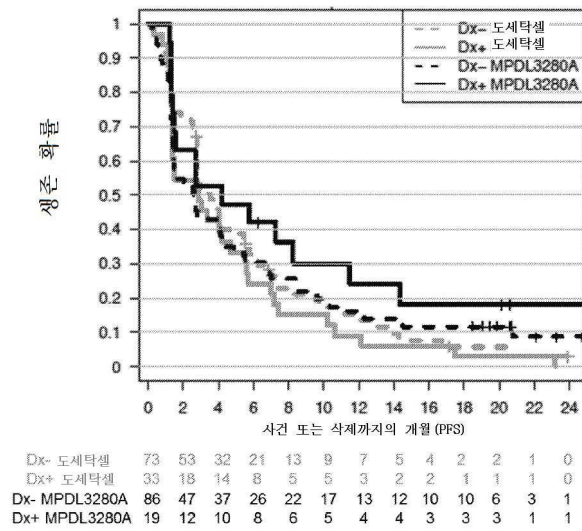
도면2b



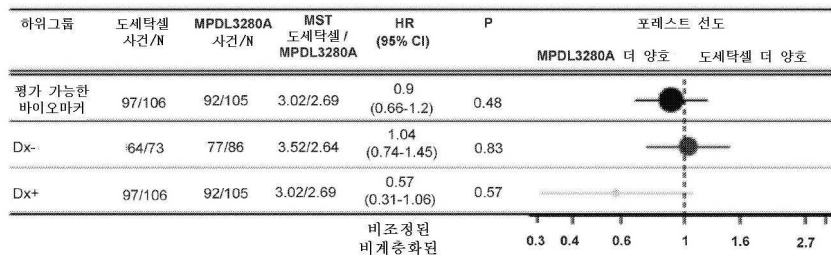
도면2c



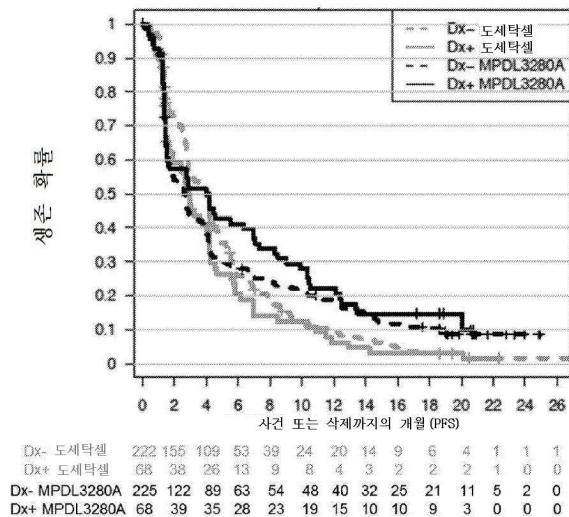
도면3a



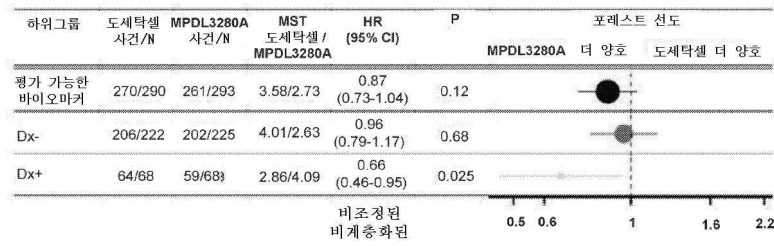
도면3b



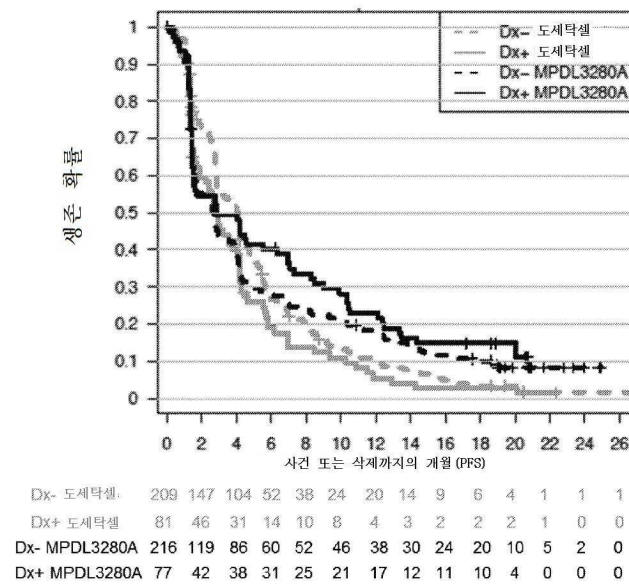
도면4a



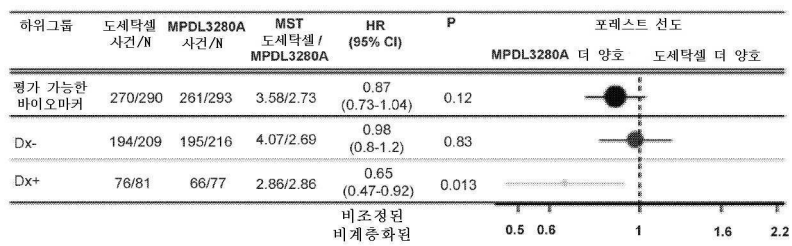
도면4b



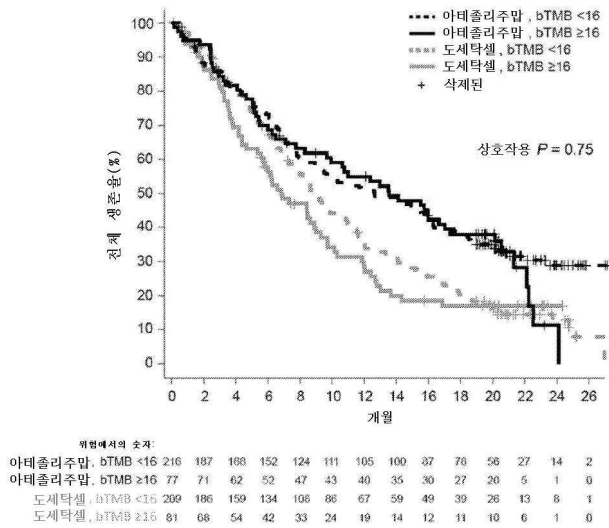
도면5a



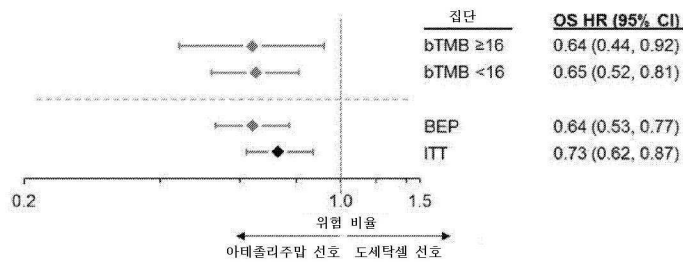
도면5b



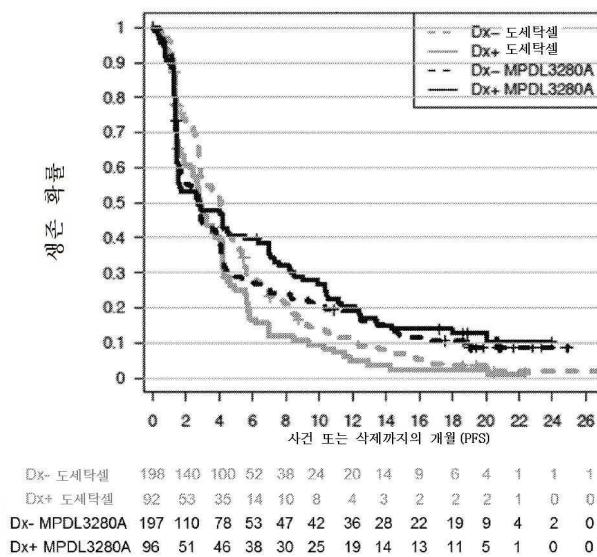
도면5c



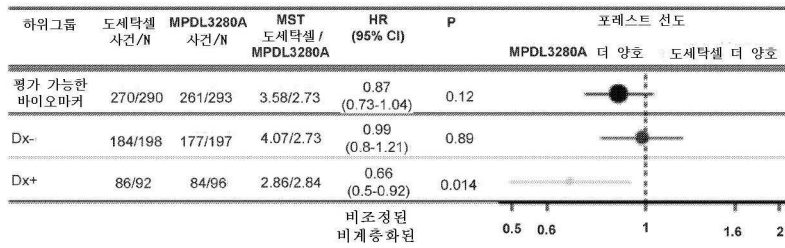
