



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0076025
(43) 공개일자 2021년06월23일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C07K 16/2827 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2021-7012944</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2019년10월15일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2021년04월28일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2019/056210</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2020/081497
국제공개일자 2020년04월23일</p> <p>(30) 우선권주장
62/745,464 2018년10월15일 미국(US)
(뒷면에 계속)</p> | <p>(71) 출원인
파이프 프라임 테라퓨틱스, 인크.
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 불러바드 111</p> <p>(72) 발명자
이남다르 산딕 피
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 불러바드 111
콜린스 헬렌 엘
미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 불러바드 111
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
특허법인코리아나</p> |
|--|---|

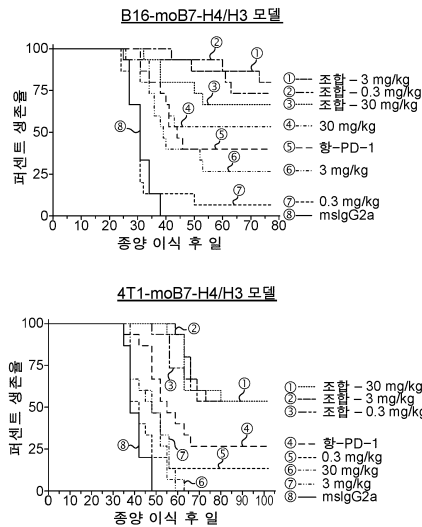
전체 청구항 수 : 총 53 항

(54) 발명의 명칭 암 병용 요법

(57) 요약

본 개시 내용은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 항-PD-1 항체같은 PD-1/PD-L1 길항제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체, 예를 들어 암 환자에게 투여하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

C07K 16/2818 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/41 (2013.01)
C07K 2317/56 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)

(72) 발명자

상 흥

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 블러바드 111

장 상

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 블러바드 111

마리나 네이사

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 오
이스터 포인트 블러바드 111

(30) 우선권주장

62/802,091 2019년02월06일 미국(US)
62/854,494 2019년05월30일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법으로서, (i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 상보성 결정 영역(CDR) 1, 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3, 서열번호:8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL) CDR1, 서열번호:9의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3를 포함하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 0.1 내지 약 20mg/kg; 및 (ii)서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:36의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3, 서열번호:37의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:38의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3를 포함하는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 200mg을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법.

청구항 2

인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게

(a) 약제학적 조성물로, (i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 서열번호:5의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR 1, 서열번호:6의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:7의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3, 서열번호:8의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:9의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:10의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3를 포함하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 및 (ii) 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하고,

상기 조성물 중 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 적어도 95%가 어푸코실화되고,

약 0.1 내지 약 20mg/kg의 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되는 것인 약제학적 조성물; 및

(b)서열번호:34의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR1, 서열번호:35의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR2, 서열번호:36의 아미노산 서열을 포함하는 VH CDR3, 서열번호:37의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR1, 서열번호:38의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR2, 및 서열번호:39의 아미노산 서열을 포함하는 VL CDR3를 포함하는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하고, 약 200mg의 항체 또는 항원-결합 단편이 투여되는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 약 20mg/kg이 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 4

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 약 10mg/kg이 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 약 3mg/kg이 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 6

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 약 1mg/kg이 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 7

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 약 0.3mg/kg이 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 8

제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 약 0.1mg/kg이 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 9

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 상기 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편은 동시에 투여되는, 방법.

청구항 10

제 9항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 상기 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편은 같은 날 별도의 제형으로 투여되는, 방법.

청구항 11

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 12

제 8항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여된 후에 투여되는, 방법.

청구항 13

제 1항 내지 제 12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 3주에 1회 투여되는, 방법.

청구항 14

제 1항 내지 제 12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항 PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 3주에 1회 투여되는, 방법.

청구항 15

제 1항 내지 제 12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 각각 약 3주에 1회 투여되는, 방법.

청구항 16

제 1항 내지 제 15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 17

제 1항 내지 제 16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 18

제 1항 내지 제 17항 중 어느 한 항에 있어서, B7-H4는 투여 전에 면역조직화학(IHC)을 사용하여 고형 종양에서 검출되는, 방법.

청구항 19

제 1항 내지 제 18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및/또는 서열번호:12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 방법.

청구항 20

제 1항 내지 제 19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 중쇄 불변 영역 및/또는 경쇄 불변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 21

제 20항에 있어서, 상기 중쇄 불변 영역은 인간 면역글로불린 IgG₁ 중쇄 불변 영역이고/이거나 상기 경쇄 불변 영역은 인간 면역글로불린 IgG_κ 경쇄 불변 영역인, 방법.

청구항 22

제 1항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역 및/또는 서열번호:23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 23

제 1항 내지 제 22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 서열번호:22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 방법.

청구항 24

제 1항 내지 제 23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 항체 또는 이의 항원-결합 단편인, 방법.

청구항 25

제 1항 및 제 3항 내지 제 24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 어푸 코실화되는, 방법.

청구항 26

제 1항 내지 제 25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 항체인, 방법.

청구항 27

제 1항 내지 제 25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항원-결합 단편인, 방법.

청구항 28

제 27항에 있어서, 상기 항원-결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')₂, 단일 사슬 Fv(scFv), 이황화 결합된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgG ΔCH2, 미니바디, F(ab')₃, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, 단일-도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ 또는 scFv-Fc인, 방법.

청구항 29

제 2항 내지 제 29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 푸코실화는 상기 조성물에서 검출되지 않는, 방법.

청구항 30

제 1항 내지 제 29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편은 서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:33 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 방법.

청구항 31

제 1항 내지 제 30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체 또는 항원-결합 단편은 펙트롤리주맙인, 방법.

청구항 32

제 31항에 있어서, 상기 방법은 200mg의 펙트롤리주맙을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 33

제 1항 내지 제 32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 상기 대상체에게 (i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 서열번호:11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:12에 제시된 아미노산을 포함하는 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 3, 10 또는 20mg/kg; 및 (ii)펙트롤리주맙 200mg을 투여하는 단계를 포함하고, 상기 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 검출가능하게 푸코실화되지 않으며, (i) 및 (ii)는 같은 날 별도의 제형으로 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 34

제 33항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체는 서열 번호:21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 방법.

청구항 35

제 1항 내지 제 34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고형 종양이 B7-H4를 발현하는, 방법.

청구항 36

제 1항 내지 제 35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고형 종양이 절제불가능하거나 국소적으로 진행되거나 전이성인, 방법.

청구항 37

제 1항 내지 제 36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고형 종양이 유방암, 유관 암종, 자궁내막 암종, 난소암, 요로피암, 비소세포 폐암, 췌장암, 갑상선암, 신장암 및 방광암으로 구성된 군에서 선택되는, 방법.

청구항 38

제 37항에 있어서, 상기 고형 종양이 유방암 또는 난소암인, 방법.

청구항 39

제 38항에 있어서, 상기 고형 종양이 유방암인, 방법.

청구항 40

제 39항에 있어서, 상기 유방암이 진행성 유방암인, 방법.

청구항 41

제 38항 내지 제 40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유방암이 삼중 음성 유방암인, 방법.

청구항 42

제 38항 내지 제 40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유방암이 호르몬-수용체(HR)-양성 유방암인, 방법.

청구항 43

제 37항에 있어서, 상기 비소세포 폐암은 편평 세포 암종인, 방법.

청구항 44

제 1항 내지 제 43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 PD-1/PD-L1 길항제로 사전 치료를 받지 않은, 방법.

청구항 45

제 1항 내지 제 44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 종양에서 면역 세포의 수를 모니터링하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 46

제 1항 내지 제 44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 종양에서 자연 살해(NK) 세포, CD4+ 세포, 및/또는 CD8+ 세포의 수를 모니터링하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 47

제 1항 내지 제 47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 대상체에서 사이토카인 수준을 모니터링하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 48

제 1항 내지 제 47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 대상체에서 IL-2, IL-6, IL-10, TNF 및/또는 인터페론 감마(IFN γ) 수준을 모니터링하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 49

인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법으로서, (i)인간 B7-H4에 특이 적으로 결합하고 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체 약 20mg/kg; 및 (ii) 서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PD-1 항체 약 200mg을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 상기 항-B7-H4 항체 및 항-PD-1 항체는 약 3주에 1회 정맥 내로 투여되는, 인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법.

청구항 50

인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법으로서, 대상체에게

(a) 약제학적 조성물로, (i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체 및 (ii)약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하고,

상기 조성물 중의 항-B7-H4 항체의 적어도 95%가 어푸코실화되고, 약 20mg/kg의 항체가 투여되는 것인 약제학적 조성물; 및

(b)서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하고, 약 200mg의 항체 또는 항원-결합 단편이 투여되는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하고,

상기 항-B7-H4 항체 및 항-PD-1 항체는 약 3주마다 1회 정맥 내로 투여되는, 방법.

청구항 51

제 49항 또는 제 50항에 있어서, 상기 항-B7-H4 항체는 서열번호:21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 방법.

청구항 52

제 49항 내지 제 51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체는 서열번호:30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 방법.

청구항 53

제 49항 내지 제 53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 고형 종양은 유방암이고, 임의로 상기 유방암이 삼중 음성 유방암 또는 난소암인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 개시 내용은 암과 같은 질병의 치료를 위해 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체를 펩트폴리주맵과 같은 PD-1/PD-L1 길항제와 병용 투여하는 방법에 관한 것이다. 유리한 용량 레지멘(regimen)이 제공된다.

배경 기술

[0002] **1. 배경기술**

[0003] B7-H4(B7x, B7-S1 및 VTCN1로도 알려짐)는 PD-L1을 포함하는 다른 B7 패밀리를 구성원과 상동성을 공유하는 면역 조절 분자이다. 이것은 IgV 및 IgC 엑토도메인으로 구성된 I형 막횡단 단백질이다. 건강한 조직에서 B7-H4 발현은 단백질 수준에서 상대적으로 제한되지만, B7-H4는 유방, 난소 및 자궁내막의 부인과 암종과 같은 여러 고형 종양에서 발현된다. 종양에서 B7-H4의 발현은 불량한 예후와 연관되는 경향이 있다. B7-H4에 대한 수용체는 알려져 있지 않지만 T 세포 상에서 발현되는 것으로 믿어진다. B7-H4는 T 세포 활성을 직접 억제하는 것으로 믿어진다.

[0004] B7-H4의 발현 및 기능을 고려할 때, B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체는, 예를 들어 암 치료를 위한 B7-H4 활성의 조절을 포함하는 요법을 위해 개발되고 있다.

[0005] PD-1은 활성화된 T 및 B 세포에 의해 발현되는 주요 면역 체크포인트 수용체이며 면역억제를 매개한다. PD-1은 CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1 및 BTLA를 포함하는 CD28 패밀리를 구성원이다. PD-1에 대한 두 개의 세포 표면 당단백질 리간드인 예정된 사멸 리간드-1(Programmed Death Ligand 1, PD-L1) 및 예정된 사멸 리간드-2(PD-L2)가 확인되었으며, 이는 항원-제시 세포 뿐만 아니라 많은 인간 암에 발현되며, PD-1에 결합시 T 세포 활성화 및 사이토카인 분비를 하향 조절하는 것으로 나타났다. 예를 들어, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체에 의한 PD-1/PD-L1 상호작용의 억제는 강력한 항종양 활성을 매개한다.

[0006] 따라서, B7-H4에 결합하는 항체 및 PD-1/PD-L1 상호작용의 억제제를 투여하기 위한 효과적인 용량 요법이 필요하다.

발명의 내용

[0007] **2. 개요**

[0008] 본원에서는 치료적 유효 용량 요법을 사용하여 PD-1/PD-L1 길항제와 조합하여 항-B7-H4 항체 및 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 제공된다. 항-B7-H4 항체 및 이의 항원-결합 단편은 20502 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 또는 20502 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편; 또는 상기 임의의 것의 어푸코실화된(afucosylated) 형태를 포함하는, 20502 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편일 수 있다. PD-1/PD-L1 길항제는 펩트폴리주맵과 같은 항-PD-1 항체, 또는 펩트폴리주맵의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편; 또는 펩트폴리주맵의 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편일 수 있다.

[0009] 특정 측면에서, 인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법은 (a)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 20502 항체의 중쇄 가변 영역(VH) 상보성 결정 영역(CDR) 1, VH CDR2, VH CDR3 및 경쇄 가변 영역(VL) CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 0.1 내지 약 20mg/kg; 및 (b)펩트폴리주맵 약 200mg을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 특정 구현양태에서, (a) 및 (b)는 동시에 또는 순차적으로 투여된다.

[0010] 특정 측면에서, 인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법은 대상체에게 (a)(i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 항체 20502의 중쇄 가변 영역 (VH) 상보성 결정 영역(CDR) 1, VH CDR2, VH CDR3 및 경쇄 가변 영역(VL) CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 (ii)약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물 및 (b) 펩트폴리주맵을 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물에서 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 적어도 95%는 어푸코실화되고, 약 0.1 내지 약 20mg/kg의 항

체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되고; 약 200mg의 펩트올리주맙이 투여된다. 특정 구현양태에서, (a) 및 (b)는 동시에 또는 순차적으로 투여된다.

- [0011] 특정 측면에서, 항체 또는 항원-결합 단편의 CDR은 카바트(Kabat)-정의된 CDR, 코티아(Chothia)-정의된 CDR 또는 AbM-정의된 CDR이다. 특정 측면에서, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 CDR3 서열은 각각 서열 번호:5-10에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0012] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 20mg/kg 또는 20 mg/kg이 대상체에게 투여된다. 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 10mg/kg 또는 10mg/kg이 대상체에게 투여된다. 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 3mg/kg 또는 3mg/kg이 대상체에게 투여된다. 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 1mg/kg 또는 1mg/kg이 대상체에게 투여된다. 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 0.3 mg/kg 또는 0.3 mg/kg이 대상체에게 투여된다. 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 0.1mg/kg 또는 0.1mg/kg이 대상체에게 투여된다.
- [0013] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 펩트올리주맙은 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0014] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 펩트올리주맙은 정맥 내로 투여된다.
- [0015] 특정 측면에서, B7-H4는 투여 전에 면역조직화학(IHC)을 사용하여 고형 종양에서 검출되었다.
- [0016] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및/또는 서열번호:12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 중쇄 불변 영역 및/또는 경쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 측면에서, 중쇄 불변 영역은 인간 면역글로불린 IgG₁ 중쇄 불변 영역이고/이거나 경쇄 불변 영역은 인간 면역글로불린 IgG_k 경쇄 불변 영역이다. 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:25에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역 및/또는 서열번호:23에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및/또는 서열번호:22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0017] 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0018] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 어푸코실화된다.
- [0019] 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전장 항체이다. 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항원-결합 단편이다. 특정 측면에서, 항원-결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')₂, 단일 사슬 Fv(scFv), 이황화 결합된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgGΔCH2, 미니바디, F(ab')₃, 테트라바디, 트리아바디, 디아바디, 단일-도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂, 또는 scFv-Fc이거나 이들을 포함한다.
- [0020] 특정 측면에서, 푸코실화는 항-B7-H4 항체를 포함하는 조성물에서 검출되지 않는다.
- [0021] 특정 측면에서, 고형 종양은 B7-H4를 발현한다.
- [0022] 특정 측면에서, 고형 종양은 절제불가능하거나 국소적으로 진행되거나 전이성이다.
- [0023] 특정 측면에서, 고형 종양은 유방암, 유관 암종, 자궁내막암, 난소암, 요로 피암, 비소세포 폐암, 췌장암, 갑상선암, 신장암 및 방광암으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 측면에서, 고형 종양은 유방암, 난소암, 자궁내막암 또는 요로피암이다. 특정 측면에서 유방암은 진행성 유방암이다. 특정 측면에서, 유방암은 HER2-음성이다. 특정 측면에서, 유방암은 삼중 음성 유방암이다. 특정 측면에서, 유방암은 호르몬 수용체(HR)-양성 유방암이다. 특정 측면에서, 비소세포 폐암은 편평 세포 암종이다. 특정 측면에서, 대상체는 PD-1/PD-L1 길항제를 사용한 사전 치료를 받지 않았다.
- [0024] 특정 측면에서, 방법은 종양에서 면역 세포의 수를 모니터링하는 것을 추가로 포함한다. 특정 측면에서, 방법은 종양에서 자연 살해(NK) 세포, CD4+ 세포 및/또는 CD8+ 세포의 수를 모니터링하는 것을 추가로 포함한다. 특정 측면에서, 방법은 대상체에서 사이토카인 수준을 모니터링하는 것을 추가로 포함한다. 특정 측면에서, 방법은 대상체에서 IL-2, IL-6, IL-10, TNF 및/또는 인터페론 감마(IFN γ) 수준을 모니터링하는 것을 추가로 포함한다.
- [0025] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 투여는 시너지 효과를 생성한다.

[0026] 특정 측면에서, 인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법은 대상체에게 (i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체 약 20mg/kg; 및 (ii)서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PD-1 항체 약 200mg을 투여하는 것을 포함하고, 상기 항-B7-H4 항체 및 상기 항-PD-1 항체는 약 3주에 1회 정맥 내로 투여된다.

[0027] 특정 측면에서, 인간 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법은 (a)(i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-B7-H4 항체 및 (ii)약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물 및 (b)서열번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호:33의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 상기 조성물에서 상기 항-B7-H4 항체의 적어도 95%는 어푸코실화되고 상기 항-B7-H4 항체의 약 20 mg/kg가 투여되고; 및 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편 약 200mg가 투여되고, 상기 항-B7-H4 항체 및 상기 항-PD-1 항체가 약 3주에 1회 정맥 내로 투여된다.

[0028] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체는 서열번호:21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:22에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 특정 측면에서, 항-PD-1 항체는 서열번호:30에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:31에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0029] 특정 측면에서, 고형 종양은, 임의로 유방암이 삼중 음성 유방암인 유방암이거나 난소암이다.

도면의 간단한 설명

[0030] **3. 도면의 간단한 설명**

도 1a, 1b 및 1c는 항-PD-1 항체와 조합한 항-B7-H4 항체의 생체내 항-종양 효능을 보여준다.(실시예 4 참조)

도 2는 항-B7-H4 항체의 용량-의존적 항-종양 활성을 보여준다.(실시예 4 참조)

도 3은 항-B7-H4 항체가 단일 요법으로서 효과적이지 않은 용량으로 투여되는 경우에도 항-B7-H4 항체는 항-PD1 항체와 시너지적으로 조합됨을 보여준다.(실시예 4 참조)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0031] **4. 상세한 설명**

[0032] PD-1/PD-L1 길항제(예를 들어, 펨브롤리주맵)와 조합하여 B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하는 항체(예를 들어, 단일클론 항체) 및 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 본원에 제공된다. 항-B7-H4 항체 및 이의 항원-결합 단편은, 예를 들어 대상체에서 고형 종양을 치료하기 위해 PD-1/PD-L1 길항제(예를 들어, 펨브롤리주맵)와 병용 투여될 수 있다. 특정 구현양태에서, 약 20mg/kg, 약 10mg/kg, 약 3mg/kg, 약 1mg/kg, 약 0.3mg/kg, 또는 약 0.1mg/kg의 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 약 200mg의 펨브롤리주맵과 병용하여 대상체에게 투여되며, 약 3주마다 투여된다.

[0033] **4.1 용어**

[0034] 본원에 사용된 용어 "B7-H4"는 천연 B7-H4 폴리펩타이드 및 B7-H4 폴리펩타이드의 이소폼(isoform)을 포함하거나 이에 제한되지 않는 포유동물 B7-H4 폴리펩타이드를 지칭한다. "B7-H4"는 전장의 처리되지 않은 B7-H4 폴리펩타이드 뿐만 아니라 세포 내에 처리 결과인 B7-H4 폴리펩타이드의 형태를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "인간 B7-H4"는 서열번호:1의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 지칭한다. "B7-H4 폴리뉴클레오타이드", "B7-H4 뉴클레오타이드" 또는 "B7-H4 핵산"은 B7-H4를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다.

[0035] 용어 "항체"는 단백질, 폴리펩타이드, 펩타이드, 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질 또는 이들의 조합과 같은 표적에 면역글로불린 분자의 가변 영역 내에서 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해서 인식하고 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자를 의미한다. 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 온전한 다중클론 항체, 온전한 단일클론 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 항체를 포함하는 융합 단백질, 및 항체가 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 포함한다. 항체는 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤라고 지칭되는 중쇄 불변 도메인의 정체성을 기반으로 면역글로불린의 다섯 가지 주요 부류의 임의의 것일 수 있다: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM 또는 이의 하위부류(아이소타입)(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4,

IgA1 및 IgA2). 상이한 부류의 면역글로불린은 상이하고 잘 알려진 서브유닛 구조 및 3 차원 입체배치를 갖는다. 항체는 독소, 방사성동위원소 등과 같은 다른 분자와 결합될 수 있거나 벗겨질 수 있다.

[0036] 용어 "항체 단편"은 온전한 항체의 일부를 지칭한다. "항원-결합 단편", "항원-결합 도메인" 또는 "항원-결합 영역"은 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 지칭한다. 항원-결합 단편은 온전한 항체의 항원 인식 부위(예를 들어, 항원에 특이적으로 결합하기에 충분한 상보성 결정 영역(CDR))를 함유할 수 있다. 항체의 항원-결합 단편의 예에는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편, 선형 항체 및 단일 사슬 항체가 포함되나 이에 제한되지는 않는다. 항체의 항원-결합 단편은 설치류(예를 들어, 마우스, 래트 또는 햄스터) 및 인간과 같은 임의의 동물 종으로부터 유래될 수 있거나 인공적으로 생산될 수 있다.

[0037] 용어 "항-B7-H4 항체", "B7-H4 항체" 및 "B7-H4에 결합하는 항체"는 항체가 충분한 친화성으로 B7-H4에 특이적으로 결합할 수 있어서 B7-H4를 표적으로 하는 진단 및/또는 치료 제제로 유용한 항체를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "특이적으로 결합하는", "면역특이적으로 결합하는", "면역특이적으로 인식하는" 및 "특이적으로 인식하는"은 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 관련하여 유사한 용어이다. 이들 용어는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 항원-결합 도메인을 통해 에피토프에 결합하고 결합이 항원-결합 도메인 및 에피토프 사이에 약간의 상보성을 수반함을 나타낸다. 따라서, 인간 B7-H4(서열번호:1)에 "특이적으로 결합하는" 항체는 또한 다른 종의 B7-H4(예를 들어, 사이노몰구스 원숭이, 마우스 및/또는 래트 B7-H4) 및/또는 다른 인간 대립 유전자로부터 생산된 B7-H4 단백질에 결합할 수 있고, 그러나 관련이 없는 비-B7-H4 단백질(예를 들어, PD-L1과 같은 다른 B7 단백질 패밀리를 구성원)에 대한 결합 정도는, 예를 들어, 방사성면역검정(RIA)에 의해 측정된 B7-H4에 대한 항체의 결합의 약 10% 미만이다.

[0038] 특정 구현양태에서, 인간, 사이노몰구스 원숭이, 마우스 및 래트 B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본원에 제공된다.

[0039] "단일클론" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 단일 항원 결정자 또는 에피토프의 고도로 특이적 결합에 관여하는 동종 항체 또는 항원-결합 단편 집단을 지칭한다. 이것은 일반적으로 다른 항원 결정자에 대한 다른 항체를 포함하는 다중클론 항체와 대조된다. 용어 "단일클론" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 온전한 및 전장 단일클론 항체뿐만 아니라 항체 단편(예: Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 사슬 (scFv) 돌연변이체, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 모두 포함한다. 또한, "단일클론" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하이브리도마, 파지 선택, 재조합 발현 및 유전자이식 동물을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 수의 방식으로 제조된 이러한 항체 및 이의 항원-결합 단편을 지칭한다.

[0040] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 상호 교환적으로 사용되며 당업계에서 일반적이다. 가변 영역은 일반적으로 항체의 일부, 일반적으로 경쇄 또는 중쇄의 일부, 일반적으로 성숙한 중쇄의 아미노 말단 약 110 내지 120개 아미노산 또는 110 내지 125개 아미노산 및 성숙한 경쇄의 약 90 내지 115개 아미노산을 의미하며, 이는 항체간에 서열이 다르고 특정 항원에 대한 특정 항체의 결합 및 특이성에 사용된다. 서열의 가변성은 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는 영역에 집중되어 있는 반면, 가변 영역에서 보다 고도로 보존된 영역은 프레임워크 영역(framework region, FR)이라고 한다. 특정한 메카니즘이나 이론에 얽매지 않고 경쇄 및 중쇄의 CDR이 항원과 항체의 상호 작용 및 특이성을 주로 담당한다고 믿어진다. 특정 구현양태에서, 가변 영역은 인간 가변 영역이다. 특정 구현양태에서, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 인간 프레임워크 영역(FR)을 포함한다. 특정 구현양태에서, 가변 영역은 영장류(예: 인간이 아닌 영장류) 가변 영역이다. 특정 구현양태에, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 영장류(예를 들어, 비-인간 영장류) 프레임워크 영역(FR)을 포함한다.

[0041] 용어 "VL" 및 "VL 도메인"은 항체의 경쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 상호 교환적으로 사용된다.

[0042] 용어 "VH" 및 "VH 도메인"은 항체의 중쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 상호 교환적으로 사용된다.

[0043] 용어 "카바트 넘버링" 및 유사 용어는 당업계에서 인식되고 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 중쇄 및 경쇄 가변 영역에서 아미노산 잔기의 넘버링 시스템을 지칭한다. 특정 측면에서, CDR은 카바트 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다(예를 들어, Kabat EA & Wu TT(1971) Ann NY Acad Sci 190:382-391 및 Kabat EA 등,(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). 카바트 넘버링 시스템을 사용하면, 항체 중쇄 분자 내의 CDR은 일반적으로 아미노산 위치 31 내지 35에 존재하며, 이는 임의로 35(Kabat 넘버링 체계에서 35A 및 35B로 지칭됨)(CDR1), 아미노산 위치 50 내지 65(CDR2) 및 아미노산 위치 95 내지 102(CDR3) 다음에 1개 또는 2개의 추가

아미노산을 포함할 수 있다. 카바트 넘버링 시스템을 사용하면 항체 경쇄 분자 내의 CDR은 일반적으로 아미노산 위치 24 내지 34(CDR1), 아미노산 위치 50 내지 56(CDR2) 및 아미노산 위치 89 내지 97(CDR3)에 존재한다. 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 항체의 CDR은 카바트 넘버링 체계에 따라 결정되었다.

[0044] 코티아는 대신에 구조적 루프의 위치를 지칭한다(Chothia 및 Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)). 카바트 넘버링 규칙을 사용하여 번호를 지정할 때 코티아 CDR-H1 루프의 끝은 루프의 길이에 따라 H32 및 H34 사이에서 달라진다(이는 카바트 넘버링 체계가 삽입을 H35A 및 H35B에 배치하기 때문이다; 35A도 35B도 존재하지 않으면, 루프는 32에서 끝나고; 35A만 있으면 루프는 33에서 끝나고; 35A와 35B가 모두 있으면 루프는 34에서 끝난다). AbM 초가변 영역은 카바트 CDR 및 코티아 구조 루프 간의 절충안을 나타내며 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다.

루프	카바트	AbM	코티아
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B (카바트 넘버링)	H26-H32..34
H1	H31-H35	H26-H35 (코티아 넘버링)	H26-H32
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

[0045]

[0046] 본원에 사용된 용어 "불변 영역" 및 "불변 도메인"은 상호교환가능하고 당해 분야에서 공통된 의미를 갖는다. 불변 영역은 항체 부분, 예를 들어 항원에 대한 항체의 결합에 직접 관여하지 않지만 Fc 수용체와의 상호작용과 같은 다양한 효과기 기능을 나타낼 수 있는 경쇄 및/또는 중쇄의 카르복실 말단 부분이다. 면역글로불린 분자의 불변 영역은 일반적으로 면역글로불린 가변 도메인에 비해 더 보존된 아미노산 서열을 갖는다. 특정 측면에서, 항체 또는 항원-결합 단편은 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)에 충분한 불변 영역 또는 이의 일부를 포함한다.

[0047] 본원에 사용된 용어 "중쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 불변 도메인의 아미노산 서열을 기반으로 임의의 구별되는 유형, 예를 들어 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ϵ), 감마(γ) 및 뮤(μ)를 지칭할 수 있으며, IgG의 하위부류, 예를 들어 IgG₁, IgG₂, IgG₃, and IgG₄를 포함하여, 항체의 각각 IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM 부류를 야기한다. 중쇄 아미노산 서열은 당업계에 잘 공지되어 있다. 특정 구현양태에서, 중쇄는 인간 중쇄이다.

[0048] 본원에 사용된 용어 "경쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 불변 도메인의 아미노산 서열을 기반으로 하는 임의의 별개 유형, 예를 들어 카파(κ) 또는 람다(λ)를 지칭할 수 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당업계에 잘 공지되어 있다. 특정 구현양태에서, 경쇄는 인간 경쇄이다.

[0049] 용어 "키메라" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 아미노산 서열이 2종 이상의 종으로부터 유래된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 지칭한다. 전형적으로, 경쇄 및 중쇄 모두의 가변 영역은 원하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 한 종의 포유 동물(예를 들어, 마우스, 래트, 토끼 등)에서 유래된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 가변 영역에 해당한 반면, 불변 영역은 해당 종에서 면역 반응의 유도를 피하기 위해 다른 종(일반적으로 인간)으로부터 유래된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 서열과 상동성이다.

[0050] 용어 "인간화된" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 최소의 비-인간(예를 들어, 뮤린) 서열을 함유하는 특이성 면역글로불린 사슬, 키메라 면역글로불린 또는 이의 단편인 비-인간(예를 들어, 뮤린) 항체 또는 항원-결합 단편의 형태를 지칭한다. 전형적으로, 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 상보적 결정 영역(CDR)의 잔기가 원하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는("CDR 접목된") 비-인간 종(예를 들어, 마우스, 래트, 토끼, 햄스터)의 CDR의 잔기로 대체된 인간 면역글로불린이다(Jones 등, Nature 321:522-525(1986); Riechmann 등, Nature 332:323-327(1988); Verhoeyen 등, Science 239:1534-1536(1988)). 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 특정 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기는 원하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 비-인간 종으로부터의 항체 또는 단편의 상응하는 잔기로 대체된다. 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 특이성, 친화성 및/또는 능력을 갖도록 정제하고 최적화하기 위해 Fv 프레임워크 영역 및/또는 비-인간 CDR 잔기 내에서 추가 잔기의 치환에 의해 추가로 변형될 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 비-인간 면역글로불린에 상응하는 CDR 영역 전부 또는 실질적으로 전부를 함유하는 가변 도메인을 포함하는 반면, FR

영역 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 컨센서스 서열의 것들이다. 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 또한 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인(Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 면역글로불린의 부분을 포함할 수 있다. 인간화 항체를 생성하는 데 사용되는 방법의 예는 문헌에 기술되어 있다(U.S. 특허 5,225,539; Roguska 등, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91(3):969-973(1994) 및 Roguska 등, Protein Eng. 9(10):895-904(1996). 일부 구현양태에서, "인간화 항체"는 재표면화된(resurfaced) 항체이다.

[0051] 용어 "인간" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 면역글로불린 유전자 유전자좌로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 의미하며, 이러한 항체 또는 항원-결합 단편은 당업계에 공지된 임의의 기술을 사용하여 제조된다. 인간 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 이러한 정의에는 온전한 또는 전장 항체 및 이의 단편이 포함된다.

[0052] "어푸코실화" 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 "푸코스(fucos)가 결여된" 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 불변 영역 글리코실화에 푸코스가 결여된 IgG1 또는 IgG3 아이소타입 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 지칭한다. 인간 IgG1 또는 IgG3의 글리코실화는 Asn297에서 최대 2개의 Gal 잔기로 종결된 코어 푸코실화된 바이안테너리 복합체(biantennary complex) 올리고사카라이드 글리코실화로 발생한다. 일부 구현양태에서, 어푸코실화된 항체는 Asn297에서 푸코스가 결여된다. 이러한 구조는 말단 Gal 잔기의 양에 따라 G0, G1(a 1,6 또는 a 1,3) 또는 G2 글리칸 잔기로 지정된다(예를 들어, Raju, T. S., BioProcess Int. 1:44-53(2003)). 항체 Fc의 CHO 유형 글리코실화는, 예를 들어, 문헌(Routier, F. FL, Glycoconjugate J. 14:201-207(1997))에 설명되어 있다.

[0053] 푸코스 측정 방법은 당업계에 공지된 임의의 방법을 포함한다. 본원의 목적을 위해, 그 전체가 본원에 참고로 포함되는 W02015/017600의 실시예 1에 기재된 방법에 의해 푸코스는 검출된다. 간단히 말하면, 글리칸 분석은 항체로부터 글리칸을 방출(예를 들어, 효소적 방출)하고, 글리칸을 안트라닐산(2-AA)으로 표지한 다음 표지된 글리칸을 정제함으로써 수행된다. 형광 검출 기능이 있는 순상 HPLC를 사용하여 글리칸을 분리하고 항체에서 각 글리칸의 상대적인 양을 측정한다. 글리칸은 질량 분석법에 의해 푸코스가 부족하거나 포함된 것으로 긍정적으로 식별될 수 있다. 일부 구현양태에서, 푸코스는 복수의 어푸코실화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 조성물에서 검출되지 않는다. 일부 구현양태에서, 어푸코실화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 Fc 감마 RIIIA에 대해 향상된 친화성을 갖는다. 일부 구현양태에서, 어푸코실화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 Fc 감마 RIIIA(V158)에 대해 향상된 친화성을 갖는다. 일부 구현양태에서, 어푸코실화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 Fc 감마 RIIIA(F158)에 대해 향상된 친화성을 갖는다.

[0054] "결합 친화성"은 일반적으로 분자의 단일 결합 부위(예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 및 이의 결합 파트너(예를 들어, 항원) 간의 비-공유 상호 작용의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 표시되지 않는 한, 본원에 사용된 "결합 친화성"은 결합 쌍(예를 들어, 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 항원) 구성원 사이의 1:1 상호 작용을 반영하는 고유 결합 친화성을 의미한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로 해리 상수(K_D)로 나타낼 수 있다. 친화성은 평형 해리 상수(K_D) 및 평형 결합 상수(K_A)를 포함하나 이에 제한되지 않는 당업계에 공지된 다양한 방식으로 측정 및/또는 표현될 수 있다. K_D 는 k_{off}/k_{on} 의 몫에서 계산되는 반면, K_A 는 k_{on}/k_{off} 몫에서 계산된다. k_{on} 은, 예를 들어 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 항원의 결합 속도 상수를 의미하고, k_{off} 는, 예를 들어 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 항원으로부터 해리되는 것을 지칭한다. k_{on} 및 k_{off} 는 BIAcore® 또는 KinExA와 같은 당업자에게 공지된 기술에 의해 결정될 수 있다.

[0055] 본원에 사용된 "에피토프"는 당업계의 용어이며 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 국소 영역을 지칭한다. 에피토프는, 예를 들어 폴리펩타이드(선형 또는 연속 에피토프)의 연속 아미노산 일 수 있거나 에피토프는, 예를 들어 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드들(입체구조, 비선형, 불연속적 또는 비-연속적 에피토프)의 두 개 이상의 비-연속 영역으로부터 모일 수 있다. 특정 구현양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 특이적으로 결합하는 에피토프는, 예를 들어 NMR 분광법, X-선 회절 결정학 연구, ELISA 검정, 질량 분석법(예를 들어, 액체 크로마토그래피 전기분무 질량 분석법)과 결합된 수소/중수소 교환, 검정-기반 올리고펩타이드 스캐닝 검정 및/또는 돌연변이유발 맵핑(예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발 맵핑)에 의해 결정될 수 있다. X-선 결정학의 경우, 결정화는 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 달성될 수 있다(예를 들어, Giege R 등,(1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4):339-350; McPherson A(1990) Eur J Biochem 189:1-23; Chayen NE(1997) Structure 5:1269-1274; McPherson A(1976) J Biol Chem 251:6300-6303). 항체/항원-결합 단편:항원 결정은 잘 공지된 X-선 회절 기술을 사용하여 연구될 수 있으며 X-PLOR(Yale University, 1992, distributed by Molecular Simulations, Inc.; Meth Enzymol(1985) volumes 114 & 115,

eds Wyckoff HW 등; U.S. 2004/0014194), 및 BUSTER(Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1):37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A:361-423, ed Carter CW; Roversi P 등 (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10):1316-1323)과 같은 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 정제될 수 있다. 돌연변이유발 맵핑 연구는 당업자에게 알려진 임의의 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 기술을 포함한 돌연변이유발 기술에 대한 설명은 문헌에 기술되어 있다(Champe M 등(1995) J Biol Chem 270:1388-1394 및 Cunningham BC & Wells JA(1989) Science 244:1081-1085).

- [0056] 용어 "예정된 세포 사멸 단백질 1" 및 "PD-1"은 CD28 패밀리에 속하는 면역 억제 수용체를 지칭한다. PD-1은 생체내에서 이전에 활성화된 T-세포에서 주로 발현되며, 두 리간드인 PD-L1 및 PD-L2에 결합한다. 본원에 사용된 용어 "PD-1"은 인간 PD-1(hPD-1), 자연 발생 변이체 및 hPD-1의 이소폼, 및 hPD-1의 중 상동체를 포함한다.
- [0057] 용어 "예정된 세포 사멸 1 리간드 1" 및 "PD-L1"은 PD-1에 결합할 때 T-세포 활성화 및 사이토카인 분비를 하향 조절하는 PD-1에 대한 2개의 세포 표면 당 단백질 리간드 중 하나(다른 하나는 PD-L2임)를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1(hPD-L1), 자연 발생 변이체 및 hPD-1의 이소폼, 및 hPD-L1의 중 상동체를 포함한다.
- [0058] 용어 "PD-1/PD-L1 길항제"는 PD-1/PD-L1 신호전달 경로를 방해하는 모이어 티를 지칭한다. 일부 구현양태에서, 길항제는 PD-1 및/또는 PD-L1에 결합함으로써 PD-1/PD-L1 신호전달 경로를 억제한다. 일부 구현양태에서, PD-1/PD-L1 길항제는 또한 PD-L2에 결합한다. 일부 구현양태에서, PD-1/PD-L1 길항제는 PD-1의 PD-L1 및 임의로 PD-L2에 대한 결합을 차단한다. 비제한적인 예시적인 PD-1/PD-L1 길항제는 PD-1 길항제, 예컨대 PD-1에 결합하는 항체, 예를 들어 니볼루맵(OPDIVO) 및 켈브 롤리주맵(KEYTRUDA); PD-L1 길항제, 예컨대 PD-L1에 결합하는 항체(예를 들어, 아테졸리주맵(TECENTRIQ), 두르발루맵 및 아벨루맵); AMP-224와 같은 융합 단백질; 및 AUR-012와 같은 펩타이드를 포함한다.
- [0059] "켈브롤리주맵"은 머크사(Merck & Co)에서 판매하는 KEYTRUDA®로 지칭되는 상업적 약제학적 제제의 활성 성분인 인간화 항-PD-1 단일클론 항체를 지칭한다.
- [0060] "분리된" 폴리펩타이드, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물은 자연에서 발견되지 않는 형태인 폴리펩타이드, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물이다. 분리된 폴리펩타이드, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물은 더 이상 자연에서 발견되는 형태가 아닌 정도로 정제된 것들을 포함한다. 일부 구현양태에서, 분리된 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포 또는 조성물은 실질적으로 순수하다. 본원에 사용된 "실질적으로 순수한"은 적어도 50% 순수(즉, 오염 물질이 없음), 적어도 90% 순수, 적어도 95% 순수, 적어도 98% 순수 또는 적어도 99% 순수인 물질을 의미한다.
- [0061] 용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있으며 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며 비-아미노산에 의해 중단 될 수 있다. 이 용어는 또한 자연적으로 또는 개입에 의해, 예를 들어, 이황화 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 표지 성분과의 접합과 같은 임의의 다른 조작 또는 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 예를 들어, 하나 이상의 아미노산(예를 들어, 비천연 아미노산 등 포함) 유사체 뿐만 아니라 당업계에 공지된 다른 변형을 함유하는 폴리펩타이드도 정의 내에 포함된다. 본 발명의 폴리펩타이드는 항체를 기반으로 하기 때문에, 특정 구현양태에서 폴리펩타이드는 단일 사슬 또는 연관된 사슬로 발생할 수 있음이 이해된다.
- [0062] 본원에 사용된 용어 "숙주 세포"는 임의의 유형의 세포, 예를 들어 1차 세포, 배양 중인 세포 또는 세포주로부터의 세포일 수 있다. 특정 구현양태에서, 용어 "숙주 세포"는 핵산 분자 및 이러한 세포의 자손 또는 잠재적 자손으로 형질 감염된 세포를 지칭한다. 이러한 세포의 자손은 핵산 분자로 형질감염된 모 세포와 동일하지 않을 수 있는데, 이는 예를 들어, 핵산 분자를 숙주 세포 계놈으로 통합하거나 후속 세대에서 발생할 수 있는 돌연변이 또는 환경 영향 때문일 수 있다
- [0063] 용어 "약제학적 제형"은 활성 성분의 생물학적 활성이 유효하도록 허용하는 형태이고, 제형이 투여될 대상체에 수용할 수 없을 정도로 독성이 있는 추가 성분을 함유하지 않는 제형을 지칭한다. 제형은 멸균될 수 있다.
- [0064] 본원에 사용된 용어 "투여하다", "투여하는", "투여" 등은 약물, 예를 들어 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 원하는 생물학적 작용 부위에(예를 들어, 정맥 내 투여) 전달을 가능하게 하는 데 사용될 수 있는 방법을 지칭한다. 본원에 기술된 제제 및 방법과 함께 사용될 수 있는 투여 기술은 문헌에서 찾을 수 있다(Goodman 및 Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, current edition, Pergamon; 및 Remington's,

Pharmaceutical Sciences, current edition, Mack Publishing Co., Easton, Pa).