도면5d



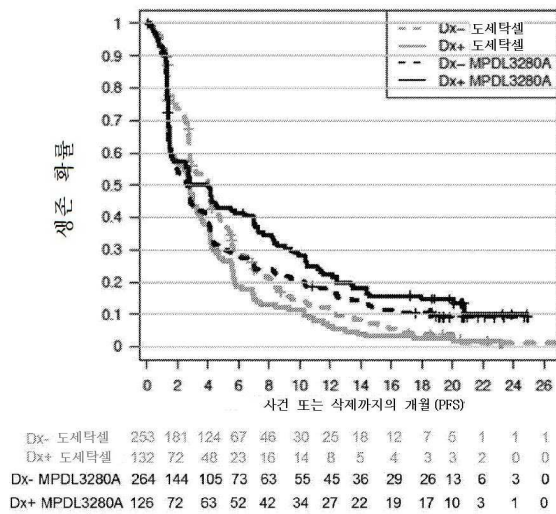
도면6a



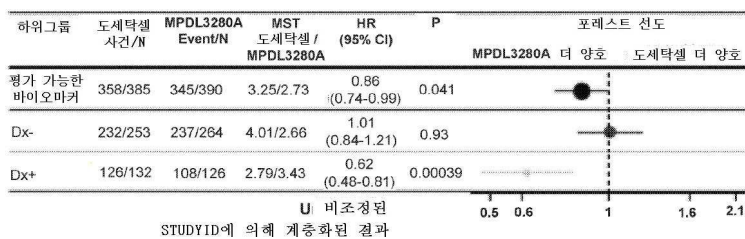
도면6b



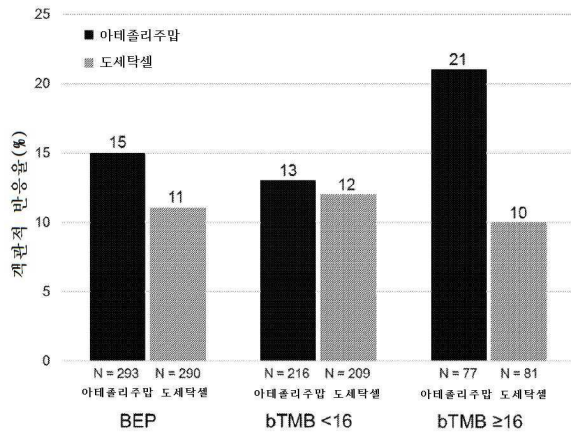
도면7a



도면7b



도면8

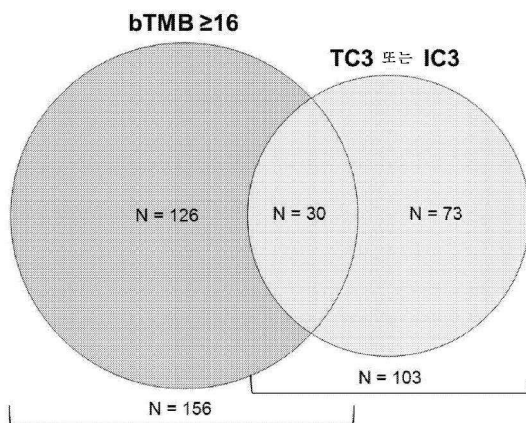


도면9a

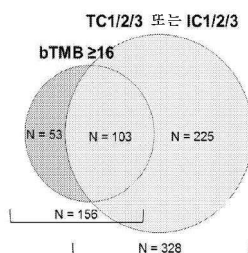
bTMB 사분위	TC0 및 IC0	TC1/2/3 또는 IC1/2/3 ^a	TC2/3 또는 IC2/3 ^b	TC3 또는 IC3
0%	0	1	0	0
25%	3	4	4	3
50%	7	8	9	10
75%	14	18	18	18
100%	67	40	66	57

^a TC2/3 또는 IC2/3 환자를 제외한 TC1/2/3 또는 IC1/2/3 환자 ; ^b TC3 또는 IC3 환자를 제외한 TC2/3 또는 IC2/3 환자