- [0065] 본원에 사용된 용어 "대상체" 및 "환자"는 상호교환적으로 사용된다. 대상체는 동물일 수 있다. 일부 구현양태에서, 대상체는 비-인간 동물(예를 들어, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트, 마우스, 원숭이 또는 다른 영장류 등)과 같은 포유 동물이다. 일부 구현양태에서, 대상체는 사이노물구스 원숭이이다. 일부 구현양태에서, 대상체는 인간이다.
- [0066] 용어 "치료적 유효량"은 대상체에서 질병 또는 장애를 치료하는데 효과적인 약물, 예를 들어 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 양을 지칭한다. 암의 경우, 치료적 유효량의 약물은 암세포의 수를 줄일 수 있고; 종양 크기 또는 부담을 줄이고; 암세포가 말초 기관으로 침투하는 것을 어느 정도 억제하고; 종양 전이를 어느 정도 억제하고; 종양 성장을 어느 정도 억제하고; 암과 관련된 하나 이상의 증상을 어느 정도 완화하고; 및/또는 증가된 무-진행 생존(PFS), 무병 생존(DFS), 전체 생존(OS), 완전 반응(CR), 부분 반응(PR), 또는 몇몇 경우에, 안정 질병(SD), 진행성 질병(PD)의 감소, 진행까지의 시간 감소(TTP), 또는 이들의 임의의 조합과 같은 유리한 반응을 초래한다. 약물이 기존 암세포의 성장을 방지하고/하거나 기존 암세포를 죽일 수 있는 한, 세포증식억제 및/또는 세포독성일 수 있다.
- [0067] "치료하는", "치료", "치료하다", "완화시키는" 및 "완화시키다"와 같은 용어는 병리학의 상태 또는 장애를 치료하고, 늦추고, 증상을 완화시키고, 및/또는 진행을 중단시키는 치료적 조치를 지칭한다. 따라서, 치료가 필요한 사람들은 이미 질병으로 진단되거나 질병을 가진 것으로 의심되는 사람들을 포함한다. 특정 구현양태에서, 환자가 다음 중 하나 이상을 나타내는 경우, 대상체는 본 발명의 방법에 따라 암에 대해 성공적으로 "치료"된다: 암 세포의 수의 감소 또는 완전한 부재; 종양 크기의 감소; 예를 들어, 연조직 및 뼈로의 암 확산을 포함하여 말초 기관으로의 암 세포 침윤의 억제 또는 부재; 종양 전이의 억제 또는 부재; 종양 성장 억제 또는 부재; 특정 암과 관련된 하나 이상의 증상 완화; 감소된 이환율 및 사망률; 삶의 질 향상; 종양의 종양형성, 종양형성 빈도 또는 종양형성 능력의 감소; 종양에서 암 줄기 세포의 수 또는 빈도 감소; 종양형성 세포를 비-종양형성 상태로 분화; 증가된 무-진행 생존(PFS), 무병 생존(DFS), 전체 생존(OS), 완전 반응(CR), 부분 반응(PR), 안정 질환(SD), 진행성 질환(PD) 감소, 진행까지의 시간 단축(TTP) 또는 이들의 조합.
- [0068] 용어 "암" 및 "암성"은 세포 집단이 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물의 생리학적 상태를 지칭하거나 설명한다. 암의 예에는 부인암(예를 들어, 유방암(삼중 음성 유방암, 호르몬 수용체(HR)-양성 유방암, 유관 암종, 난소암 및 자궁내막암 포함)), 비소세포 폐암, 췌장암, 갑상선암, 신장암(예를 들어, 신장 세포 암종) 및 방광암(예: 요로피세포 암종)암이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 암은 "B7-H4를 발현하는 암" 또는 "B7-H4 발현 암" 또는 "B7-H4 양성 암"일 수 있다. 이러한 용어는 B7-H4를 발현하는 세포를 포함하는 암을 지칭한다. 암은 B7-H4를 발현하는 고형 종양일 수 있다. 암은 원발성 종양이거나 진행성 또는 전이성 암일 수 있다.
- [0069] "불응성" 암은 화학 요법과 같은 항-종양 치료를 암 환자에게 투여하더라도 진행되는 암이다.
- [0070] "재발성" 암은 초기 치료에 대한 반응 후 초기 부위 또는 먼 부위에서 재발 한 암이다.
- [0071] 본원에서 입증된 바와 같이, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 항 -PD-1 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 투여는 "시너지"를 제공하거나 "시너지 효과", 즉 유효 성분들을 함께 사용할 때 얻을 수 있는 효과는 유효 성분을 별도로 사용하여 얻은 효과의 합보다 크다. 시너지 효과는 활성 성분들이 다음과 같을 때 달성될 수 있다: (1) 조합된 단위 투여 제형으로 함께 제형화되고 투여되거나 동시에 전달되고; (2) 연속적으로, 교대로 또는 별도의 제형으로 병렬로 전달되고; 또는 (3) 다른 요법에 의해, 교대 요법으로 전달될 때, 화합물이 순차적으로 투여되거나, 예를 들어 별도의 주사기에 다른 주입에 의해 전달될 때 시너지 효과가 달성될 수 있다.
- [0072] 본 개시 내용 및 청구 범위에서 사용된 바와 같이, 단수 형태 "하나"는 문맥 상 명백하게 달리 지시하지 않는 한 복수 형태를 포함한다.
- [0073] 본원에서 구현양태가 "포함하는"이라는 용어로 설명되는 곳마다, "구성된" 및/또는 "본질적으로 구성된"의 용어로 설명된 유사한 구현양태가 또한 제공되는 것이 이해된다. 본 개시에서, "포함하다", "포함하는", "함유하는" 및 "갖는" 등은 미국 특허법에서 그들에게 부여된 의미를 가질 수 있고 "포함하다", "포함하는" 등을 의미할 수 있으며; "본질적으로 구성되는" 또는 "본질적으로 구성되다"는 마찬가지로 미국 특허법에 규정된 의미를 가지며 용어는 개방형이며, 인용된 것 이상의 존재에 의해 변경되지 않지만, 언급된 것의 기본 또는 새로운 특성이 있는 한 언급된 것 이상의 존재를 허용하며, 그러나 종래 기술의 구현양태를 제외한다.
- [0074] 구체적으로 언급되거나 문맥상 명백하지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "또는"은 포괄적인 것으로 이해된다. 본 명세서에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용되는 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A", 및 "B"를

모두 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용되는 용어 "및/또는"은 다음 구현양태 각각을 포함하는 것으로 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

[0075] 본원에 사용된 용어 "약" 및 "대약"은 숫자 값 또는 숫자 범위를 수정하는 데 사용될 때 인용된 값 또는 범위의 의도된 의미 내에서 값 또는 범위보다 5% 내지 10% 이상, 및 5%에서 10% 이하의 편차가 남아 있음을 나타낸다.

[0076] 본원에 제공된 임의의 조성물 또는 방법은 본원에 제공된 임의의 다른 조성물 및 방법 중 하나 이상과 조합될 수 있다.

[0077] **4.2 암 치료 방법**

[0078] 한 측면에서, 본원에는 (i)본원에 기재된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 이의 약제학적 조성물을 (ii)본원에 기재된 PD-1/PD-L1 억제제 또는 본원에 기재된 이의 약제학적 조성물과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 인간 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공되며, 여기서 (i) 및 (ii)는 동시에 또는 순차적으로 투여된다. "동시" 투여를 위해, 일부 구현양태에서, (i) 및 (ii)에서와 같은 제제는 동일한 날에 별도의 제형, 하나 투여 후에 다른 제제가 투여되는 것으로 투여되고; 또는 다른 구현양태에서, (i) 및 (ii)에서와 같은 제제는 투여 전에 함께 혼합되고 따라서 혼합물로서 투여된다. 예를 들어, 일부 구현양태에서, (i) 및 (ii)에서와 같은 제제는 동일한 바이알(즉, 고정 용량 제형)에 포장 및 저장될 수 있거나, 대안적으로 각각의 개별 제제를 함유하는 바이알은 바로 투여 전에 함께 혼합될 수 있다. "순차적" 투여를 위해, (i) 및 (ii)에서와 같은 제제는 다른 날에 별도의 제형으로 투여된다. 다양한 구현양태에서, 제제는 정맥 내를 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 경로에 의해 생체내 투여될 수 있다.

[0079] 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 PD-1/PD-L1 억제제의 조합은 시너지 효과적일 수 있다.

[0080] 한 측면에서, PD-1 억제제는 펌브롤리주맵이다. 펌브롤리주맵의 중쇄 및 경쇄 서열은 하기 표에 나열되어 있다. 중쇄 및 경쇄 서열의 맥락에서 CDR 서열은 굵게 표시되고 가변 영역 서열은 밑줄로 표시된다

펌브롤리주맵 서열

도메인	아미노산 서열(서열번호)
중쇄	<u>QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFNYYMYWVROAPGQGL</u> <u>EWMGGINPSNGGTFNFKFKNRVLTITDSSITTAAYMELKSLQFDDI</u> <u>AVYYCARRDYRFDMGFDYWQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS</u> TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKGLEPSSIEKTKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVVFCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (서열번호:30)
경쇄	<u>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQOKPGQA</u> <u>PRLLIYASYLESGVPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSR</u> <u>DLPLTFGGGKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호:31)
VH	<u>QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFNYYMYWVROAPGQGL</u> <u>EWMGGINPSNGGTFNFKFKNRVLTITDSSITTAAYMELKSLQFDDI</u> <u>AVYYCARRDYRFDMGFDYWQGTITVTVSS</u> (서열번호:32)
VL	<u>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQOKPGQA</u> <u>PRLLIYASYLESGVPARFSGSGSDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSR</u> <u>DLPLTFGGGKVEIK</u> (서열번호:33)
VH-CDR1	NYYMY (서열번호:34)
VH-CDR2	GINPSNGGTFNFKFKN (서열번호:35)
VH-CDR3	RDYRFDMGFDY (서열번호:36)
VL-CDR1	RASKGVSTSGYSYLH (서열번호:37)
VL-CDR2	LASYLES (서열번호:38)
VL-CDR3	QHSRDLPLT (서열번호:39)

[0081]

이의 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 3mg/kg의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되고, 200mg의 펙트롤리주맙이 투여되고, (i) 및 (ii)는 3주에 1회의 빈도로 동시에 또는 순차적으로 투여된다. 한 측면에서, 인간 대상에서 암을 치료하는 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 (i)본원에 기재된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 기재된 이의 약제학적 조성물, 및 (ii)펙트롤리주맙 또는 본원에 기재된 바와 같은 이의 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 10mg/kg의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되고, 200mg의 펙트롤리주맙이 투여되고, (i) 및 (ii)는 3주에 1회의 빈도로 동시에 또는 순차적으로 투여된다. 한 측면에서, 인간 대상체에서 암을 치료하는 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 (i)본원에 기재된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 기재된 이의 약제학적 조성물, 및 (ii)펙트롤리주맙 또는 본원에 기재된 바와 같은 이의 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 20mg/kg의 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되고, 200mg의 펙트롤리주맙이 투여되고, (i) 및 (ii)는 3주에 1회의 빈도로 동시에 또는 순차적으로 투여된다.

[0086] 본원에 제공된 방법의 특정 구현양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물은 정맥내 투여된다. 본원에 제공된 방법의 특정 구현양태에서, 펙트롤리주맙 또는 이의 제약 조성물은 정맥내 투여된다.

[0087] 특정 구현양태에서, 다음의 이루어진 군으로부터 선택된 암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다: 유방암(예를 들어, 진행성 유방암, 삼중 음성 유방암, 호르몬 수용체(HR)-양성 유방암, 또는 유관 암종), 자궁내막 암종, 난소암, 요로피암, 비소 세포 폐암(예를 들어, 편평 세포 암종), 두경부 편평 세포 암(HNSCC), 호지킨 림프종(예를 들어, 고전적 호지킨 림프종), 흑색종, 췌장암, 갑상선암, 신장암(예를 들어, 신장 세포 암종), 방광암(예를 들어, 요로피 암종), 위암, 자궁경부암 및 미세위성 불안정성-고암. 특정 구현양태에서, 진행성 유방암(삼중 음성 유방암, 호르몬 수용체(HR)-양성 포함), 난소암, 자궁내막암 또는 요로피암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 특정 구현양태에서, 유방암을 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 특정 구현양태에서, 유방암은 삼중 음성 유방암이다. 특정 구현양태에서, 본원에는 호르몬 수용체(HR)-양성 유방암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에는 난소암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에는 자궁내막암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에는 요로피암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에는 위장암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에는 부인암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에는 두경부암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에는 비뇨생식기암을 치료하는 방법이 제공된다. 특정 구현양태에서, 본원에 제공된 대상체는 PD-1/PD-L1 길항제를 사용한 사전 치료를 받지 않았다. 특정 구현양태에서, 이러한 방법은 본원에 제공된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 본원에 제공된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 PD-1/PD-L1 억제제 또는 이의 약제학적 조성물과 조합하여 이를 필요로 하는 환자(예를 들어, 인간 환자)에게 투여하는 것을 포함한다.

[0088] 일부 구현양태에서, 암은 B7-H4 발현 암이다. 특정 구현양태에서, 암은 B7-H4를 발현하는 고품 종양 고품 종양이다. 특정 구현양태에서, B7-H4는 대상체로부터 획득된 생물학적 샘플에서 검출되었다(예를 들어, 면역조직화학(IHC) 사용).

[0089] 생물학적 샘플은 대상체, 세포주, 조직 또는 잠재적으로 B7-H4를 발현하는 세포의 기타 공급원에서 얻은 임의의 생물학적 샘플일 수 있다. 인간으로부터 조직 생검 및 체액을 얻는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 생물학적 샘플에는 말초 단핵 혈액 세포가 포함된다. 생물학적 샘플은 순환하는 종양 세포(또는 "CTC")가 B7-H4를 발현하고 검출될 수 있는 혈액 샘플일 수도 있다.

[0090] B7-H4 단백질의 발현 수준에 대한 검정은 첫 번째 생물학적 샘플에서 B7-H4 단백질의 수준을 직접(예를 들어, 절대 단백질 수준을 결정하거나 추정하여) 또는 상대적으로(예를 들어, 두 번째 생물학적 샘플의 단백질 수준과 비교하여) 정성적으로 또는 정량적으로 측정하거나 추정하는 것을 포함한다. 첫 번째 생물학적 샘플에서 B7-H4 폴리펩타이드 발현 수준을 측정하거나 추정할 수 있으며 표준 B7-H4 단백질 수준과 비교할 수 있으며, 표준은 질병에 걸리지 않은 두 번째 생물학적 샘플로부터 결정되거나 병에 걸리지 않은 표본 집단의 평균 수준에 의해 결정된다. 당업계에서 이해되는 바와 같이, "표준" B7-H4 폴리펩타이드 수준이 알려지면, 비교를 위한 표준으로서 반복적으로 사용될 수 있다.

[0091] 다른 구현양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 본원에 기재된 바와 같은 약제학적 조성물은 환자에서 T 세포, CD4⁺ T 세포, 또는 CD8⁺ T 세포의 증식을 증가시키기 위해 암으로 진단된 환자(예를 들어, 인간 환자)에게 투여된다. 이러한 구현양태에서, 본원에 기술된 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙트롤리주맙은

또한 PD-1의 PD-L1 및 PD-L2에 대한 결합을 차단하고 T 세포를 활성화하기 위해 환자에게 투여된다. 또 다른 구현양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약제학적 조성물은 암으로 진단된 환자(예를 들어, 인간 환자)에게 투여되어 환자에서 인터페론-감마(IFN γ) 생산을 증가시킨다. 이러한 구현 양태에서, 본원에 기술된 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙은 또한 PD-1의 PD-L1 및 PD-L2에 대한 결합을 차단하고 T 세포를 활성화하기 위해 환자에게 투여된다. 다른 구현양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약제학적 조성물은 암으로 진단된 환자(예를 들어, 인간 환자)에게 투여되어 환자에서 T 세포에 대한 B7-H4의 억제 활성을 차단한다. 이러한 구현양태에서, 본원에 기술된 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙은 또한 PD-1의 PD-L1 및 PD-L2에 대한 결합을 차단하고 T 세포를 활성화하기 위해 환자에게 투여된다. 또 다른 구현 양태에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약제학적 조성물은 암으로 진단된 환자(예를 들어, 인간 환자)에게 투여되어 환자에서 B7-H4 발현 암 세포를 고갈시킨다. 이러한 구현양태에서, 본원에 기술된 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙은 또한 PD-1의 PD-L1 및 PD-L2에 대한 결합을 차단하고 T 세포를 활성화하기 위해 환자에게 투여된다.

[0092] 일부 구현양태에서, 본 발명은 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙 또는 이의 약제학적 조성물과 조합하여 약제로서 사용하기 위해 본원에 제공된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 약제학적 조성물에 관한 것으로서, 투여용 약제는 약 0.1mg/kg 내지 약 20mg/kg(예를 들어, 약 0.1mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 1mg/kg, 약 3mg/kg, 약 10mg/kg 또는 약 20mg/kg)의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 200mg의 펙브롤리주맙이다. 이러한 구현양태에서, 항체 또는 그의 항원-결합 단편 및 펙브롤리주맙은 동시 또는 순차적 투여를 위해 공동-제형화되거나 별도로 제형화될 수 있다. 일부 측면에서, 본 발명은 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙 또는 이의 약제학적 조성물과 조합하여 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 제공된 약제학적 조성물에 관한 것이며, 암 치료 방법에서 약 0.1mg/kg 내지 약 20mg/kg(예를 들어, 약 0.1mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 1mg/kg, 약 3mg/kg, 약 10mg/kg, 또는 약 20mg/kg)의 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 투여되고, 약 200mg의 펙브롤리주맙이 투여되며, 여기서 투여는 순차적이거나 동시적이다. 일부 측면에서, 본 발명은 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙과 병용하여 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 제공된 약제학적 조성물에 관한 것이며, 대상체에서 암 치료 방법은 약 0.1mg/kg 내지 약 20mg/kg(예를 들어, 약 0.1mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 1mg/kg, 약 3mg/kg, 약 10mg/kg, 또는 약 20 mg/kg)의 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 본원에서 제공된 약제학적 조성물이 투여되고, 약 200mg의 펙브롤리주맙 또는 본원에서 제공된 약제학적 조성물이 투여되는 것이 포함되며, 여기서 투여는 순차적이거나 동시적이다.

[0093] 일부 구현양태에서, 본 발명은 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙 또는 이의 약제학적 조성물과 조합하여 약제로서 사용하기 위해 본원에 제공된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 약제학적 조성물에 관한 것으로서, 투여용 약제는 약 0.1mg/kg 내지 약 20mg/kg(예를 들어, 약 0.1mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 1mg/kg, 약 3mg/kg, 약 10mg/kg 또는 약 20mg/kg)의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 200mg의 펙브롤리주맙이다. 이러한 구현양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 펙브롤리주맙은 동시 또는 순차적 투여를 위해 공동-제형화되거나 별도로 제형화될 수 있다. 일부 측면에서, 본 발명은 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙 또는 이의 약제학적 조성물과 조합하여 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 제공된 약제학적 조성물에 관한 것이며, 암 치료 방법에서 약 0.1mg/kg 내지 약 20mg/kg(예를 들어, 약 0.1mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 1mg/kg, 약 3mg/kg, 약 10mg/kg 또는 약 20 mg/kg)의 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되고, 약 200mg의 펙브롤리주맙이 투여되며, 여기서 투여는 순차적이거나 동시적이다. 일부 측면에서, 본 발명은 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 펙브롤리주맙과 병용하여 사용하기 위한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 본원에 제공된 약제학적 조성물에 관한 것이며, 대상체에서 암 치료 방법에서 약 0.1mg/kg 내지 약 20mg/kg(예를 들어, 약 0.1mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 1mg/kg, 약 3mg/kg, 약 10mg/kg, 또는 약 20mg/kg)의 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 본원에서 제공된 약제학적 조성물이 투여되고, 약 200mg의 펙브롤리주맙 또는 본원에서 제공된 약제학적 조성물이 투여되는 것이 포함되며, 여기서 투여는 순차적이거나 동시적이다.

[0094] 특정 측면에서, 인간 PD-1의 아미노산은 다음과 같다:

MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSF
 SNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVR
 ARRNDSTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLV
 VGVVGGLLGSLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFVSVDYGEL
 DFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFSPGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHC
 SWPL (서열번호:40).

[0095]

[0096] 특정 측면에서, 인간 PD-L1의 아미노산은 다음과 같다:

MRIFAVFIFMTYWHLNAFTVTVPKDLYVVEYGSNMTECKFPVEKQLDLAALIVYW
 EMEDKNIIQFVHGEECLKVQHSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYR
 CMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRILVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSS
 DHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNEIFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELP
 LAHPPNERTHLVILGAILLCLGVALTFIFRLRKGRMMDVKKCGIQDTNSKKQSDTHLE
 ET (서열번호:41).

[0097]

[0098] **4.3 B7-H4 항체 및 이의 항원 결합 단편**

[0099] 본원에는 B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하는 항체(예를 들어, 키메라, 인간화 또는 인간 항체와 같은 단일클론 항체) 및 이의 항원-결합 단편을 PD-1/PD-L1 길항제, 예를 들어 캄브롤리주맵과 병용하여 대상체에 투여하는 것을 포함하여, 인간 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 본원에서 제공되는 방법에 사용될 수 있는 예시적인 B7-H4 항체 및 이의 항원-결합 단편은 당업계에 공지되어 있다. 인간, 사이노물구스 원숭이, 무린 및 래트 B7-H4에 대한 아미노산 서열은 당업계에 공지되어 있으며, 또한 각각 서열번호:1-4로 나타낸 바와 같이 본원에서 제공된다.

[0100] 인간 B7-H4:

MASLGQILFWSIISIILLAGAIALIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIKL
 SDIVIQWLKEGVGLVHEFKEGKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASLRLKNV
 QLTDAGTYKCYIITSKGKGNANLEYKTGAFSMPEVNVNDYNASSETLRCEAPRWFPQP
 TVVWASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKVVSVLNVTINNTYSCMIENDIAK
 ATGDIKVTSEIKRRSHLQLLNSKASLCVSSFFAISWALLPLSPYLMLK (서열번호:1)

[0101]

[0102] 사이노물구스 원숭이 B7-H4:

MASLGQILFWSIISIIFILLAGAIALIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIK
 LSDIVIQWLKEGVIGLVHEFKEGKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASLRLKNV
 QLTDAGTYKCYIITSKGKGNANLEYKTGAFSMPEVNVNDYNASSETLRCEAPRWFPQP
 TVVWASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKVVSVLNVTINNTYSCMIENDIAK
 ATGDIKVTSEIKRRSHLQLLNSKASLCVSSFLAISWALLPLAPYLMLK (서열번호:2)

[0103]

[0104] 뮤린 B7-H4:

MASLGQIIFWSIINIIIIILAGAIALIIIGFGISGKHFITVTTFTSAGNIGEDGTLSCTFEPDIKL
 NGIIVIQWLKEGIKGLVHEFKEGKDDLSQQHEMFRGRTAVFADQVVVGNASLRLKNV
 QLTDAGTYTCYIRTSKGGKGNANLEYKTGAFSMPEINVDYNASSESLRCEAPRWFPQP
 TVAWASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKVVSVLNVNTINNTYSCMIENDIAK
 ATGDIKVTDSEVKRRSQLQLLNSGSPCVFSSAFVAGWALLSLSCCLMLR

(서열번호:3)

[0105]

[0106] 래트 B7-H4:

MASLGQIIFWSIINVIIIILAGAIIVLIIGFGISGKHFITVTTFTSAGNIGEDGTLSCTFEPDIK
 LNGIIVIQWLKEGIKGLVHEFKEGKDDLSQQHEMFRGRTAVFADQVVVGNASLRLKN
 VQLTDAGTYTCYIHTSKGGKGNANLEYKTGAFSMPEINVDYNASSESLRCEAPRWFPQ
 PTVAWASQVDQGANFSEVSNTSFELNSENVTMKVVSVLNVNTINNTYSCMIENDIA
 KATGDIKVTDSEVKRRSQLELLNSGSPCVSSVSAAGWALLSLSCCLMLR

(서열번호:4)

[0107]

[0108] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합한다. 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 및 사이노몰구스 원숭이 B7-H4에 특이적으로 결합한다. 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간, 뮤린 및 래트 B7-H4에 특이적으로 결합한다. 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간, 사이노몰구스 원숭이, 뮤린 및 래트 B7-H4에 특이적으로 결합한다.

[0109] B7-H4는 IgC 엑토도메인(서열번호:1의 아미노산 153-241) 및 IgV 엑토도메인(서열번호:1의 아미노산 35-146)을 함유한다. 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4의 IgV 도메인에 특이적으로 결합한다. 따라서, 본원에는 서열번호:1의 아미노산 35-146으로 구성된 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 제공된다.

[0110] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 1 및 2에 제공된 바와 같이 나열된 20502 항체의 6개의 CDR을 포함한다. "20502"는 본원에 기재된 20502 항체를 지칭한다.

표 1. VH CDR 아미노산 서열¹

항체	VH CDR1 (서열번호:)	VH CDR2 (서열번호:)	VH CDR3 (서열번호:)
20502	GSIKSGSYWYG (서열번호:5)	NIYYSGSTYYNPSLRS (서열번호:6)	AREGSYPNQFDP (서열번호:7)

¹ 표 1에서 VH CDR은 카바트에 따라 결정된다.

[0111]

표 2. VL CDR 아미노산 서열²

항체	VL CDR1 (서열번호:)	VL CDR2 (서열번호:)	VL CDR3 (서열번호:)
20502	RASQSVSSNLA (서열번호:8)	GASTRAT (서열번호:9)	QQYHSFPFT (서열번호:10)

² 표 2에서 VL CDR은 카바트에 따라 결정된다.

[0112]

[0113] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 3에 열거된 20502 항체의 VH를 포함한다.

표 3: 가변중쇄(VH) 아미노산 서열

항체	VH 아미노산 서열(서열번호)
20502	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIKSGSYWGWIRQPPGKGLE WIGNIYYSGSTYYNPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CAREGSYPNQFDPWGQGLTVTVSS (서열번호:11)

[0114]

[0115] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 4에 열거된 20502 항체의 VL를 포함한다.

표 4: 가변경쇄(VL) 아미노산 서열

항체	VL 아미노산 서열(서열번호)
20502	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYHSPFPT FGGGTKVEIK (서열번호:12)

[0116]

[0117] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 3 및 4에 열거된 20502 항체의 VH 및 VL를 포함한다.

[0118] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 5에 열거된 20502 항체의 VH 프레임워크 영역을 포함한다.

표 5. VH FR 아미노산 서열³

항체	VH FR1 (서열번호:)	VH FR2 (서열번호:)	VH FR3 (서열번호:)	VH FR4 (서열번호:)
20502	QLQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSG (서열번호:13)	WIRQPPGKGLE WIG (서열번호:14)	RVTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVYY C (서열번호:15)	WGQGLTVT VSS (서열번호:16)

³ 표 5에 설명된 VH 프레임워크 영역은 CDR에 대한 카바트 넘버링 시스템의 경계를 기반으로 결정된다. 따라서, VH CDR은 카바트에 의해 결정되고 프레임워크 영역은 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4 형식의 가변 영역에서 CDR을 둘러싼 아미노산 잔기이다

[0119]

[0120] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 6에 열거된 20502 항체의 VL 프레임워크 영역을 포함한다.

표 6. VL FR 아미노산 서열⁴

항체	VL FR1 (서열번호:)	VL FR2 (서열번호:)	VL FR3 (서열번호:)	VL FR4 (서열번호:)
20502	EIVMTQSPATLSVS PGERATLSC (서열번호:17)	WYQQKPGQAP RLLIY (서열번호:18)	GIPARFSGSGSGT EFTLTISSLQSEDF AVYYC (서열번호:19)	FGGGTKVEI K (서열번호:20)

⁴ 표 6에 설명된 VL 프레임워크 영역은 CDR에 대한 카바트 넘버링 시스템의 경계를 기반으로 결정된다. 따라서, VL CDR은 카바트에 의해 결정되고 프레임워크 영역은 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4 형식의 가변 영역에서 CDR을 둘러싼 아미노산 잔기이다

[0121]

[0122] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 5 및 6에 열거된 20502 항체의 4개의 VH 프레임워크 영역 및 4개의 VL 프레임워크 영역를 포함한다.

[0123] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 7에 열거된 20502 항체의 중쇄 서열을 포함한다.

표 7: 전장 중쇄 아미노산 서열

항체	전장 중쇄 아미노산 서열 (서열번호)
20502	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIKSGSYWGWIRQPPGKGL EWIGNIYYSGSTYYNPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCAREGSYPNQFDPWGGTILVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGG TAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:21)

[0124]

[0125] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 8에 열거된 20502 항체의 경쇄 서열을 포함한다.

표 8: 전장 경쇄 아미노산 서열

항체	전장 경쇄 아미노산 서열 (서열번호)
20502	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRL IYGASTRATGIPARFSGSGSTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYHSFPF TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열번호:22)

[0126]

[0127] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 표 7 및 8에 열거된 20502 항체의 중쇄 서열 및 경쇄 서열을 포함한다.

[0128] 특정 측면에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이의 VL 도메인 단독, 또는 이의 VH 도메인 단독, 또는 이의 3 VL CDR 단독, 또는 이의 3 VH CDR 단독에 의해 기재된다. 예를 들어, 전체가 본원에 참조로 포함되는 문헌(Rader C 등, (1998) PNAS 95:8910-8915)에는 인간 경쇄 또는 중쇄 라이브러리로부터 각각 상보적 경쇄 또는 중쇄를 식별하여 마우스 항- $\alpha\beta 3$ 항체의 인간화를 설명하고 원래 항체의 친화성보다 더 높거나 그 만큼 높은 친화성을 갖는 인간화 항체 변이체를 생성하는 것을 기술한다. 또한, 전체가 본원에 참조로 포함되는 문헌(Clackson T 등, (1991) Nature 352:624-628)에는 특이적 VL 도메인(또는 VH 도메인)을 사용하고 상보적 VH 도메인 또는(VL 도메인)에 대한 라이브러리를 스크리닝하여 특이적 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하는 방법을 설명한다. 이 스크리닝은 ELISA에 의해 결정된대로 특이적 VH 도메인에 대해 14개의 새로운 파트너 및 특이적 VL 도메인에 대해 13개의 새로운 파트너를 생성했으며, 이것들은 강한 결합체였다. 또한, 전체가 본원에 참조로 포함되는 문헌(Kim SJ 및 Hong HJ, (2007) J Microbiol 45:572-577)은 특이적 VH 도메인을 사용하고 상보적 VL 도메인에 대한 라이브러리(예를 들어, 인간 VL 라이브러리)를 스크리닝하여 특이적 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하는 방법을 설명하며; 선택된 VL 도메인은 차례로 추가적인 상보적(예를 들어, 인간) VH 도메인의 선택을 안내하는 데 사용될 수 있었다.

[0129] 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 CDR은 코티아 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있는데, 이는 면역글로불린 구조적 루프의 위치를 지칭한다(예를 들어, Chothia C 및 Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196:901-917; Al-Lazikani B 등, (1997) J Mol Biol 273:927-948; Chothia C 등, (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A 등, (1990) J Mol Biol 215(1):175-82; 및 미국 특허 번호 7,709,226). 일반적으로, 카바트 넘버링 규칙을 사용할 때 코티아 CDR-H1 루프는 중쇄 아미노산 26 내지 32, 33 또는 34에 존재하고 코티아 CDR-H2 루프는 중쇄 아미노산 52 내지 56에 존재하며 코티아 CDR-H3 루프는 중쇄 아미노산 95 내지 102에 존재하는 반

면, 코티아 CDR-L1 루프는 경쇄 아미노산 24 내지 34에 존재하고, 코티아 CDR-L2 루프는 경쇄 아미노산 50 내지 56에 존재하고 코티아 CDR-L3 루프는 경쇄 아미노산 89 내지 97에 존재한다. 카바트 넘버링 규칙을 사용하여 번호를 매길 때 코티아 CDR-H1 루프의 끝은 루프의 길이에 따라 H32 및 H34 사이에서 변화한다 (이것은 카바트 넘버링 규칙은 삽입을 H35A 및 H35B에 배치하기 때문이고; 35A와 35B가 모두 존재하지 않으면 루프는 32에서 끝나고, ; 35A 만 있으면 루프는 33에서 끝나고; 35A와 35B가 모두 존재하면 루프는 34에서 끝난다).

[0130] 특정 측면에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하고 표 3 및 4에 나열된 20502 항체의 코티아 VH 및 VL CDR을 포함하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 본원에 제공된다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하고 하나 이상의 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 본원에 제공되며, 여기서 코티아 및 카바트 CDR은 동일한 아미노산 서열을 가지고 있다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하고 카바트 CDR 및 코티아 CDR의 조합을 포함하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 본원에 제공된다.

[0131] 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 CDR은 문헌(Lefranc MP, (1999) *The Immunologist* 7:132-136 및 Lefranc MP 등(1999) *Nucleic Acids Res* 27:209-212)에 기재된 바와 같은 IMGT 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있다. IMGT 넘버링 체계에 따르면, VH-CDR1은 위치 26 내지 35에 존재하고, VH-CDR2는 위치 51 내지 57에 존재하고, VH-CDR3은 위치 93 내지 102에 존재하고, VL-CDR1은 위치 27 내지 32에 존재하고, VL-CDR2는 위치 50 내지 52에 존재하고, VL-CDR3는 위치 89내지 97에 존재한다. 특정 구현양태에서, 예를 들어 문헌에 기재된 바와 같이, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하고 표 3 및 4에 열거된 20502 항체의 IMGT VH 및 VL CDR을 포함하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 본원에 제공된다(Lefranc M-P(1999) 상기 참조 및 Lefranc M-P 등,(1999) 상기 참조).

[0132] 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 CDR은 문헌에 따라 결정될 수 있다(MacCallum RM 등,(1996) *J Mol Biol* 262:732-745; Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in *Antibody Engineering*, Kontermann 및 Dubel, eds., Chapter 31, pp.422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)). 특정 구현양태에서, 문헌의 방법에 의해 결정되는 바와 같이, 본원에는 B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하고 MacCallum RM 등에서 방법에 의해 결정된 바와 같이 표 3 및 4에 나열된 20502 항체의 VH 및 VL CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 제공된다.

[0133] 특정 측면에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 CDR은 AbM 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있으며, 이는 카바트 CDR 및 코티아 구조 루프 사이의 절충을 나타내는 AbM 초가변 영역을 지칭하며, 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어(Oxford Molecular Group, Inc.)에 의해 사용된다. 특정 구현 양태에서, 본원에는 B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 특이적으로 결합하고 표 3 및 4에 나열되고 AbM 넘버링 체계에 의해 결정된 20502 항체의 VH 및 VL CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 투여하는 방법이 제공된다.

[0134] 특정 측면에서, 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체를 투여하는 방법이 본원에 제공된다.

[0135] 경쇄와 관련하여, 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 항체의 경쇄는 카과 경쇄이다. 인간 카과 경쇄의 불변 영역은 다음 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

(서열번호:23).

[0136]

[0137] 인간 카과 경쇄의 불변 영역은 다음 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩될 수 있다:

CGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGA
 AATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGC
 CAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAG
 TGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGAC
 GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA
 TCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

(서열번호:24).

[0138]

[0139]

특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 B7-H4 폴리펩타이드(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 항체는 경쇄를 포함하며, 여기서 VL 도메인의 아미노산 서열은 표 4에 제시된 서열을 포함하고, 경쇄의 불변 영역은 인간 카파 경쇄 불변 영역의 아미노산 서열을 포함한다.

[0140]

특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위해 B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 항체는 중쇄를 포함하며, 여기서 VH 도메인의 아미노산 서열은 표 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄의 불변 영역은 인간 감마(γ) 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열을 포함한다.

[0141]

인간 IgG₁ 중쇄의 불변 영역은 다음 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTEPAAVL
 QSSGLYSLSSVTVTSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAP
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:25).

[0142]

[0143] 인간 IgG₁ 중쇄의 불변 영역은 다음 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩될 수 있다:

```
GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCT
CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG
TGACGGTGTCTGGAACCTAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGG
CTGTCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC
CAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATACAAGCCCAGCAA
CACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATG
CCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCC
CCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG
GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAG
CACGTACCGGGTGGTTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA
ACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCC
CCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA
GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG
AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT
ACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT
GTCTCCGGGTAAA. (서열번호:26)
```

[0144]

[0145] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위해 B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 항체는 본원에 기재된 임의의 VH 및 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하고, 여기서 불변 영역은 IgG(예를 들어, 인간 IgG) 면역글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위해 B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 항체는 본원에 기재된 임의의 VH 및 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하고, 여기서 불변 영역은 IgG₁(예를 들어, 인간 IgG₁) 면역글로불린 분자의 불변 영역의 아미노산 서열을 포함한다.