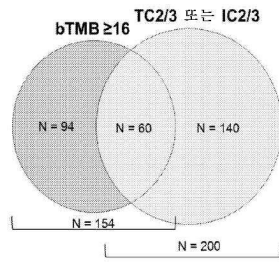
도면9b



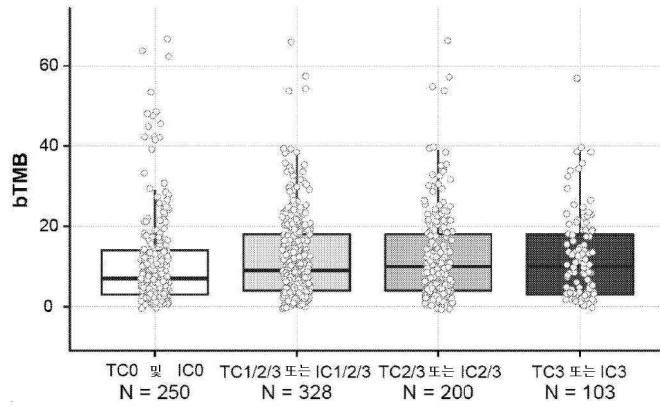
도면9c



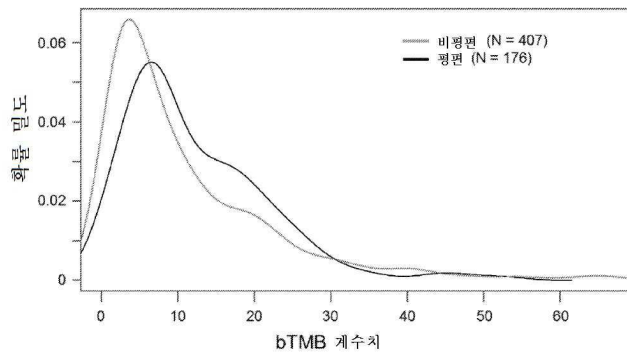
도면9d



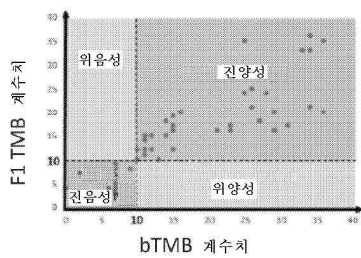
도면9e



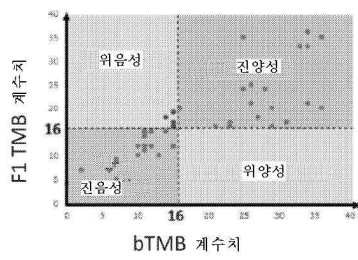
도면10



도면11a



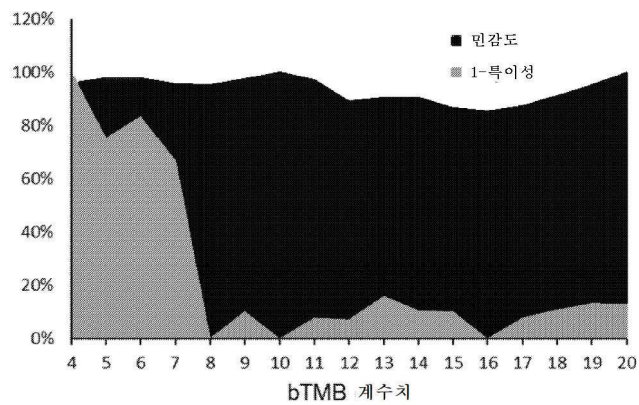
도면11b



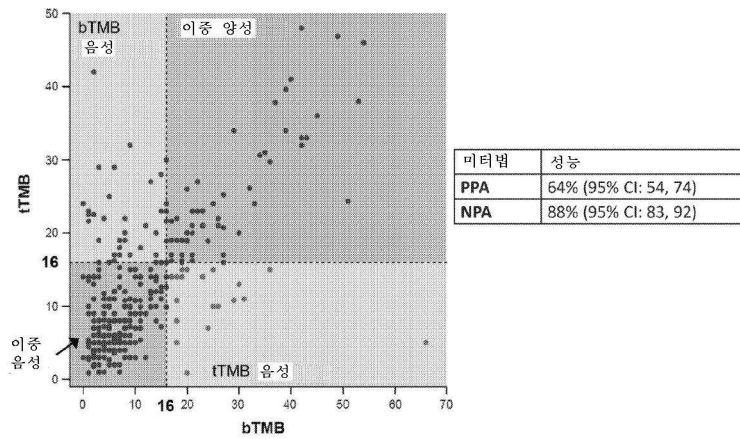
도면11c

bTMB	PPA	NPA
≥ 10	100.0%	100.0%
≥ 11	94.6%	92.3%
≥ 12	89.1%	92.9%
≥ 13	94.0%	84.2%
≥ 14	90.0%	89.5%
≥ 15	85.7%	90.0%
≥ 16	89.1%	100.0%
≥ 17	90.2%	89.3%
≥ 18	92.1%	83.9%
≥ 19	94.4%	81.8%
≥ 20	97.1%	82.4%