[0146]

푸코스 함량이 감소된 항체는, 예를 들어 Fc γ RIIIA와 같은 Fc 수용체에 대해 증가된 친화성을 갖는 것으로 보고되었다. 따라서, 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 방법에 사용하기 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 감소된 푸코스 함량을 갖거나 푸코스가 결여되어 있다(즉, "어푸코실화"됨). 이러한 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 당업자에게 공지된 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 이들은 푸코실화 능력이 결핍하거나 부족한 세포에서 발현될 수 있다. 특정 실시예에서, α 1,6-푸코실트랜스페라제 유전자(FUT8)의 두 대립유전자의 녹아웃(knockout)을 갖는 세포주를 사용하여 푸코스 함량이 감소된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생산할 수 있다. Potelligent[®] 시스템(Lonza)은 푸코스 함량이 감소된 항체 및 이의 항원-결합 단편을 생산하는 데 사용할 수 있는 이러한 시스템의 예이다. 대안적으로, 푸코스 함량이 감소하거나 푸코스 함량이 없는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 예를 들어, (i)푸코실화를 방지하거나 감소시키는 조건 하에서 세포를 배양; (ii)푸코스의 번역 후 제거(예를 들어, 푸코시다제 효소로); (iii)예를 들어, 비-글리코실화 당단백질의 제조합 발현 후 원하는 탄수화물의 번역 후 첨가; 또는 (iv) 푸코실화되지 않은 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 선택하기 위한 당단백질의 정제에 의해 생성될 수 있다. 푸코스 함량이 없거나 푸코스 함량이 감소된 항체를 생산하는 방법은, 예를 들어, 문헌에 기술되어 있다(Longmore GD 및 Schachter H(1982) Carbohydr Res 100:365-92 및 Imai-Nishiya H 등,(2007) BMC Biotechnol. 7:84).

[0147]

일부 구현양태에서, 어푸코실화 B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 동일한 아미노산 서열을 갖는 푸코실화 B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 비교하여 시험관내에서 향상된 ADCC 활성을 갖는다. 일부 구현양태에서, 어푸코실화 B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 푸코실화 B7-H4 항체를 사용한 특이적 용해보다 적어

도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 35, 적어도 40, 적어도 45, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 65, 적어도 70, 또는 적어도 75% 이상 더 높은 특이적 용해를 야기한다. 특이적 용해는 본원의 실시 예 2에 기재된 바와 같이 결정될 수 있다.

- [0148] 일부 구현양태에서, B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 동일한 아미노산 서열을 갖는 푸코실화 B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 비교하여 Fc 감마 RIIIA에 대한 향상된 친화성을 갖는다. 일부 구현양태에서, 어푸코실화 B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 Fc 감마 RIIIA에 푸코실화 B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편보다 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7배, 적어도 10배, 적어도 12배, 적어도 15배, 적어도 17배, 또는 적어도 20배 더 큰 친화성으로 결합한다. 일부 구현양태에서, Fc 감마 RIIIA에 대한 친화성은 표면 플라즈몬 공명을 사용하여 결정된다. 일부 구현양태에서, Fc 감마 RIIIA는 Fc 감마 RIIIA(V158) 및 Fc 감마 RIIIA(F158)로부터 선택된다. 일부 구현양태에서, Fc 감마 RIIIA는 Fc 감마 RIIIA(V158)이다.
- [0149] 일부 구현양태에서, 푸코스의 존재는 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 모세관 전기영동 또는 MALDI-TOF 질량 분석법을 포함하는 방법에 의해 결정될 수 있다.
- [0150] 특정 구현양태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 (i)20502의 CDR 서열, 20502의 VH 및 VL 서열, 또는 20502의 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하고 (ii)어푸코 실화된다.
- [0151] 특정 구현양태에서, 조성물은 (i)20502의 CDR 서열, 20502의 VH 및 VL 서열, 또는 20502의 중쇄 및 경쇄 서열을 포함하고 및 (ii)어푸코실화된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하며, 예를 들어 조성물 중 항체의 적어도 95%가 어푸코실화되거나 푸코실화가 조성물에서 검출되지 않는다.
- [0152] 조작된 글리코폼은 효과기 기능을 향상 또는 감소시키는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 목적에 유용할 수 있다. 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편에서 조작된 글리코폼을 생성하는 방법은 문헌에 개시된 것들을 포함하나 이에 제한되지는 않는다(Umama P 등,(1999) Nat Biotechnol 17:176-180; Davies J 등,(2001) Biotechnol Bioeng 74:288-294; Shields RL 등,(2002) J Biol Chem 277:26733-26740; Shinkawa T 등,(2003) J Biol Chem 278:3466-3473; Niwa R 등,(2004) Clin Cancer Res 1:6248-6255; Presta LG 등,(2002) Biochem Soc Trans 30:487-490; Kanda Y 등,(2007) Glycobiology 17:104-118; U.S. Patent Nos. 6,602,684;6,946,292; 및 7,214,775; U.S. Patent Publication Nos. US 2007/0248600; 2007/0178551; 2008/0060092; 및 2006/0253928; International Publication Nos. WO 00/61739; WO 01/292246; WO 02/311140; 및 WO 02/30954; Potillegent™ technology(Biowa, Inc. Princeton, N.J.); 및 GlycoMAb® glycosylation engineering technology (Glycart biotechnology AG, Zurich, Switzerland). Ferrara C 등,(2006) Biotechnol Bioeng 93: 851-861; International Publication Nos. WO 07/039818; WO 12/130831; WO 99/054342; WO 03/011878; 및 WO 04/065540).
- [0153] 특정 구현양태에서, 본원에 기재된 임의의 불변 영역 돌연변이 또는 변형은 2개의 중쇄 불변 영역을 갖는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 하나 또는 둘 모두의 중쇄 불변 영역으로 도입될 수 있다.
- [0154] 또 다른 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 (i)중쇄는 표 1에 나열된 20502 항체의 VH CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3 아미노산 서열(각각 서열번호:5, 6 및 7)을 포함하는 VH 도메인을 포함하고; (ii)경쇄는 표 2에 나열된 20502 항체의 VL CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3 아미노산 서열(각각 서열번호:8, 9 및 10)을 포함하는 VL 도메인을 포함하고; (iii)중쇄는 인간 IgG₁ 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 불변 중쇄 도메인을 추가로 포함하고; 및 (iv)경쇄는 인간 카파 경쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 불변 경쇄 도메인을 추가로 포함한다.
- [0155] 또 다른 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 및 경쇄를 포함하고, 여기서 (i)중쇄는 표 3(서열번호:11)에 열거된 20502 항체의 VH 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함하고; (ii)경쇄는 표 4(서열번호:12)에 열거된 20502 항체의 VL 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함하고; (iii)중쇄는 인간 IgG₁ 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 불변 중쇄 도메인을 추가로 포함하고; 및 (iv)경쇄는 인간 카파 경쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 불변 경쇄 도메인을 추가로 포함한다.
- [0156] 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 T 세포 체크포인트 차단 활성을 나타낸다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-

H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 T 세포에서 인터페론-감마(IFN γ) 생산을 증가시킨다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 T 세포 증식을 증가시킨다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역 특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD4+ T 세포 증식을 증가시킨다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이 적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 CD8+ T 세포 증식을 증가시킨다.

[0157] 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 활성을 나타낸다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 적어도 300,000개의 세포 표면 B7-H4 분자(예를 들어, SK-BR-3 세포)을 갖는 세포주에서 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 활성을 나타낸다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 적어도 100,000개의 세포 표면 B7-H4 분자(예를 들어, HCC1569 세포)을 갖는 세포주에서 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 활성을 나타낸다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 적어도 50,000개의 세포 표면 B7-H4 분자(예를 들어, ZR-75-1 세포)을 갖는 세포주에서 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 활성을 나타낸다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 적어도 30,000개의 세포 표면 B7-H4 분자(예를 들어, MDA-MB-468 세포)을 갖는 세포주에서 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 활성을 나타낸다. 특정 구현양태에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 적어도 15,000개의 세포 표면 B7-H4 분자(예를 들어, HCC1964 세포)을 갖는 세포주에서 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 활성을 나타낸다.

[0158] 특정 측면에서, B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 본원에 기재된 항원-결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 scFv로 구성된 군에서 선택되며, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 scFv는 본원에 기재된 바와 같은 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 중쇄 가변 영역 서열 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함한다. Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 scFv는 당업자에게 알려진 임의의 기술에 의해 생성될 수 있다. 특정 구현양태에서, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 scFv는 생체내 항체의 반감기를 연장하는 모이어티를 추가로 포함한다. 모이어티는 "반감기 연장 모이어티"로도 불린다. 생체내 Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 scFv의 반감기를 연장하기 위해 당업자에게 알려진 임의의 모이어티가 사용될 수 있다. 예를 들어, 반감기 연장 모이어티는 Fc 영역, 중합체, 알부민 또는 알부민 결합 단백질 또는 화합물을 포함할 수 있다. 중합체는 천연 또는 합성, 임의로 치환된 직쇄 또는 분지쇄 폴리알킬렌, 폴리알케닐렌, 폴리옥시알킬렌, 다당류, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리비닐 알코올, 메톡시폴리에틸렌 글리콜, 락토스, 아밀로스, 텍스트란, 글리코겐 또는 이들의 유도체를 포함할 수 있다. 치환기는 하나 이상의 하이드록시, 메틸 또는 메톡시 기를 포함할 수 있다. 특정 구현양태에서, Fab, Fab', F(ab')₂, 또는 scFv는 반감기 연장 모이어티의 부착을 위한 하나 이상의 C-말단 아미노산의 첨가에 의해 변형될 수 있다. 특정 구현양태에서 반감기 연장 모이어티는 폴리에틸렌 글리콜 또는 인간 혈청 알부민이다. 특정 구현양태에서, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 scFv는 Fc 영역에 융합된다.

[0159] **4.4 약제학적 조성물**

[0160] 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제에서 원하는 정도의 순도를 갖는 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 조성물을 투여하는 방법이 본원에서 제공된다(Remington's Pharmaceutical Sciences(1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 무독성이다(예를 들어, Gennaro, Remington : The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20th ed.(2003); Ansel 등, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams 및 Wilkins(2004); Kibbe 등, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)). 생체내 투여에 사용되는 조성물은 멸균 될 수 있다. 이는, 예를 들어 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다.

[0161] 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 80%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물

을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하며, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 85%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 90%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편을 포함하며, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 95%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 96%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하며, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 97%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하며, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 98%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하며, 여기서 조성물 중 항체의 적어도 99%가 어푸코실화된다. 특정 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 어푸코실화 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하며, 여기서 푸코스는 조성물에서 검출되지 않는다.

[0162] 일부 구현양태에서, 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 (i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 (a)각각 서열번호:5-10의 중쇄 가변 영역(VH) 상보성 결정 영역(CDR) 1, VH CDR2, VH CDR3 및 경쇄 가변 영역(VL) CDR1, CDR2 및 CDR3 서열, (b)서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 영역 및 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 영역, 또는 (c)서열번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 및 (ii) 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다.

[0163] 또한, 본원에는 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 또한 제공되며, 여기서 약제학적 조성물은 (i)인간 B7-H4에 특이적으로 결합하고 각각 서열번호:5-10의 중쇄 가변 영역(VH) 상보성 결정 영역(CDR) 1, VH CDR2, VH CDR3 및 경쇄 가변 영역(VL) CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 (ii)약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하며, 여기서 적어도 조성물 중 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%는 어푸코실화된다. 한 구현양태에서, (i)항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호:11의 아미노산 서열을 포함하는 가변 중쇄 영역 및 서열번호:12의 아미노산 서열을 포함하는 가변 경쇄 영역을 포함하거나 (ii)항체는 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0164] 또한 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물이외에 추가 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 본원에 제공된다. 이러한 구현양태에서, 추가 약제학적 조성물은 펌브롤리주맵과 같은 PD-1/PD-L1 길항제를 포함한다. 이러한 구현양태에서, 펌브롤리주맵을 포함하는 추가 약제학적 조성물은 재구성을 위한 단일 용량 바이알에서 50mg 동결 건조 분말로서, 또는 단일 용량 바이알에서 100mg/4ml(25mg/ml) 용액으로 제공된다. 이러한 구현양태에서, 주어진 투여에서 환자에게 200mg 펌브롤리주맵을 전달하기 위한 양의 추가 약제학적 조성물이 제공된다. 추가 약제학적 조성물은 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약제학적 조성물과 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.

[0165] **4.5 항체 생성 및 폴리뉴클레오타이드**

[0166] B7-H4(예를 들어, 인간 B7-H4)에 면역특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편은 항체 및 이의 항원-결합 단편의 합성을 위해, 예를 들어, 화학적 합성 또는 재조합 발현 기술에 의해 당업계에서 공지된 임의의 방법에 의해 생성될 수 있다. 본원에 기재된 방법은 달리 지시되지 않는 한, 분자 생물학, 미생물학, 유전자 분석, 재조합 DNA, 유기 화학, 생화학, PCR, 올리고뉴클레오타이드 합성 및 변형, 핵산 교잡 및 관련 기술 분야의 통상적인 기술을 사용한다. 이러한 기술은, 예를 들어 여기에 인용된 참고 문헌에 설명되어 있으며 문헌에서 완전히 설명된다(Sambrook J 등, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM 등, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons(1987 및 연간 업데이트); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons(1987 및 연간 업데이트) Gait (ed.)(1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.)(1991) *Oligonucleotides and Analogues : A Practical Approach*, IRL Press; Birren B 등, (eds.)(1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press).

[0167] 특정 측면에서, 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 이러한 항체 또는 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 방법이 본원에 제공되며, 여기서 항체 또는 단편은 숙주 세포의 뉴클레오타이드 서열 포함하는 폴리뉴클레오타이드의 재조합 발현에 의해 생성된다.

[0168] 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 표 9(즉, 서열번호:27)에 제시된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 표 9(즉, 서열번호:27)에 제시된 뉴클레오타이드 서열 및 인간 감마(γ) 중쇄 불변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 표 9(즉, 서열번호:27)에 제시된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호:26의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 중쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0169] 표9: 중쇄 가변 영역-인코딩 폴리뉴클레오타이드 서열

항체	중쇄 가변 영역-인코딩 폴리뉴클레오타이드 서열 (서열번호)
20502	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAG ACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAAAGTGGTA GTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGATTGGGAACATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCTC CAGAAAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGTTCGTGACCCGCCGACACGGCGGTGTACTACTG CGCCAGAGAAGGATCTTACCCCAATCAGTTTGATCCATGGGGACAGGG TACATTGGTCACCGTCTCCTCA (서열번호:27)

[0170]

[0171] 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 표 10(즉, 서열번호:28)에 제시된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 표 10(즉, 서열번호:28)에 제시된 뉴클레오타이드 서열 및 인간 람다 경쇄 불변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 표 10(즉, 서열번호:28)에 제시된 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 경쇄 가변 영역 및 서열번호:24의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 경쇄 불변 도메인을 포함한다.

[0172] 표10: 경쇄 가변영역-인코딩 폴리뉴클레오타이드 서열

항체	경쇄 가변 영역-인코딩 폴리뉴클레오타이드 서열 (서열번호)
20502	GAAATAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGGG GAAAGAGCCACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAA CTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCAT CTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTTTCAGTGG CAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCCTACTCTACCATCAGCAGCCTGCAGTC TGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTACCCTCCTTCCCTTTC ACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA (서열번호:28)

[0173]

[0174] 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원-결합 단편은 표 9(즉, 서열번호:27)에 제시된 가변-중쇄 인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 가변 중쇄 및 표 10(즉, 서열번호:28)에 제시된 가변 경쇄-인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 가변 경쇄를 포함한다.

[0175] 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편은 (i)표 9(즉, 서열번호:27)에 제시된 가변 중쇄-인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 중쇄 및 인간 감마(γ) 중쇄 불변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 및 (ii)표 10(즉, 서열번호:28)에 제시된 가변 경쇄-인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 경쇄 및 인간 람다 경쇄 불변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0176] 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편은 (i)표 9(즉, 서열번호:27)에 제시된 가변-중쇄 인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 가변 중쇄 및 (ii)표 10(즉, 서열번호:28)에 제시된 가변 경쇄-인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 경쇄 및 인간 람다 경쇄 불변 영역을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

호:27)에 제시된 가변 중쇄-인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 중쇄 및 서열번호:26의 중쇄 불변 도메인-인코딩 뉴클레오타이드 서열 및 (ii)표 10(즉, 서열번호:28)에 제시된 가변 경쇄-인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 경쇄 및 서열번호:24의 경쇄 불변 도메인-인코딩 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.

[0177] 특정 측면에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항-B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편은 예를 들어, 코돈 /RNA 최적화, 이중 신호 서열로 교체 및 mRNA 불안정 요소 제거에 의해 최적화된 폴리뉴클레오타이드 인코딩 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 이의 도메인에 의해 인코딩된다. 코돈 변화(예를 들어, 유전자 코드의 퇴화로 인해 동일한 아미노산을 코딩하는 코돈 변화)를 도입하여 재조합 발현을 위해 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 이의 도메인(예를 들어, 중쇄, 경쇄, VH 도메인 또는 VL 도메인)을 인코딩하고/하거나 mRNA에서 억제 영역을 제거하는 데 최적화된 핵산을 생성하는 방법은 문헌에 기술된 최적화 방법을 적용하여 수행될 수 있다(예를 들어, U.S. 특허번호 5,965,726; 6,174,666; 6,291,664; 6,414,132; 및 6,794,498).

[0178] 폴리뉴클레오타이드는, 예를 들어 RNA 형태 또는 DNA 형태일 수 있다. DNA는 cDNA, 게놈 DNA 및 합성 DNA를 포함한다. DNA는 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있다. 단일 가닥인 경우, DNA는 코딩 가닥 또는 비-코딩(안티센스) 가닥일 수 있다. 특정 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 cDNA 또는 하나 이상의 인트론이 없는 DNA이다. 특정 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 비-천연 발생 폴리뉴클레오타이드이다. 특정 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 재조합적으로 생산된다. 특정 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 분리된다. 특정 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 실질적으로 순수하다. 특정 구현양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 천연 성분으로부터 정제된다.

[0179] 특정 측면에서, 벡터(예를 들어, 발현 벡터)는 숙주 세포, 바람직하게는 포유 동물 세포에서 재조합 발현을 위한 항-B7-H4 항체 및 이의 항원-결합 단편 또는 이의 도메인을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 측면에서, 세포, 예를 들어 숙주 세포는 본원에 기재된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 (예를 들어, 인간 또는 인간화 항체 또는 이의 항원-결합 단편)을 재조합적으로 발현하기 위한 벡터를 포함한다. 따라서, 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생산하는 방법은 숙주 세포에서 이러한 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 발현시키는 것을 포함할 수 있다.

[0180] 발현 벡터는 통상적인 기술에 의해 세포(예를 들어, 숙주 세포)로 전달될 수 있고, 생성된 세포는 통상적인 기술에 의해 배양되어 본원에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예를 들어, 6개의 CDR, VH, VL, VH 및 VL, 중쇄, 경쇄 또는 20502의 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 또는 이의 도메인 (예를 들어, VH, VL, VH 및 VL, 20502의 중쇄 또는 경쇄)을 생성할 수 있다.

[0181] 특정 구현양태에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예를 들어, 20502의 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편)은 Potelligent® CHOK1SV 세포에서 생산된다.

[0182] 일부 구현양태에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여된 항-B7-H4 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예를 들어, 20502의 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편)은 기능성 알파-1,6-푸코실트랜스페라제 유전자(FUT8) 유전자가 부족한 숙주 세포에서 생산된다. 일부 구현양태에서, 숙주 세포는 CHO 세포이다.

[0183] 특정 구현양태에서, 본원에 제공된 방법에 따라 투여되는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 분리되거나 정제된다. 일반적으로, 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 분리된 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 다른 항원 특이성을 갖는 다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 실질적으로 없는 것이다. 예를 들어, 특정 구현양태에서, 본원에 기술된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 제제는 세포성 물질 및/또는 화학적 전구체가 실질적으로 없다.

[0184] 다음의 실시예는 제한이 아닌 예시로서 제공된다.

[0185] **5. 실시예**

[0186] 이 섹션의 실시예는 제한이 아닌 예시로 제공된다.

[0187] **5.1 실시예 1: 여러 정후에서 B7-H4 발현의 유병률 평가**

[0188] B7-H4 마우스 단일클론 항체 A57.1(ATCC 카탈로그 번호 PTA-5180)을 사용하여 보관 샘플, 전체 섹션의 혼합물 및 중앙 미세검정에서 B7-H4의 존재를 검출했다. 샘플을 1차 항체로 처리하고 DAB(Ventana Medical Systems)에 부착된 중합체 검출 시스템을 사용하여 검출했다.