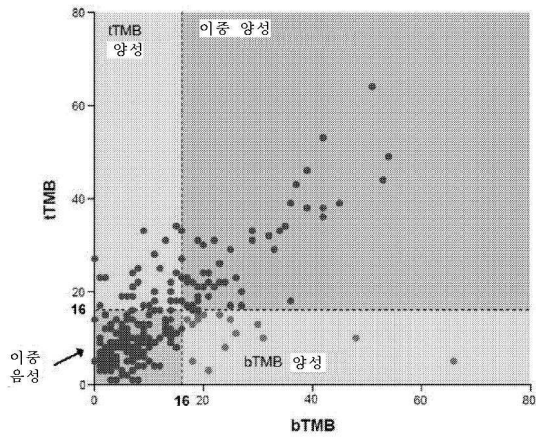
도면11d



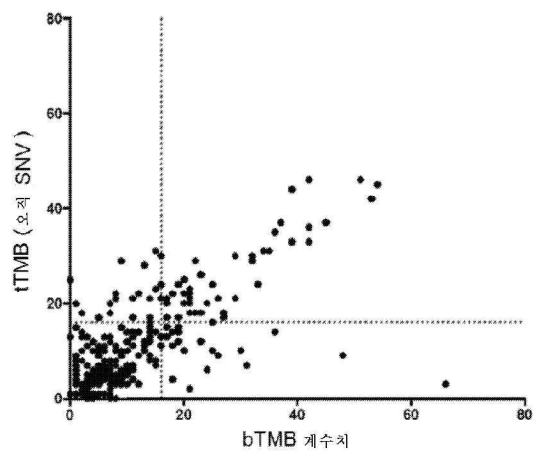
도면11e



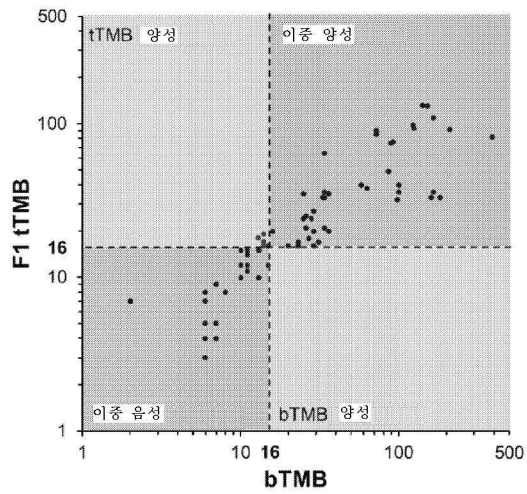
도면11f



도면11g



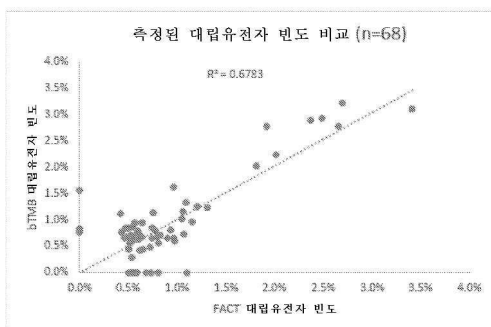
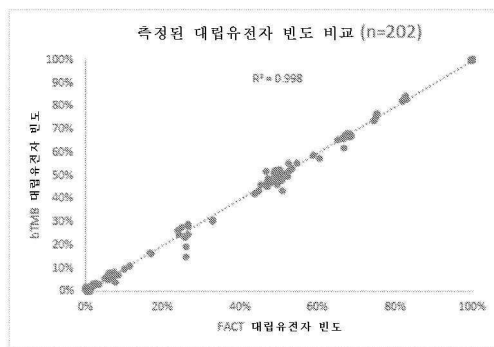
도면11h



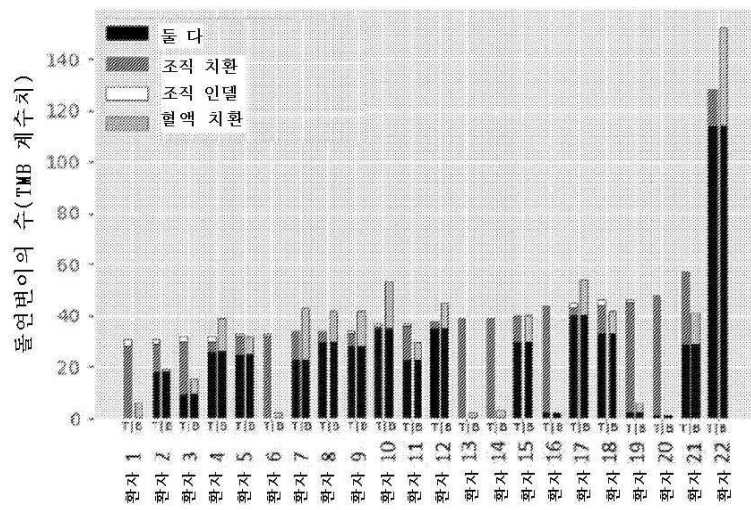
도면11i

	명칭	값	ctDNA 샘플	코멘트
PPA: FACT를 bTMB와 비교	전체 (변이체)	93.4% (171 / 183)	변이체를 갖는 69개 샘플, 전체 81개	0.5-1.1% 범위의 위양성 VAF (FACT로부터 음)
	% 완벽한 샘플	84.1% (58 / 69)		
PPV: bTMB를 FACT와 비교	전체 (변이체)	93.5% (43 / 46)	변이체를 갖는 33개 샘플, 전체 81개	위양성 VAF: 0.76, 0.82, 1.56% (bTMB-동종중합체 트랙으로부터 음)
	% 완벽한 샘플	90.9% (30 / 33)		

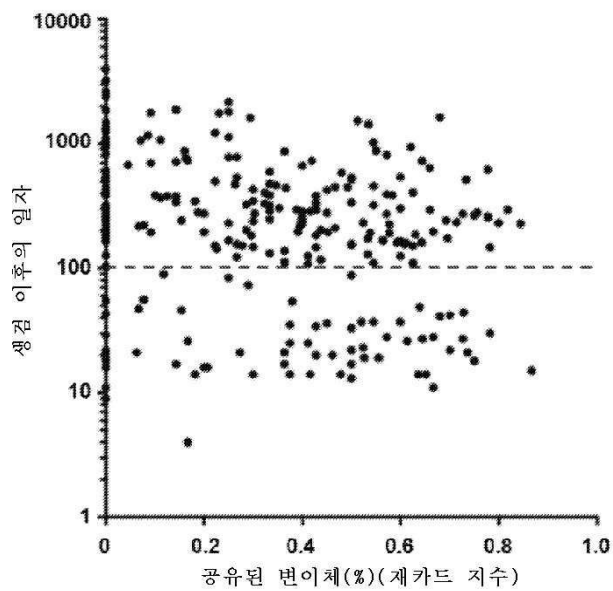
도면11j



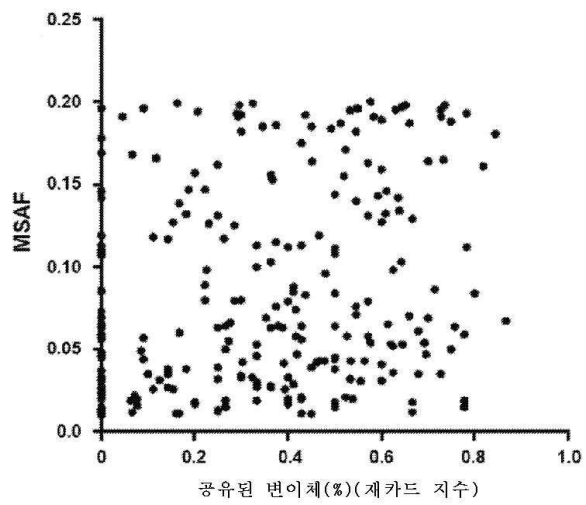
도면11k



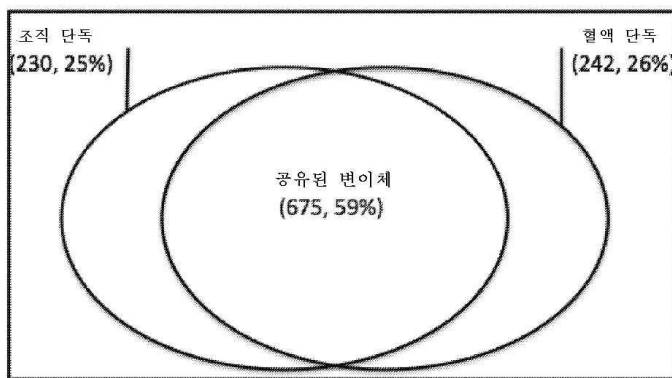
도면11l



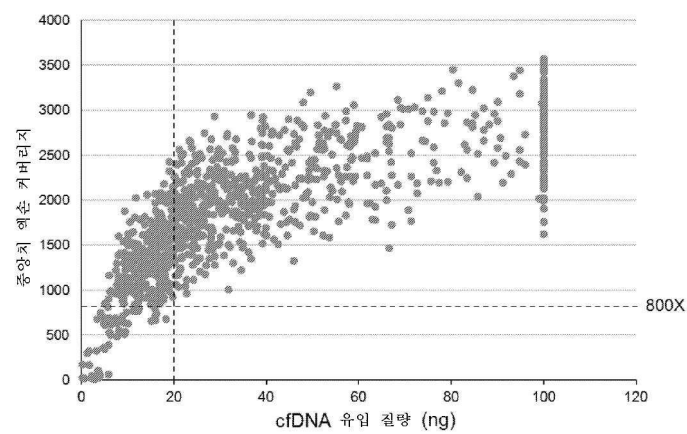
도면11m



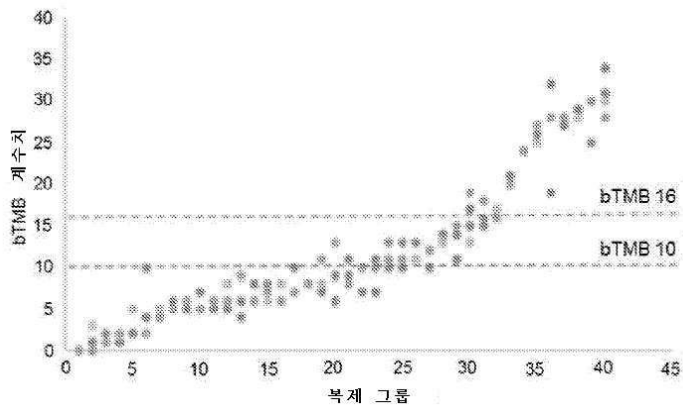
도면11n



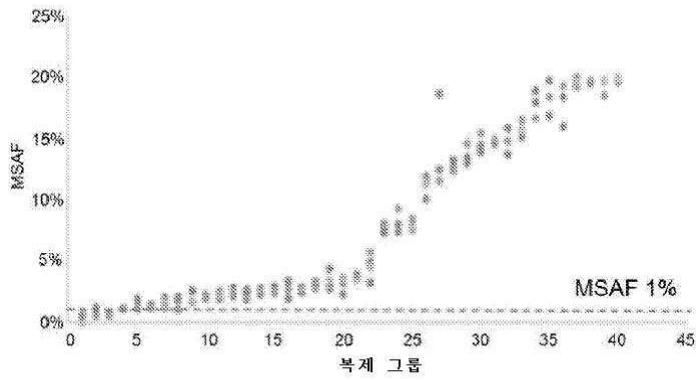
도면12



도면13a

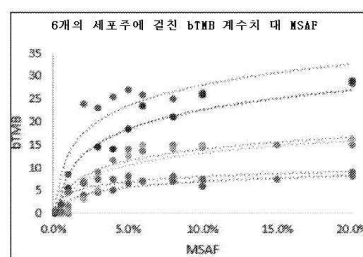


도면13b

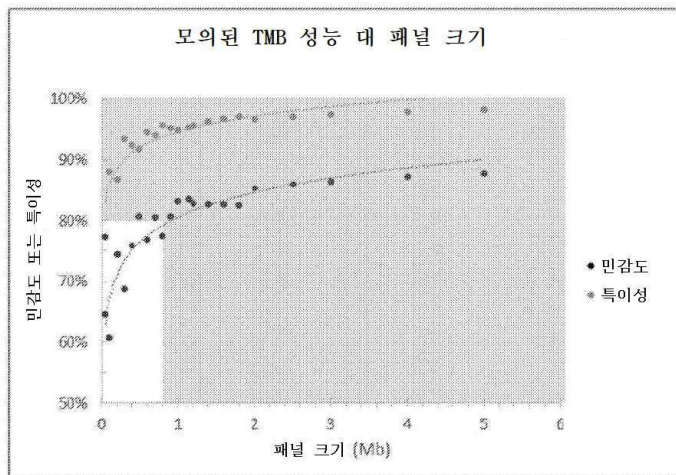


도면14

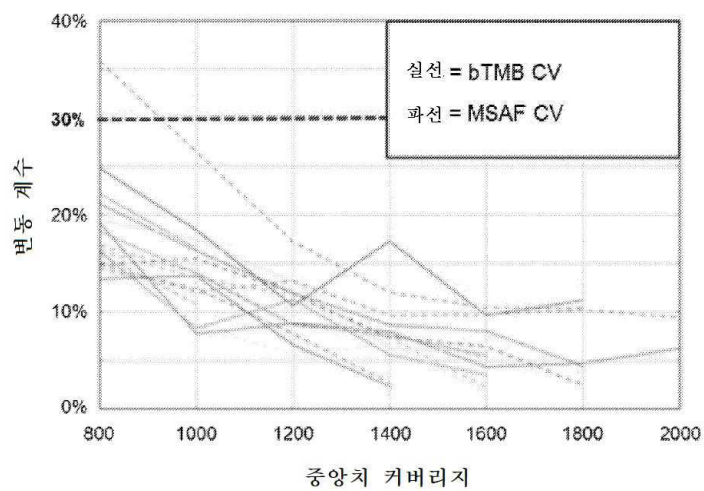
MSAF	bTMB 10	bTMB 16
≥0.1%	74%	87%
≥0.5%	77%	89%
≥1.0%	82%	91%
≥2.0%	88%	94%
≥3.0%	93%	95%
≥4.0%	97%	97%
≥5.0%	100%	100%
≥6.0%	100%	100%
≥8.0%	100%	100%
≥10.0%	100%	100%
≥15.0%	100%	100%
≥20.0%	100%	100%