[0189] B7-H4는 침습성 유관 암종, 삼중 음성 유방암, 난소암, 비소세포 폐암 및 자궁내막암을 포함한 다양한 암 환자로 부터 채취한 종양 조직의 막 및 세포질에서 쉽게 검출되었다. 또한, 표 11에 나열된 징후에서도 발현 빈도가 높았다.

[0190] 표11: 종양에서 B7-H4 검출

종양 유형	#전체	#양성	양성 비율
삼중 음성 유방암	74	58	78%
침윤성 유관 암종	51	38	74.50%
자궁내막 암종	77	54	70%
난소암	141	85	60%
비소세포 폐암 (편평)	47	19	40%

[0191] ...

[0192] B7-H4는 유방암, 신장암(예를 들어, 신장 세포 암종), 방광암(예를 들어, 요로피세포 암종), 췌장암 및 갑상선 암과 같은 다른 암에서 발현된다(Zhu, J., 등, *Asian Pacific J. Cancer Prev.* 14: 3011-3015(2011), Krambeck A, 등, *PNAS* 103: 10391-10396(2006), Fan, M. 등, *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 7:6768-6775(2014), Xu, H., 등, *Oncology Letters* 11:1841-1846(2016), 및 Liu, W., 등, *Oncology Letters* 8:2527-2534(2014)).

[0193] 5.2 실시예 2: 어푸코실화 및 푸코실화 20502 항체

[0194] 글리칸 모이어티에서 푸코스 함량이 감소된 Fc 영역을 갖는 항체는 완전히 푸코실화된 항체에 비해 더 높은 ADCC 활성을 나타낼 수 있다(Niwa R 등, *Clinical Cancer Research* 11(6):2327-36(2005)). B7-H4 항체는 CHO-x 세포(Yamane-Ohnuki N, 등 *Biotechnology and Bioengineering* 87(5):614-22(2004))에서 생성되어 정상적으로 푸코실화된 항체를 생성하고 조작된 CHO 세포주에서 어푸코실화된 항체(CHO-y 세포)(id.)를 생성한다.

[0195] 푸코실화 및 어푸코실화 20502 항체는 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 특성화되었다. 간단히 말하면, 항-인간 Fab 항체를 카르복실-유도체화된 SPR 칩 표면에 고정시키고, 항-B7-H4 항체를 5ug/ml에서 30초 동안 생성된 표면 상에서 포획하였다. 다양한 농도(0nM, 3.7nM, 11.1nM, 33.3nM, 100nM 및 300nM)의 B7-H4 IgV-huIgG1을 표면 위로 흘려보내고 결합 상 동안 항-B7-H4 항체에 결합하도록 허용한 후, 해리 상 동안 완충액 세척했다.

B7-H4 IgV-huIgG1:

```
MASLGQILFWSIISIILLAGAIALIIGFGISGRHSITVTTVASAGNIGEDGILSCTFEPDIKL
SDIVIQWLKEGVLGLVHEFKEGKDELSEQDEMFRGRTAVFADQVIVGNASRLKNV
QLTDAGTYKCYIITSKKGKGNANLEYKTGAFSGSEPKSSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호:29)
```

[0196] ...

[0197] 데이터는 1:1 결합 모델을 사용하여 피트되었고, 푸코실화 및 어푸코실화 20502는 인간 B7-H4 단백질과 유사한 결합을 나타냈다. 따라서 글리코실화가 결합에 미치는 영향은 없다.

[0198] Fc γ RIIIa(V158)에 대한 푸코실화 20502(Ab-F) 및 어푸코실화 20502(Ab-A)의 Fc 영역의 결합 친화성은 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 또한 특성화되었다. 간단히 말해서, 단백질 A는 차단 시약으로서 100mM 붕산나트륨 완충액, pH 8.0에서 100mM 에틸렌디아민과 함께 아민 커플링 키트를 사용하여 텍스트란 칩에 공유결합으로 부착되었다. Ab-A 또는 Ab-F는 별도의 유동 세포 상에서 2개의 밀도로 캡처되었으며, 단백질 A 유도체화된 유동은 참조 대조군으로 사용되었다. Fc 감마 RIIIA(V158)를 HBS-P+ 흐르는 완충액에 희석하고 6가지 농도(0nM, 1.37nM, 12.3nM, 37nM, 111nM, 333 nM 및 1000nM)로 중복 주입했다. 바이아코어(Biacore) T200 평가 소프트웨어 1:1 결합 모델을 사용하여 결합 상수, 해리 상수 및 Ab-A 결합에 대한 친화성을 계산했다. Ab-A 및 Ab-F 결합에 대한 친화성 상수는 바이아코어 T200 평가 소프트웨어 정상 상태 친화성 모델을 사용하여 결정되었다. 어푸코실화 B7-H4 항체는 푸코실화 Fc(Ab-F)를 갖는 동일한 항체보다 Fc 감마 수용체 IIIA(V158)에 대해 140배 더 높은 친

화성을 갖는다(표 12).

표 12: Fcγ 수용체 IIIa (FcγRIIIa) V158 대립유전자 결합

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
Ab-A	6.46E+05	9.54E-10	15
Ab-F	N/A	N/A	210

[0199]

[0200]

푸코실화 및 어푸코실화 20502 항체의 T 세포 체크포인트 차단 활성도가 또한 특성화되었다. 이 실험에서는 제조업체의 지침에 따라 EasySep™ Human T Cell Enrichment Kit를 사용하여 PBMC에서 1차 인간 T 세포가 풍부하게 되었다. 풍부해진 T 세포는 37°C에서 세포 당 하나의 비드 비율로 항-CD3/항-CD28 다이내비즈(Dynabeads)와 함께 2x10⁵ 세포/mL로 배양되었다. 6일 후, 비드를 자기적으로 제거하고 T 세포를 세척하고 37°C에서 10 U/mL IL-2와 함께 1x10⁶ 세포/mL로 배양했다. 4일 후, T 세포를 세척하고 B7-H4 항체 용량 적정의 존재하에 37°C에서 2x10⁶ 세포/mL 농도의 인공 항원 제시 세포(aAPC)와 함께 1x10⁶ 세포/mL로 배양했다. aAPC를 37°C에서 1시간 동안 미토마이신 C로 처리한 다음 T 세포 공동-배양에 첨가하기 전에 철저히 세척했다. T 세포, aAPC 및 B7-H4 항체의 공동 배양 72시간 후, 플레이트를 원심 분리하고 상청액을 수확하고 ELISA에 의해 IFN γ 생산에 대해 평가했다. IFN γ 생산은 항체 농도에 대해 플롯되었고 EC50 효능은 비선형 회귀 곡선 피트(GraphPad Prism)를 사용하여 계산되었다.

[0201]

B7-H4 항체는 IFN γ 생산의 증가에 의해 측정된 강력한 T 세포 체크포인트 차단 활성을 나타냈다. 더욱이, 어푸코실화 항체 및 푸코실화 항체 사이에 효능의 입증가능한 차이가 없었다(표 13).

표 13: T 세포 체크포인트 차단 효능

항체	BIN	aAPC 검정 (EC50 +/- STD; nM)	
		어푸코실화	푸코실화
20502	3	0.89 +/-0.44	0.74 +/-0.39

[0202]

[0203]

추가 실험에서, 푸코실화 및 어푸코실화 20502 항체의 ADCC 활성도는 B7-H4 -발현 표적 세포주에 대해 특성화되었다. 구체적으로, 1차 인간 PBMC 세포는 37°C에서 200 IU/mL IL-2로 1x10⁶ 세포/mL에서 활성화된 사이토카인이었다. 다음날, 세포를 세척하고 칼케인-AM으로 표지된 SK-BR-3 표적 세포와 함께 40:1의 효과기:표적 비율로 배양했다. 배양 4시간 후, 형광계를 사용하여 표적세포 용해를 정량화하였다. 트리톤/X 처리 샘플은 최대 용해 대조군 샘플로 사용되는 반면, 배지 단독 처리 샘플은 배경 용해 대조군 샘플로 사용되었다. 특정 용해 퍼센트(%)는 다음과 같이 계산되었다: [1-((샘플 - 배지 대조군)/(최대 용해 - 배지 대조군))] x 100. 특이적 용해 퍼센트(%)을 항체 농도에 대해 플롯하고 EC50 효능을 비선형 회귀 곡선 피트(GraphPad Prism)를 사용하여 계산했다.

[0204]

B7-H4 항체는 내인성 B7-H4 발현 유방 세포주 SK-BR-3에 대해 강력한 용량 의존적 ADCC 활성을 나타냈다. 더욱이, 어푸코실화 항체는 푸코실화 항체에 비해 훨씬 더 강력한 ADCC 활성을 나타냈다(표 14).

표 14: ADCC 활성

항체	BIN	ADCC 검정 (EC50 +/- STD; nM)	
		어푸코실화	푸코실화
20502	3	0.0007 +/-1.1x10E-3	0.0370 +/-6.2E-2

[0205]

[0206]

5.3 실시예 3 : ADCC 활성과 수용체 밀도의 상관 관계

[0207]

SK-BR-3, HCC1569, ZR-75-1, MDA-MB-48, 및 HCC1964 세포 표면의 B7-H4 밀도는 제조업체의 사양에 따라 FACS에 의해 정량화되었다. 구체적으로, 1x10⁵ 세포를 얼음에서 25분 동안 15ug/mL B7-H4 항체와 함께 배양했다. 동시에, 한 방울의 Quantum™ Simply Cellular(QSC) 마이크로스페어(항-마우스 IgG 포획 항체의 증가된 농도로 사전-코팅된)를 얼음에서 25분 동안 15ug/mL B7-H4 항체와 함께 배양했다. 배양 후, 세포 및 QSC 마이크로스페어를 펠릿화하고 세척하고 샘플을 유세포 분석기에서 획득했다. 플로우조(FlowJo) 소프트웨어를 사용하여 데이

터를 분석했다. 평균 형광 강도(MFI)를 계산하여 QuickCal® 스프레드시트에 입력했다. 각 비드의 형광 채널 값을 사전-할당된 항체 결합 용량(ABC) 값과 연관시키는 회귀가 자동으로 계산될 것이다. 표지된 세포의 MFI 값이 템플릿에 또한 추가되면 ABC 값이 할당되었다.

[0208] B7-H4 항체는 상이한 수준의 B7-H4 세포 표면 밀도를 갖는 B7-H4 발현 표적 세포주에 대한 ADCC 활성화에 대해 평가되었다. 구체적으로, 1×10^4 SK-BR-3, HCC1569, ZR-75-1, MDA-MB-468 또는 HCC1964 표적 세포를 4°C에서 B7-H4 항체의 용량-적정과 함께 공동-배양했다. 25분 후, 프로메가(Promega)의 Jurkat-huCD16 리포터 세포의 일회용 바이알을 해동하고 7.5×10^4 세포를 표적 세포/B7-H4 항체 혼합물에 첨가하고 37°C에서 배양했다. 24시간 후, 샘플을 실온(RT)으로 가져와 바이오-글로(Bio-Glo) 완충액과 함께 배양했다. 기질 및 발광은 엔비전(EnVision) 다중-라벨 판독기에서 정량화되었다. 데이터는 발광 대 항체 농도로 플롯되었고 EC50 효능은 비선형 회귀 곡선 피트(GraphPad Prism)를 사용하여 계산되었다.

[0209] B7-H4 항체 ADCC 활성화는 B7-H4 세포 표면 밀도에 의존적이었다: 세포 표면 분자의 수가 감소함에 따라 최대 ADCC 활성화의 양도 또한 감소하였다. 더욱이, 어푸코실화 항체는 낮은 수준의 B7-H4 세포 표면 밀도를 갖는 표적 세포에 대해 특히, 푸코실화 항체에 비해 개선된 ADCC 활성을 보여주었다(도 1).

[0210] **5.4 실시예 4: 항-PD-1 항체와 조합된 생체내 항-종양 효능**

[0211] **방법:** 8주 된 암컷 BALB/c 마우스를 찰스 리버 래보라토리즈(Charles River Laboratories, Hollister, CA)에서 구입하고 연구 시작 전 최대 2주 동안 적응시켰다. 무린 유방 암종 세포주 4T1은 무린 B7-H4의 세포의 도메인 및 무린 B7H3의 막 관통 도메인을 함유하는 키메라 단백질 발현하도록 조작되었다. 종양 세포를 마우스의 유방 지방 패드에 0.5×10^5 세포/50 μ l/마우스로 동소적으로 이식하였다. 접종 전에, 세포는 10% 열-불활성화된 소태아 혈청(FBS)이 보충된 RPMI 1640 배지에서 3회 이하의 패시지동안 배양되었다. 세포는 5% CO₂의 가습된 대기하의 37°C에서 성장했다. 80-85% 합류에 도달하면, 세포를 수확하고 각 마우스의 복부 측면에 있는 무 혈청 RPMI 1640에서 유방 지방 패드로 재현탁시켰다.

[0212] 종양 성장에 대해 세포 이식 후 마우스를 매주 2회 모니터링하였다. 각 종양의 길이와 너비는 캘리퍼스를 사용하여 측정되었으며, 부피는 다음 공식에 따라 계산되었다: 종양 부피 (mm³) = (너비(mm) x 길이(mm)²)/2. 치료 시작일에 모든 종양을 측정하고 이상치를 제외하고 마우스를 무작위로 치료 그룹에 할당했다. 항-B7-H4 처리를 위해, 푸코실화 마우스 IgG2a에 융합된 20502 가변 영역을 함유하는 20502-msIgG2a-F라고 불리는 20502의 마우스 대리물이 사용되었다. 대조군으로서 마우스에게 msIgG2a(항-HEL)를 투여하였다. 20502-msIgG2a-F 또는 msIgG2a는 접종 후 11일에 시작하여 매주 2회 정맥내(i.v.) 주사를 통해 4회 투여되었다. 항-PD-1 (Fc 사일런트 msIgG2a 도메인을 함유하는 RMP1-14(Bio X Cell)의 변형된 버전)은 접종 후 11일에 시작하여 매주 2회 복강내(i.p.) 주사를 통해 3회 투여되었다. 종양 부피가 동물 체중의 10% 또는 대략 2000 mm³를 초과할 때까지 종양을 주당 적어도 2회 계속 측정했다.

[0213] **결과:** 종양 크기의 변화, 평균 종양 부피의 변화 및 생존율(%)을 각각 도 1a, 도 1b 및 도 1c에 도시하였다. 20502-msIgG2a-F 또는 항-PD-1로의 치료는 msIgG2a 대조군에 비해 종양 성장을 상당히 감소시켰다(p < 0.05). 20502-msIgG2a-F 및 항-PD-1의 공동-투여는 단일요법에 비해 종양 성장 억제를 상당히 향상시켰다(p < 0.05). 더욱이, 병용 요법은 12마리 중 5마리에서 완전한 종양 퇴행을 초래했다. P-값은 각 그룹 간의 다중 비교와 함께 연구의 각 날에 계산된 종양 부피의 원-웨이(One-Way) ANOVA 분석을 사용하여 계산되었다.

[0214] 추가 실험에서, 20502-msIgG2a-F는 1mg/kg 및 3mg/kg만큼 낮은 용량에서 조작된 4T1 모델에서 단일 요법으로서 용량-의존적 항-종양 활성을 입증했다(도 2). 0.3mg/kg, 3mg/kg 또는 30mg/kg의 용량으로 20502-msIgG2a-F를 항-PD-1 항체(5mg/kg)와 조합하면 테스트된 거의 모든 용량의 20502-msIgG2a-F에서 조작된 4T1 모델 및 유사하게 조작된 B16(흑색종) 모델 모두에서 시너지적인 항-종양 활성을 나타냈다(도 3). (PD-1 항체는 20502-msIgG2a-F의 첫 3회 투여로서 같은 날에 4T1 모델에 3회, 및 20502-msIgG2a-F의 두 번째 및 네 번째 투여로서 같은 날에 B16 모델에 2회 투여되었다.) 이 시너지 효과는 0.3mg/kg 용량에서 20502-msIgG2a-F 단독 투여가 종양 부피에 유의한 영향을 미치지 않았다는 점을 감안할 때 그 용량에서 특히 예상치 못한 것이었다(도 2). 더욱이, 항-PD1과 조합된 20502-msIgG2a-F의 0.3mg/kg 용량에서 관찰된 효능(퍼센트 생존율)은 항-PD1과 조합된 3mg/kg 또는 30mg/kg 용량에서 관찰된 효능과 놀랍게도 유사하거나 심지어 훨씬 더 우수했다. 따라서, 이러한 결과는 단일 요법으로서 비-효능적인 항-B7-H4 항체의 용량에서 항-B7-H4 항체와 항-PD1이 시너지적으로 조합하며, 이는 효능 측면에서 뿐만 아니라 안전성 측면에서도 이점을 가질 수 있음을 보여준다.

[0215] **5.5 실시예 5: 비임상적 약동학**

[0216] 어푸코실화 20502의 약동학(PK) 및 독성역학(TK)은 마우스, 래트 및 사이노몰구스 원숭이에서 단일 및/또는 매 주 반복 정맥내(IV) 투여 후 평가되었다. 관찰된 PK 특성은 모든 연구에서 일관되었다. 모든 종에서, 어푸코실화 20502는 선형 PK 및 증가된 용량에서 노출에서 비율적 용량 증가(혈청 농도-시간 곡선 아래 영역 [AUC])를 나타냈다. 첫 번째와 마지막 투여 사이에 20502의 4주간 투여 후 주간 노출(AUC_{0-7일})이 대략 2배 증가했다; 그러나 정상 상태는 달성되지 않았다. 혈청 어푸코실화 20502 농도-시간 프로파일에서 실질적인 성별 차이는 분명하지 않았다. 사이노몰구스 원숭이(2개의 다른 연구에 걸쳐)에서 회복 동물로부터 추정된 반감기는 약 8.8일 내지 12일 범위였으며, 용량 수준은 1 내지 100mg/kg이었다. 40mg/kg의 단일 IV 주입 투여 후 래트의 예상 반감기는 약 13.2일이었다. 동물에서 어푸코실화 20502의 PK 특성은 3주에 1회(Q3W) 투여 요법으로 인간의 IV 주입을 지지한다.

[0217] **5.6 실시예 6: 독성학**

[0218] 어푸코실화 20502를 사용한 독성 연구는 래트 및 사이노몰구스 원숭이에서 수행되었다. 연구에는 래트를 대상으로 한 파일럿 단일 용량 약동학(PK)/내약성 연구, 사이노몰구스 원숭이를 대상으로 한 파일럿 반복-투여 독성 연구, 및 인간, 래트 및 시노 몰구스 원숭이 조직을 사용한 GLP(Good Laboratory Practices)조직 교차-반응성 연구 뿐만 아니라 래트 및 시노몰구스 원숭이를 대상으로 한 GLP 반복 -투여 독성 연구를 가능하게 하는 연구용 신약(IND)이 포함되었다.

[0219] 래트에 대한 단일 용량 파일럿 내약성 연구에서, 동물은 30분 정맥내(IV) 주입으로 최대 40mg/kg의 용량을 받았다. 어푸코실화 20502는 임상 관찰, 체중, 음식 소비, 임상 병리학(혈청 화학 또는 혈액학) 평가, 총 관찰, 장기 무게 또는 조직병리학 평가에 영향을 미치지 않았다.

[0220] 파일럿 반복-투여 독성 연구에서 사이노몰구스 원숭이는 30분 IV 주입으로 최대 100mg/kg의 어푸코실화 20502를 4주마다 IV 용량으로 받았다. 모든 용량은 사이노몰구스 원숭이에 의해 잘 견뎌졌다. 임상 관찰, 체중, 임상 병리, 부검, 장기 중량 또는 조직병리 매개변수를 평가하는 동안 어푸코실화 20502의 투여로 인한 시험 항목-관련 예정되지 않은 사망 또는 변화는 없었다.

[0221] 반복-용량 GLP 독성 연구에서, 어푸코실화 20502는 1, 10 및 100mg/kg/용량의 용량 수준으로 래트와 사이노몰구스 원숭이 모두에게 4주간 용량으로 IV로 투여되었다. 독성의 가역성은 최종 투여 후 6주 회복 기간 동안 평가되었다. 평가를 위한 매개변수에는 안과 검사, 임상 관찰, 체온, 체중, 음식 소비, 혈액학, 응고, 임상 화학, 소변 검사, 장기 무게, 거시적 및 현미경 평가가 포함되었다. 사이노몰 구스 원숭이 연구에서 심전도(ECG)를 평가하여 잠재적인 심장 독성을 평가했다.