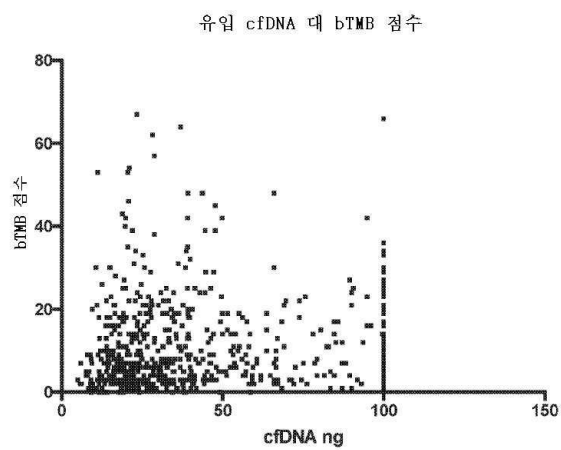
도면15



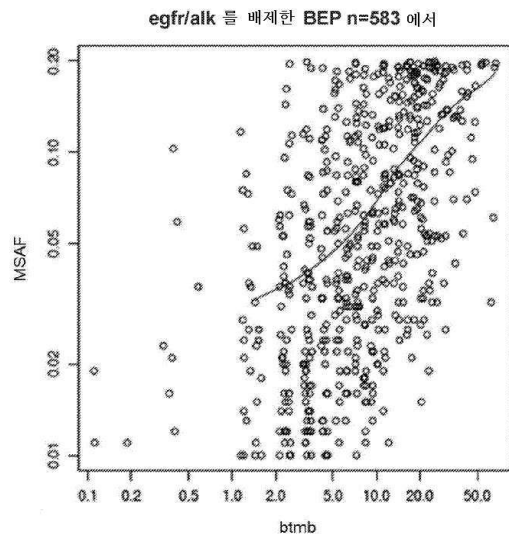
도면16



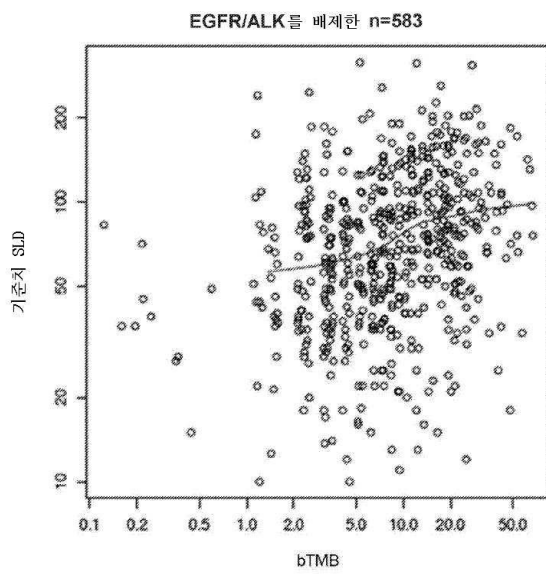
도면17



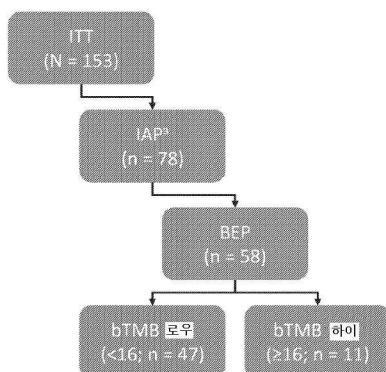
도면18a



도면18b



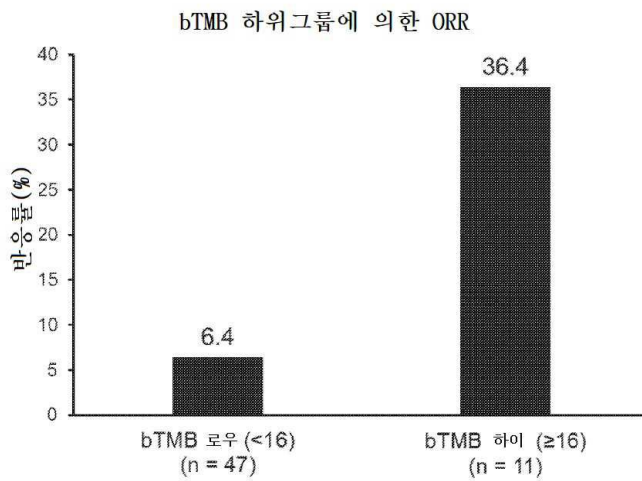
도면19



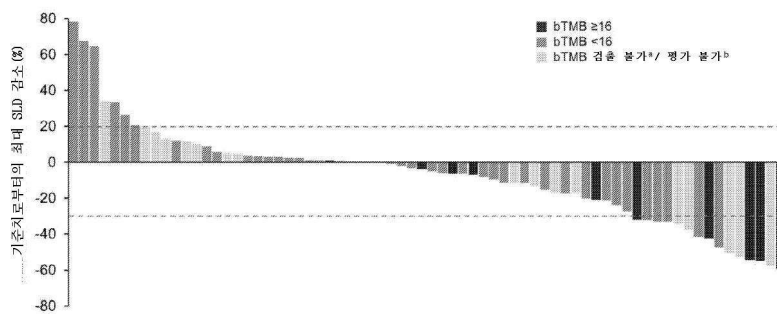
도면20

특징	IAP (n = 78)	BEP (n = 58)	bTMB 로우 (<16; n = 47)	bTMB 하이 (≥16; n = 11)
중앙치 나이 (범위),	68.0 (39-90)	69.0 (47-90)	69.0 (47-90)	69.0 (54-86)
남성 여성	62.8% 37.2%	58.6% 41.4%	55.3% 44.7%	72.7% 27.3%
ECOG PS, % 0 1	30.8% 69.2%	25.9% 74.1%	23.4% 76.6%	36.4% 63.6%
흡연 병력 % 아님 현재 이전	1.3% 19.2% 79.5%	0 22.4% 77.6%	0 17.0% 83.0%	0 45.5% 54.5%
조직학, n (%) 비편평 편평	57 (73.1%) 21 (26.9%)	41 (70.7%) 17 (29.3%)	36 (76.6%) 11 (23.4%)	5 (45.5%) 6 (54.5%)
PD-L1 IHC, n (%) 음성 양성 손실	14 (17.9%) 33 (42.3%) 31 (39.7%)	12 (20.7%) 23 (39.7%) 23 (39.7%)	8 (17.0%) 22 (46.8%) 17 (36.2%)	4 (36.4%) 1 (9.1%) 6 (54.5%)
표적 병변의 중앙치 SLD (범위), mm	69.5 (15.0-257.0)	77.0 (15.0-257.0)	70.0 (15.0-172.7)	113.0 (29.0-257.0)