[0222] GLP 래트 연구의 평가 동안, 어푸코실화 20502는 일반적으로 잘 견디며, 어푸코실화 20502에 기인한 독성 효과는 없었다. 스프래그 달리(Sprague Dawley) 래트에서 관찰된-부작용-없음 수준(NOAEL)은 100mg/kg/용량으로 간주되었다.

[0223] GLP 사이노몰구스 원숭이 연구에서, 어푸코실화 20502는 일반적으로 잘 견디며, 평가된 임의의 매개변수에서 관찰된 어푸코실화 20502로 인한 부작용(AE)은 없었다. 연구 동안, 고용량 그룹에서 투여 단계 말기에 더 높은 설사 발생률이 관찰되었다. 중간 및 고용량에서 영향을 받은 동물의 더 높은 발생률 뿐만 아니라 투여 기간의 후기 상에서의 발병 때문에 어푸코실화 20502 노출과의 관계가 가능하다. 설사를 하는 동물을 포함하여 어푸코실화 20502로 처리된 동물에서 장의 미세한 변화가 없었다; 따라서, 이 결과는 유해하지 않은 것으로 간주되었지만 테스트 항목과 관련이 있을 수 있다. 연구에서 단 한 건의 사망이 있었다. 중간 용량 회복 그룹의 한 동물은 마지막 투여 14일 후 연구 35일에 사망한 것으로 발견되었다. 임상 관찰, 육안 및 현미경 평가는 장 비틀림의 진단과 일치했다. 장 비틀림은 때때로 사이노몰구스 원숭이에서 발생하며, 이것은 이 동물에서 자발적인 상태로 간주되었으며 관련-테스트 항목이 아니다. 사이노몰구스 원숭이의 NOAEL은 100mg/kg/용량으로 간주되었다.

[0224] 생체내 독성 연구에 추가하여, 래트, 사이노몰 구스 원숭이 및 인간의 36개 조직 패넬에 대한 어푸코실화 20502의 결합을 비교하기 위해 GLP-순응 조직 교차 반응성 연구를 수행하였다. 결과는 어푸코실화 20502의 결합 패턴이 3종간에 유사하며 유선 상피에만 국한된 것으로 나타났다.

[0225] 따라서, 어푸코실화 20502는 사이노몰구스 원숭이 및 래트에서 충분히 내약성이었다. 두 종의 NOAEL은 100mg/kg/dose로 간주되었으며, 이는 4주간 IV 용량으로 제공되었을 때 테스트된 최고 용량이었다.

[0226] **5.7 실시예 7: 펩트블리주매파 병용된 어푸코실화 20502를 연구하는 1a 상 용량 증량/안전성 리드-인 및 1b 상**

용량 확장

[0227] 편의상, 본 실시예에서 어푸코실화 20502는 A-20502로 언급된다.

[0228] 제목: 진행성 고형 종양 환자에서 펌브롤리주맙(항-PD1 항체)과 병용된 항 -B7-H4 항체의 1a/1b 상 연구

[0229] 1a 상 목적 및 끝점:

목적	끝점
1 차	
안전성	
펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • 진행성 고형 종양 환자에서 펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 안전성 및 내약성을 평가하기 위해 • 진행성 고형 종양 환자에서 펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 최대 허용 용량(MTD) 및/또는 권장 용량(RD)을 결정하기 위해 	펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • AE, 임상 시험실 이상 및 ECG 이상의 발생률 • 3 등급 및 4 등급 AE 및 DLT 로 정의된 임상 시험실 이상의 발생률
2 차	
약동학	
펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • 진행성 고형 종양 환자에서 펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 PK 프로파일을 특성화하기 위해 	펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 <p>다음 PK 매개변수는 적절하고 적용가능한 경우 펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 에 대한 농도-시간 데이터에서 파생될 것이다:</p> <ul style="list-style-type: none"> • AUC (혈청 농도 시간 곡선 아래 면적) • C_{max} (최대 혈청 농도) • C_{trough} (투여 간격 종료시 골저 혈청 농도) • CL (클리어런스) • t_{1/2} (말단 반감기) • V_{ss} (정상상태에서 분포 부피) • A-20502 에 대한 데이터를 이용가능하다면 용량 비례, 누적 비율, 정상 상태 달성과 같은 기타 매개변수도 계산될 것이다. • 데이터가 이용가능하다면 펌브롤리주맙에 대한 C_{max} 및 C_{trough} 누적비율이 계산될 수 있다.
면역원성	
펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • 진행성 고형 종양 환자에서 펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 면역원성을 특성화하기 위해 	펌브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • A-20502 에 대한 면역반응(ADAs) • 펌브롤리주맙에 대한 면역반응(ADAs)

[0230]

목적	끝점
탐색적	
효능	
<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 임상적 이익을 평가하기 위해</p>	<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • 객관적 반응률(ORR), RECIST v1.1 당 CR 또는 PR 반응이 확인된 총 환자수를 반응을 평가할 수 있는 총 환자수로 나눈 것으로 정의 • 반응 기간(DOR), 이후에 확인된 반응 (CR 또는 PR)의 시작부터 어떤 원인으로 인한 진행성 질병 또는 사망의 첫 관찰까지 시간으로 정의 • 무진행 생존 (PFS), 환자의 첫 번째 투여부터 어떤 원인으로 인한 진행성 질병 또는 사망의 첫 관찰까지의 시간으로 정의
약력학적 바이오마커	
<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • 치료 전 및 치료 중 종양 생검에서 면역 세포 침윤의 분석을 통해 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 약력학적 프로파일을 특성화하기 위해 • 말초 혈액 샘플에서 탐색적 바이오마커의 평가를 통해 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 약력학적 프로파일을 특성화하기 위해 	<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자에서 IHC 및/또는 RNA 분석에 의해 중앙 면역 침윤의 마커(예를 들어, 자연 살해 세포(NK), CD4, CD8, 및/또는 기타 선택 면역 바이오마커를 포함할 수 있다)에서 변화 • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자에서 다중 분석에 의해 결정된 바와 같은 사이토카인 수준(예를 들어, IL-2, IL-6, IL-10, TNF, IFNγ 를 포함 할 수 있다.)의 변화 • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자의 말초 혈액에서 선택된 추가적 약력학적 마커의 변화

[0231]

[0232] 1b 상 목적 및 끝점:

목적	끝점
1 차	
안전성	
팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • MTD 및/또는 RD 에서 치료된 B7-H4 + 진행성 고형 종양의 선택된 환자에서 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 안전성 및 내약성을 평가하기 위해 	팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자에서 AE, 임상 실험실 이상 및 ECG 이상의 발생률
2 차	
효능	
팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • MTD 및/또는 RD 에서 치료된 B7-H4 + 진행성 고형 종양의 선택된 환자에서 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 임상적 이익을 평가하기 위해 	팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • ORR, RECIST v1.1 당 CR 또는 PR 반응이 확인된 총 환자수를 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 에 대한 반응을 평가할 수 있는 총 환자수로 나는 것으로 정의 • DOR, 이후에 확인된 반응(CR 또는 PR)의 시작부터 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 에 대한 어떤 원인으로 인한 진행성 질병 또는 사망의 첫 관찰까지 시간으로 정의 • PFS, 환자의 첫 투여로부터 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 에 대한 어떤 원인으로 인한 진행성 질병 또는 사망의 첫 관찰까지의 시간으로 정의
약동학	
팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • MTD 및/또는 RD 에서 치료된 B7-H4+ 진행성 고형 종양 환자에서 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 PK 프로파일을 특성화하기 위해 • 진행성 고형 종양 환자에서 A-20502 와 조합된 팜브롤리주맙의 PK 프로파일을 특성화하기 위해 	팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 <ul style="list-style-type: none"> • 다음 PK 매개변수는 적절하고 적용가능한 경우 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 에 대한 농도-시간 데이터에서 파생될 것이다: <ul style="list-style-type: none"> • AUC • C_{max} • C_{trough} • CL • t_{1/2} • V_{ss} • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자에 대한 데이터가 이용가능하다면 누적 비율, 정상 상태 달성과 같은 기타 매개변수도

[0233]

<p>목적</p>	<p>끝점</p> <p>계산될 것이다</p> <ul style="list-style-type: none"> • 데이터가 이용가능하다면 팜브롤리주맙에 대한 C_{max} 및 C_{trough} 뿐만 아니라 C_{max} 및 C_{trough} 의 누적비율도 계산될 수 있다.
<p>면역원성</p>	
<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTD 및/또는 RD 에서 치료된 B7-H4 + 진행성 고형 종양의 선택된 환자에서 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 면역원성을 특성화하기 위해 • MTD 및/또는 RD 에서 치료된 B7-H4 + 진행성 고형 종양의 환자에서 A-20502 와 조합된 팜브롤리주맙의 면역원성을 특성화하기 위해 	<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • A-20502 에 대한 면역반응(ADAs) • 팜브롤리주맙에 대한 면역반응(ADAs)
<p>탐색적</p>	
<p>약력학적 바이오마커</p>	
<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • 치료 전 및 치료 중 종양 생검에서 면역 세포 침윤의 분석을 통해 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 약력학적 프로파일을 특성화하기 위해 • 말초혈액 샘플에서 탐색적 바이오마커의 평가를 통해 팜브롤리주맙과 병용된 FP150 의 약력학적 프로파일을 특성화하기 위해 	<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자에서 IHC 및/또는 RNA 분석에 의해 종양 면역 침윤의 마커(예를 들어, 자연 살해 세포(NK), CD4, CD8, 및/또는 기타 선택 면역 바이오마커를 포함할 수 있다)에서 변화 • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자에서 다중 분석에 의해 결정된 바와 같은 사이토카인 수준(예를 들어, IL-2, IL-6, IL-10, TNF, IFNγ 를 포함할 수 있다.)의 변화 • 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자의 말초 혈액 샘플에서 선택된 추가적 약력학적 바이오마커의 변화
<p>효능</p>	
<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTD 및/또는 RD 에서 치료된 B7-H4 + 진행성 고형 종양의 선택된 환자에서 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 의 임상적 이익을 평가하기 위해 	<p>팜브롤리주맙과 병용된 A-20502</p> <ul style="list-style-type: none"> • 전체 생존율(OS), 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502 로 치료된 환자에서 환자의 첫 투여로부터 어떤 원인으로 인한 사망까지의 시간으로 정의

[0234]

[0235]

특정 구현양태양태에서, 주사용 팜브롤리주맙은 단일-용량 바이알에서 무균, 무방부제, 백색 내지 회백색 동결 건조 분말로서 공급된다. 각 바이알은 정맥 주입을 위해 재구성되고 희석될 수 있다. 이러한 재구성된 용액의 각 2mL에는 50mg의 팜브롤리주맙이 함유되어 있으며 L-히스티딘(3.1mg), 폴리소르베이트 80(0.4mg) 및 수크로스(140mg)로 제형화된다. pH를 5.5로 조정하기 위해 염산/수산화나트륨을 함유할 수 있다. 동결건조된 분말은 직접 동결건조된 분말이 아닌 바이알의 벽을 따라 물을 주입하여 2.3mL의 주사용 멸균수(Sterile Water for Injection, USP)를 추가하여 재구성된다(생성 농도 25mg/mL). 바이알을 천천히 원을 그려(흔들지 않고) 거품이 제거될 때까지 최대 5분 동안 기다린다.

[0236]

다른 구현양태에서, 팜브롤리주맙은 단일-사용 바이알에서 100mg/4 mL(25mg/mL) 용액으로 주사용으로 이용가능하다. 주사는 무균, 무방부제, 투명에서 약간 유백색, 무색에서 약간 노란색의 용액으로 정맥 주입을 위해 희석해야 한다. 각 바이알은 4mL 용액에 100mg의 팜브롤리주맙을 함유한다. 각 1mL의 용액은 25mg의 팜브롤리주맙을 함유하며 L-히스티딘(1.55mg), 폴리소르베이트 80(0.2 mg), 수크로스(70 mg) 및 주사용수, USP로 제형화된다.

[0237]

연구 설계: 이것은 진행된 고형 종양에서 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502의 투여량, 안전성, 내약성, 약동학(PK), 약력학 및 예비 효능을 평가하기 위한 1a/1b 상 공개 라벨, 다기관 연구이다.

[0238]

이 연구는 팜브롤리주맙과 병용된 A-20502에 대한 1a 상 용량 증량/안전성-리드 인 부분(1a 상 용량 증량) 및 1b 상 용량 확장 부분(1b 상 용량 확장)을 포함한다.

- [0239] 보관 종양 조직(또는 보관 조직을 이용할 수 없는 경우 얻은 신선한 생검)을 사전 스크리닝하여 1a 상 용량 탐색 및 1b 상 용량 확장에서 환자를 위한 및 바이오마커 분석을 위한 중앙 실험실에서 B7-H4(B7S1, B7x 또는 VTCN1로도 알려진 B7 패밀리의 막관통 단백질) 발현 수준을 면역조직화학(IHC)에 의해 테스트할 수 있다.
- [0240] 특정 구현양태에서, 보관 종양 조직 및/또는 신선한 생검은 다음과 같이 제공된다:
- [0241] **1a 상 용량 증량:**
- [0242] · 환자에 대한 후향적 바이오마커 분석을 위한 보관 종양 조직(또는 보관 조직을 이용할 수 없는 경우 얻은 새로운 생검) 제공.
- [0243] **1a 상 용량 탐색:**
- [0244] · 사전 스크리닝 및 바이오마커 분석을 위해 중앙 실험실에서 수행된 IHC 테스트를 통해 B7-H4 발현 수준을 평가하기 위한 보관 종양 조직; 보관 조직을 이용할 수 없는 경우 신선한 생검 조직이 이 검사에 사용될 것이다.
- [0245] · 스크리닝 및 치료 후 신선한 생검이 사용된다.
- [0246] **1b 상 용량 확장:**
- [0247] · 사전 스크리닝 및 바이오마커 분석을 위해 중앙 실험실에서 수행된 IHC 테스트를 통해 B7-H4 발현 수준을 평가하기 위한 보관 종양 조직; 보관 조직을 이용할 수 없는 경우 신선한 생검 조직이 이 검사에 사용된다.
- [0248] · 확장된 약력학적 분석을 위해 스크리닝 및 치료 후 환자 하위집합(예를 들어, 30명의 환자 코호트 당 최소 10명의 환자)에 대해 신선한 생검이 사용된다.
- [0249] 본 시놉시스의 1a 상 용량 증량 및 1b 상 용량 확장 섹션에서 각 연구 상에 대한 추가 세부 사항이 아래에 제공된다.
- [0250] **1a 상 안전성 리드-인(Lead-in)(웹브롤리주맙과 병용된 A-20502):** 최소 3명의 환자가 웹브롤리주맙 200mg Q3W 과 조합된 단일 요법으로 A-20502의 최대 허용 용량(MTD) 및/또는 권장 용량(RD)으로 등록할 것이고 용량 제한 독성(DLT)에 대해 평가될 것이다. 총 10명의 환자에 대한 추가 환자는 A-20502 및 웹브롤리주맙의 RD에서 치료될 수 있다. 필요한 경우, A-20502의 용량은 아래 설명된 단계적 축소 알고리즘에 따라 감소될 수 있다. 제안된 용량 수준은 다음과 같다:
- [0251] · 1aC1: A-20502(RD) + 웹브롤리주맙 200mg IV Q3W
- [0252] · 1aC2: A-20502(10mg/kg) + 웹브롤리주맙 200mg IV Q3W
- [0253] · 1aC3: A-20502(3mg/kg) + 웹브롤리주맙 200mg IV Q3W
- [0254] 약어: IV = 정맥 내; Q3W = 3주에 1회; RD = 권장 용량.
- [0255] 일부 구현양태에서, RD는 20mg/kg이다. 진행성 고형 종양 환자를 대상으로 한 1a/1b 상 단일요법 연구에서, A-20502는 용량 제한 독성없이 20mg/kg의 높은 용량에서 충분히 내약성이었다. 1a/1b 상 단일요법 연구에서 환자에 대한 약동학 연구를 기반으로, 20mg/kg의 RD에서 관찰된 A-20502의 골저 농도는 친화성을 기반으로 B7-H4 및 Fc γ IIIa에 대해 $\geq 95\%$ 수용체 포화도를 달성할 것으로 예상된다. A-20502는 $\geq 0.3\text{mg/kg}$ 의 용량에서 용량-비례 노출을 달성했으며 반감기는 1 내지 2주였다. 20 mg/kg에서 A-20502의 혈청 농도는 시간이 지남에 따라 종양 유형(유방, 난소 및 자궁내막)과 웹브롤리주맙 유무에 관계없이 유사했다.
- [0256] 예를 들어, 안전성, 내약성, 객관적 반응, PK, 및 약력학 및 비-임상 데이터로부터 외삽된 효과적인 노출의 추정치에 기반하여 다른 용량 수준(예를 들어, 0.1, 0.3, 1 또는 20mg/kg)이 조합 연구에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 안전성 데이터에 기반한 A-20502의 더 낮은 또는 중간 용량 수준이 사용될 수 있다. A-20502와 웹브롤리주맙의 조합에 대한 DLT 기준은 다음과 같다:
- [0257] 1a 상 용량 증량 동안 DLT는 속성에 관계없이 다음 이벤트 중 하나로 정의된다(기저 질환 또는 외부 원인으로 인한 명백한 이벤트 제외):
- [0258] · 치료 21일 이내에 발생하는 모든 3등급 이상의 비-혈액학적 독성(등급3 메스꺼움, 구토 및 설사 제외)
- [0259] · 최적의 지지 요법에도 불구하고 치료 후 처음 21일 이내에 발생하는 3등급 메스꺼움, 구토, 72시간 이상 지속되는 설사,

- [0260] · 열성 호중구감소증 및/또는 절대 호중구 수로 문서화된 감염(ANC) < $1.0 \times 10^9/L$, 7일 이상 지속되는 4등급 호중구감소증, 4등급 혈소판감소증(< $25.0 \times 10^9/L$) 또는 치료 후 첫 21일 이내에 출혈을 동반하는 3등급 혈소판감소증(< $50.0-25.0 \times 10^9/L$)
- [0261] · 아스파르테이트 아미노트랜스페라제/알라닌 트랜스아미나제(AST/ALT)> $3 \times$ 정상 상한(ULN) 및 동시 총 빌리루빈 > $2 \times$ ULN 압과 관련된 간과 관련 없음
- [0262] · 임상 후유증에 관계없이 임의의 등급 4 실험실 값
- [0263] · 72시간 이내에 해결되지 않는 연구자 및 후원자 계약에 따라 임상적으로 중요하지 않은 기타 등급 3 실험실 값
- [0264] **A-20502 및 펙브롤리주맙의 조합에 대한 특이적 DLT 고려 사항**
- [0265] · 펙브롤리주맙은 공지된 면역 체크포인트 억제제이고 A-20502의 제안된 작용 메커니즘 중 하나는 면역 체크포인트 차단이기 때문에, 이 조합으로 면역-관련 부작용(immune-related adverse events, irAE)이 예상된다. irAE는 미지의 병인의 연구 약물 노출과 관련이 있고 면역-매개 메커니즘과 일치하는 임상적으로 중요한 AE로 정의된다. 이러한 배경을 기반으로 다음과 같은 irAE의 첫 번째 발생은 면역 요법에서 예상되기 때문에 DLT로 간주되지 않는다:
 - [0266] · 3등급 종양 발적(알려지거나 의심되는 종양 부위에 국소적인 통증, 자극 또는 발진으로 정의됨),
 - [0267] · 3등급 발진
 - [0268] · 14일 이내에 1등급 이하로 해결된 3등급 면역-관련 부작용(irAE)
 - [0269] · 일시적(발병 6 시간 이내에 해결) 3등급 주입-관련 AE
- [0270] 동일하거나 다른 환자에서 이러한 이베트(3등급 종양 발적 제외)의 두 번째 발생은 DLT로 간주된다.
- [0271] DLT 평가 간격은 주입 시작시 치료 첫 날에 시작하여 21일 동안 계속된다. 아래 표에 설명된 알고리즘이 투여 결정에 적용될 것이다. A-20502의 용량은 DLT에 대한 반응으로 필요시에 낮출 수 있다. 펙브롤리주맙과 병용된 A-20502의 MTD 및/또는 RD는 $\leq 1/3-6$ 환자가 DLT를 만나는 용량이 될 것이다.
- [0272] **1a 상에서 펙브롤리주맙과 병용된 A-20502 안전성 리드-인에 대한 용량 단계적 감소 결정을 위한 알고리즘:**