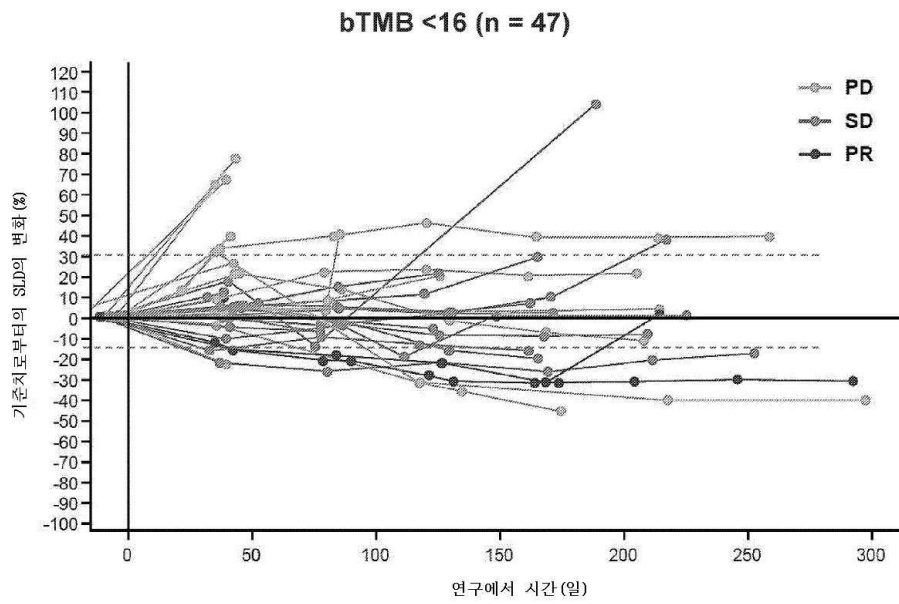
도면21



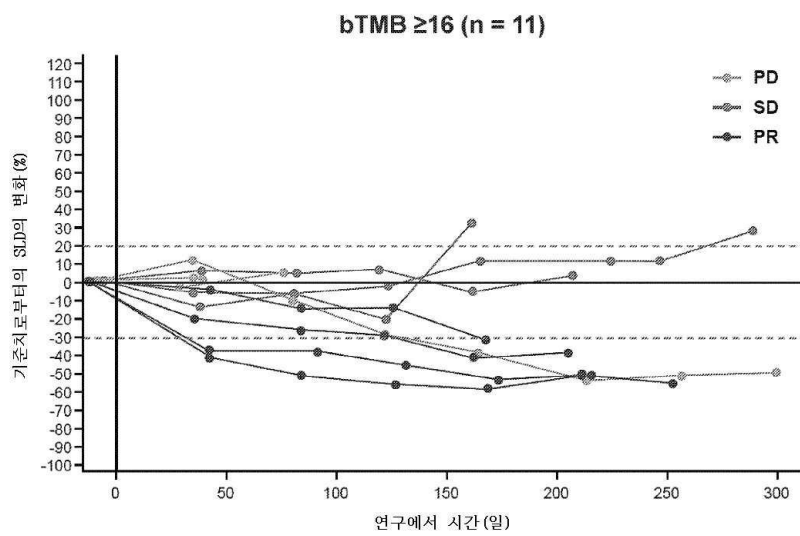
도면22



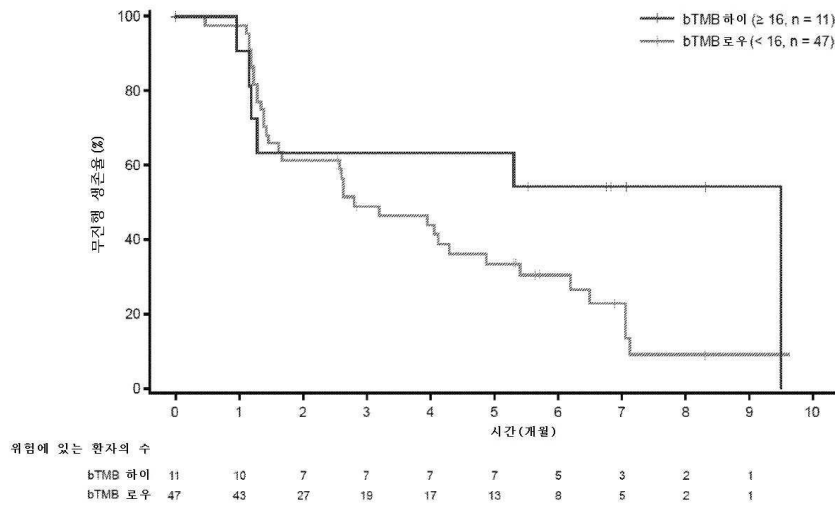
도면23a



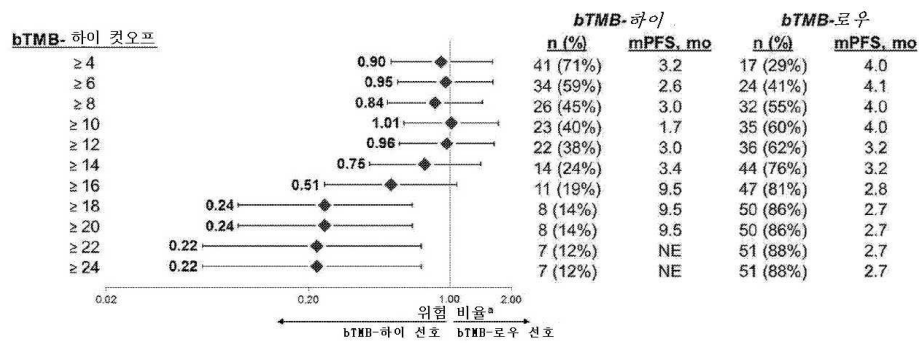
도면23b



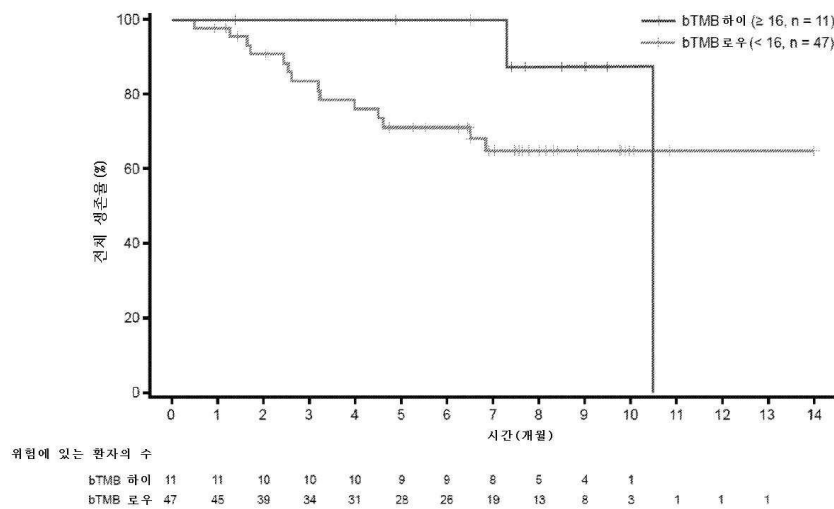
도면24



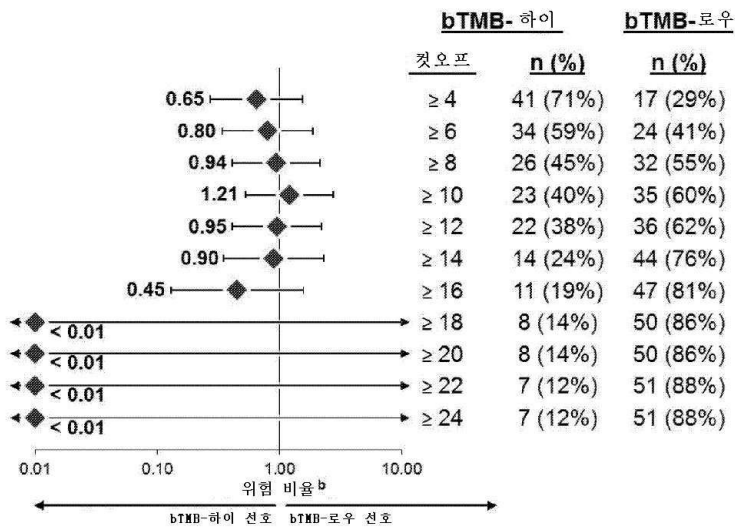
도면25



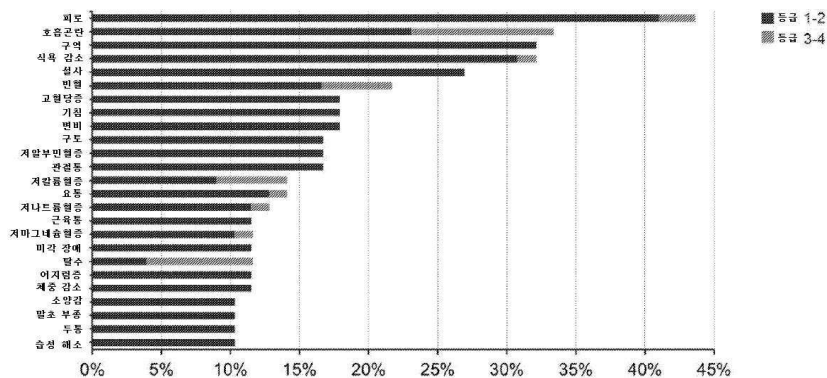
도면26a



도면26b



도면27



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Genentech, Inc.

Foundation Medicine, Inc.

<120> THERAPEUTIC AND DIAGNOSTIC METHODS FOR CANCER

<130> 50474-155W05

<150> US 62/680,516

<151> 2018-06-04

<150> US 62/652,843

<151> 2018-04-04

<150> US 62/553,034

<151> 2017-08-31

<150> US 62/535,605

<151> 2017-07-21

<160> 31

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 1

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

100 105 110

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

115 120 125

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
180 185 190

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
195 200 205

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
210 215 220

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
245 250 255

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
305 310 315 320

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

420 425 430
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440
 <210> 2
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Synthetic construct
 <400> 2
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 3

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 3

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> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 4

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> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Asp or Gly

<400> 5

Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 6

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<

223> Xaa is Ser or Leu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Thr or Ser

<400> 6

Ala Trp Ile Xaa Pro Tyr Gly Gly Ser Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 7

Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 8

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 8

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

20 25

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 9

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

1 5 10

<210> 10

<211> 32

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 10

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala 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> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 11

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Asp or Val

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Val or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Ser or Asn

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is Ala or Phe

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Val or Leu

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Ala

1 5 10

<210> 13

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Phe or Thr

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is Tyr or Ala

<400> 13

Ser Ala Ser Xaa Leu Xaa Ser

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Tyr, Gly, Phe, or Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Leu, Tyr, Phe, or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Tyr, Asn, Ala, Thr, Gly, Phe, or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is His, Val, Pro, Thr, or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xa is Ala, Trp, Arg, Pro, or Thr

<400> 14

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 15

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic construct

<400> 15

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

20

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 16

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 17

<211> 32

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 17

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 18

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 19

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 20

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 20

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

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 21

Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 23

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 24

<

211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 24

Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala Thr

1 5

<210> 25

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 25

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 Ala Ser Thr Lys

115 120

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 26

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 27

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 27

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

20 25 30

<210> 28

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 28

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

1 5 10

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 29

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

1 5 10 15

<210> 30

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 30

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly 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 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270

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

275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 31

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 31

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

 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210