주어진 용량 수준에서 DLT 를 갖는 환자 수	용량 결정 규칙
0/3	추가 안전성 평가를 위해 해당 용량 수준에서 최대 총 10 명의 환자 등록을 진행.
1/3	현재 용량 수준에서 3 명의 추가 환자 등록 (현재 코호트)
$\geq 2/3$	현재 코호트에서 등록을 중지하고 A-20502 를 현재 용량보다 한 단계 낮은 용량 수준으로 단계적 감소
1/6	해당 용량 수준에서 최대 총 10 명의 환자 등록을 진행.
$\geq 2/6$	현재 코호트에서 등록을 중지하고 A-20502 를 현재 용량보다 한 단계 낮은 용량 수준으로 단계적 감소

- [0273] .
- [0274] **1b상 조합 확장:**
- [0275] 1b 상은 IHC에 의해 B7-H4 발현을 갖는 것으로 전향적으로 확인된 코호트로 구성될 수 있다. 특정

구현양태에서, 하기의 선택된 종양 유형에서 펌브롤리주맵과 병용된 A-20502의 2개의 코호트가 존재할 것이다:

- [0276] · **코호트 1bC1:** TNBC(펌브롤리주맵과 병용된 A-20502)
- [0277] · **코호트 1bC2:** 난소암(펌브롤리주맵과 병용된 A-20502)
- [0278] 다른 구현양태에서, 1b 상 조합은 하나의 초기 코호트를 가지며, TNBC와 같은 다른 코호트는 1b 상 시험에 후속적으로 등록될 수 있다:
- [0279] · **코호트 1bC1:** 난소암(펌브롤리주맵과 병용된 A-20502)
- [0280] 특정 구현양태에서, 최대 3개의 추가 조합 코호트가 추가될 수 있다.
- [0281] 연구로부터 새로운 이용가능한 임상 및 번역 데이터에 기반으로, 펌브롤리주맵과 병용된 A-20502로 치료할 추가 종양 유형에 대한 코호트를 시험 중에 열 수 있다(예를 들어, 임의의 개별 코호트에서 30명 이하의 환자).
- [0282] **투여:** 특정 구현양태에서, A-20502는 각 21일-주기의 1일에 60분(± 5분)-IV 주입 Q3W로 단일 제제로서 투여될 것이다. A-20502의 용량은 1주기 1일(C1D1)의 체중을 기준으로 한다. 1주기 후, A-20502 용량은 1주기, 1일에서 환자의 체중이 > 10% 으로 변경된 경우에만 각 주입 방문에서 재계산된다.
- [0283] 펌브롤리주맵은 A-20502 IV 주입 완료 후 1주기, 1일에 시작하여 30분(± 5분)에 걸쳐 IV 주입에 의해 200mg의 용량으로 투여될 것이고 각 21일-주기의 1일에 Q3W로 반복될 것이다.
- [0284] 펌브롤리주맵과 병용하여 A-20502 용량의 사전-지정된 최대 횟수는 없다. 환자는 연구자가 질병 진행을 평가하거나 환자가 다른 프로토콜-지정된 철회 기준을 충족할 때까지 연구 지정된 코호트/용량에 따라 두 약물을 조합하여 계속 투여받을 수 있다. 환자가 두 약물 중 하나를 중단하면 환자는 다른 약물만 계속해서 받을 수 있다.
- [0285] 이익/위험 평가가 연구 치료제의 지속적인 투여를 선호하는 경우(예를 들어, 환자가 연구자가 평가한 임상적 이익을 계속 경험하기 위해 진행중이고 치료를 견디는 경우), 고형 종양 버전 1.1의 반응 평가(Response Evaluation Criteria in Solid Tumor version1.1, RECIST v1.1)에 따라 진행성 질병을 가진 환자에서 질병 진행 이상의 치료가 허용될 수 있다.
- [0286] **연구 기간:** 개별 환자에 대한 연구 기간에는 스크리닝(최대 28일), 치료 및 치료 종료(EOT) 추적 기간이 포함되며 여기에는 마지막 투여후 약 28(±7)일 및 100(±7)일 방문을 포함할 것이다. 모든 환자는 질병이 진행될 때까지 치료를 받을 자격이 있기 때문에, 각 개별 환자의 실제 치료 기간은 각 종양 유형의 진행 예상 시간에 따라 달라질 것이다.
- [0287] 또한, 1b 상 용량 확장에 등록된 환자는 최대 2년 동안 생존(스캔 및 생존 상태 Q12W를 포함하는 LTFU)을 추적할 것이다.
- [0288] **환자 수:** 본 연구를 위해 계획된 환자 수는 다음과 같이 추정되지만 이 수는 적절하게 조정될 수 있다.
- [0289] 1a 상은 안전성 리드-인에서 펌브롤리주맵과 병용하여 A-20502를 투여받을 6 내지 22명의 환자 또는 10내지 22명의 환자를 등록할 수 있다. 펌브롤리주맵과 병용하여 A-20502를 평가하는 1개 또는 2개의 추가 코호트는, 예를 들어 30명 이하의 환자와 함께 등록될 것이다.
- [0290] **자격 기준:**
- [0291] **포함 기준: 1a 상 포함 기준**
- [0292] 1a 상에 등록할 환자에 대한 포함 기준은 다음과 같다:
- [0293] 1)원발성 중추 신경계(CNS) 종양을 제외한 조직학적으로 확인된 고형 종양.
- [0294] 2)절제불가능하거나 국소적으로 진행되거나 전이되는 질병.
- [0295] 3)연구-특이성 평가 전에 기관 검토위원회/독립 윤리위원회(IRB/IEC)-승인된 정보의 동의 양식(ICF)를 이해하고 서명할 수 있다.
- [0296] 4)환자는 자신의 상태에 대한 임상적 이익을 제공하는 것으로 알려진 기존 요법에 불응성이거나 내성이 있어야 한다.
- [0297] 5)모든 환자는 RECIST v1.1에 따라 기준선에서 적어도 하나의 측정가능한 병변이 있어야 하며; 이전에 조사된 부위 또는 다른 국소부위 치료를 받은 부위에 위치한 종양 부위는 병변의 진행이 입증되지 않는 한 측정가능한

것으로 간주되지 않는다.

- [0298] 6)이전 항-암 요법을 위한 적절한 위시아웃(즉, ≥ 5 반감기 또는 마지막 투여 후 4주 중 더 짧은 쪽).
- [0299] 7)보관 종양 조직의 이용가능성 및 후 후향적 바이오마커 분석을 위한 보관 종양 제공에 대한 동의 또는 보관 조직을 이용할 수 없는 경우 환자는 스크리닝 중에 새로운 종양 생검을 받아야 한다(1a 상 용량 탐색 부분의 환자에게는 생검이 요구된다).
- [0300] 8)ICF 서명 당시 연령 ≥ 18 세.
- [0301] 9)0 또는 1의 이스턴 코퍼레이티브 온콜로지 그룹(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG) 성능 상태.
- [0302] 10)조사관의 의견에 따라 적어도 3개월의 기대 수명.
- [0303] 11)모든 연구 절차를 기꺼이 준수할 의지 및 가능성.
- [0304] 12)사전 방사선요법은 연구 약물의 첫 번째 투여 적어도 2주 전에 완료되어야 한다.
- [0305] 13)이전 방사성의약품(예를 들어, 스트론튬, 사마륨)은 연구 약물의 첫 번째 투여 적어도 8주 전에 완료해야 한다.
- [0306] 14)전신 마취가 필요한 사전 수술은 연구 약물 투여의 첫 번째 투여 적어도 1주 전에 완료되어야 한다. 국소/경막외 마취가 필요한 수술은 연구 약물 투여의 첫 번째 투여 적어도 72시간 전에 완료되어야 한다. 환자는 임의의 수술에서 회복된 상태여야 한다.
- [0307] 15) 스크리닝 실험실 값은 다음 기준을 충족해야 한다:
- [0308] 혈액학
- [0309] a. 호중구 ≥ 1200 세포/ μL
- [0310] b. 혈소판 $\geq 75 \times 10^3 / \mu\text{L}$
- [0311] c. 헤모글로빈(Hb) $\geq 9.0\text{g/dL}$
- [0312] 신장:
- [0313] 혈청 크레아티닌 $< 1.5 \times \text{ULN}$ 또는 크레아티닌 클리어런스(CrCl) $\geq 40 \text{ mL /분}$ (Cockcroft/Gault Formula 사용)
- [0314] 암컷 $\text{CrCl} = \frac{(140 - \text{나이 년}) \times (\text{체중 kg}) \times 0.85}{72 \times (\text{혈청 크레아티닌 mg/dL})}$
- [0315]
- [0316] 수컷 $\text{CrCl} = \frac{(140 - \text{나이 년}) \times (\text{체중 (kg)})}{72 \times (\text{혈청 크레아티닌 mg/dL})}$
- [0317]
- [0318] 간:
- [0319] d. AST 및 ALT $\leq 3 \times \text{ULN}$ (간 전이 환자에서 AST 및 ALT $< 5 \times \text{ULN}$ 허용)
- [0320] e. 빌리루빈 $< 1.5x \text{ULN}$ (총 빌리루빈 $< 3 \text{ mg/dL}$ 을 가져야하는 길버트 증후군 환자 제외)
- [0321] 16)음성 혈청 β -인간 융모성 생식선 자극호르몬(β -hCG) 임신 테스트 \leq 주기 1, 1일 치료 전 96시간(임신 가능성이 있는 여성 전용).
- [0322] 17)A-20502의 마지막 복용량 후 6개월까지 성적으로 활동적인 환자(가임 여성 및 남성)의 경우 2가지 효과적인 피임 방법을 사용할 의사가 있으며, 그 중 1개는 물리적 장벽 방법(콘돔, 다이어프램 또는 자궁경부/궁경부 캡)이어야 한다. 다른 효과적인 피임 방법은 다음과 같다:
- [0323] ◆ 스크리닝 적어도 6개월 전 영구 불임(자궁 절제술 및/또는 양측 난소 절제술, 또는 수술을 통한 양측 난관 결찰술 또는 정관 절제술)
- [0324] ◆ 연구 전 적어도 90일 동안 안정된 경구 피임 요법 또는 자궁내 또는 이식 장치를 사용 중이거나 생활 방식으로 성관계를 삼가는 가임기 여성

- [0325] **1b 상 포함 기준은 다음과 같다:**
- [0326] 18) 1a 상에 대한 모든 포함 기준(예외: 포함 기준 # 1).
- [0327] 19) 수반되는 검증된 중앙 실험실 IHC 검정에 의해 평가된 보관 또는 신선한 중앙 샘플에서 B7-H4 발현에 양성.
- [0328] 20) 지난 2년 이내에 재발의 증거없이 확정적으로 치료된 경우 다른 악성 종양의 병력이 허용된다(예외: 확정적으로 치료된 비-흑색종 피부암, 소엽성 상피내암 및 2년 이내 원위치 발생 자궁경부암은 허용된다).
- [0329] **1b 상에 대한 추가 코호트-특이적 포함 기준**
- [0330] **코호트 1bC1 난소암:**
- [0331] · 임상적 이익을 제공하는 것으로 알려진 기존 치료법에 불응하는 재발성 상피성 난소암, 원발성 복막암 또는 난관 암종의 조직학적 또는 세포학적으로 확인된 진단
- [0332] · 적어도 하나의 백금-함유 요법을 포함하여 적어도 두 번의 이전 치료 요법 중 또는 이후에 진행성 질환 또는 추가 화학요법을 견딜 수 없음
- [0333] · 항-PD1 또는 PD-L1에 대한 제제를 사용한 사전 치료 없음
- [0334] **코호트 1bC2 TNBC:**
- [0335] · 조직학적 또는 세포학적으로 확인된 전이성 TNBC
- [0336] · 전이성 환경에서 적어도 1회 투여되는 전신 화학요법의 적어도 2회 이전 라인
- [0337] · 항-PD1 또는 PD-L1에 대한 제제를 사용한 사전 치료 없음
- [0338] **적격성 기준: 제외 기준(1a 상 및 1b 상)**
- [0339] 다음 기준 중 어느 것을 충족하는 환자는 제외될 수 있다:
- [0340] 1) 스테로이드 또는 흡수성 국소 스테로이드와 같은 전신 약물의 면역억제 용량(프레드니손 또는 이에 상응하는 1일 용량 $\geq 10\text{mg/일}$)은 연구 약물의 첫 번째 투여 적어도 2주 전에 중단해야 한다. 고용량 스테로이드의 단기 코스, 지속적인 저용량(프레드니손 $< 10\text{mg/일}$), 흡입, 비강내, 안내 및 스테로이드의 관절 주사는 허용된다.
- [0341] 2) 스크리닝시 뉴욕 심장 협회(NYHA)의 감소된 심장 기능 > 클래스 2.
- [0342] 3) 불안정한 협심증과 같은 통제되지 않거나 심각한 심장 질환
- [0343] 4) 스크리닝시 기관 지침당 심박수(QTc)에 대해 수정된 QT 간격 > 450msec(남성) 또는 > 470msec(여성).
- [0344] 5) 이전 생물학적 제제에 대한 항-약물 항체(ADA), 중증 알레르기, 아나필락시스 또는 기타 주입-관련 반응의 이력.
- [0345] 6) 연구용 제품(IP) 제형의 임의의 성분 및/또는 펩트폴리주맙에 대해 알려진 과민증.
- [0346] 7) 연구 약물의 첫 번째 투여 전 4주 이내에 백신(예를 들어, 인간 유두종 바이러스[HPV] 백신). 비활성화된 계절성 인플루엔자 백신은 치료 전과 치료 중에 제한없이 환자에게 투여할 수 있다. 생 바이러스가 포함된 인플루엔자 백신 또는 감염성 질환(예를 들어, 폐렴, 수두 등)에 대해 임상적으로 표시된 기타 백신 접종이 허용될 수 있지만 후원사의 의료 모니터와 논의해야 하며 백신 투여 전과 후에 연구 약물 위시아웃 기간이 필요할 수 있다.
- [0347] 8) 현재 해결되지 않은 감염 또는 만성, 활동성, 임상적으로 중요한 감염(바이러스, 세균, 진균 또는 기타)의 이력은 연구자의 의견에 따라 환자가 생물학적 제제에 노출되는 것을 제외하거나 환자 안전에 위험을 초래할 수 있다.
- [0348] 9) 연구자의 의견으로 임상적으로 중요한 것으로 간주되는 비정상적인 혈청 화학 수치를 가진 환자. 여기에는 비정상적인 혈청 화학 수치와 관련된 임상 징후 및 증상을 보이는 환자 뿐만 아니라 혈청 화학 수치가 무증상이지만 연구자에 따르면 임상적으로 중요한 환자(예를 들어, 저칼륨혈증 또는 저나트륨혈증)가 포함된다.
- [0349] 10) 조사자의 의견에 따라 환자의 안전에 위험을 초래하거나 연구 참여 또는 개별 환자 결과의 해석을 방해할 수 있는 통제되지 않은 임의의 의학적 상태 또는 정신 질환.

- [0350] 11) 임신 또는 모유 수유.
- [0351] 12) 지난 2년 동안 치료가 필요한 활성, 알려진 또는 의심되는 자가면역 질병. 제 1형 당뇨병, 호르몬 대체만 필요한 갑상선기능저하증, 전신 치료가 필요하지 않은 피부 질병(백반증, 건선, 탈모증 등) 또는 외부 유발 요인없이 재발할 것으로 예상되지 않는 질병이 있는 환자는 등록할 수 있다.
- [0352] 13) 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 1 또는 2에 대해 또는 알려진 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)에 대해 양성 검사에 알려진 이력.
- [0353] 14) 급성 또는 만성 감염을 나타내는 B형 간염 바이러스 표면 항원(HBsAg) 또는 검출가능한 C형 간염 바이러스 리보핵산(HCV RNA)에 대한 양성 테스트.
- [0354] 15) 국립 암연구소(NCI, National Cancer Institute) 부작용에 대한 공통 용어 기준(CTCAE, Common Terminology Criteria for Adverse Events)에 기반한 선행 치료의 지속적인 부작용 > 1등급(2등급 탈모증 또는 말초 신경병증 제외).
- [0355] 16) 증상이 있는 간질성 폐 질환 또는 염증성 폐렴.
- [0356] 17) 치료되지 않거나 활동적인 CNS 또는 연수막 전이. 전이가 치료되고 환자가 연구 약물의 첫 번째 투여 전 적어도 2주 동안 신경학적으로 기준선으로 복귀하거나 신경학적으로 안정된 경우(CNS 치료와 관련된 잔류 징후 또는 증상 제외) 환자는 자격이 있다.
- [0357] 18) 응고병증 또는 출혈 체질의 증거. 안정된 치료 용량의 항응고제를 투여받는 환자는 허용될 것이다.
- [0358] 19) 연구 약물의 첫 번째 투여 전 72시간 이내에 완료된 혈액 또는 혈소판 수혈.
- [0359] 20) 크론병 및 궤양성 대장염을 포함한 통제되지 않은 모든 염증성 GI 질병
- [0360] **테스트 및 관찰:** 안전 평가에는 생체 신호, 체중, 신체 검사, ECOG 점수, 실험실 테스트(혈액학, 혈청 화학 및 소변 검사), 심전도(ECG), 부작용(AE) 및 수반되는 약물 모니터링이 포함된다.
- [0361] 보관 중앙 조직 및 보관 중앙을 제공하기 위한 동의(또는 스크리닝 동안 새로운 중앙 생검을 받을 의향)는 기준 표적 수준, 중앙 면역 표현형 및 약력학적 반응 사이의 관계를 조사하기 위한 바이오마커 분석을 위해 수집될 것이다.
- [0362] 확대된 약력학적 분석을 위해 1a 상 용량 탐색의 모든 환자 및 1b 상 용량 확장의 환자 서브세트(30명의 환자 코호트 당 최대 15명의 환자)에 대해 치료 전 및 치료 중 중앙 조직을 수집할 수 있다.
- [0363] 효능 평가는 6주마다 수행되는 방사선 촬영으로 구성될 수 있다. 반응은 RECIST v1.1에 따라 평가된다.
- [0364] **통계적 방법:**
- [0365] 효능 분석
- [0366] ORR은 각 용량/코호트별로 90% 신뢰 구간(CI)으로 빈도 및 백분율로 요약될 수 있다. 완전 반응(CR) 및 부분 반응(PR) 환자에 대한 반응 기간(DOR)은 반응자 수, 이벤트/검열의 수 및 백분율, 95% CI를 사용한 중앙 DOR의 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 추정치로 요약될 수 있다. 치료된 환자의 무진행 생존율(PFS)은 각 용량/코호트별로 PFS 환자의 수와 백분율로 요약될 수 있다. PFS는 95% CI로 카플란-마이어 방법을 사용하여 요약할 수도 있다. ORR, DOR 및 PFS는 RECIST v1.1을 사용하여 결정할 수 있다.
- [0367] 약동학 분석
- [0368] 개별 및 평균(±SD) 혈청 A-20502 농도-시간 데이터를 표로 작성하고 용량 수준/코호트별로 플롯할 수 있다. PK 매개변수는 적절하고 적용가능한 경우 용량 수준/코호트별로 표로 작성되고 요약될 수 있다. A-20502 노출에 대한 면역원성의 영향은 데이터가 허용하는대로 용량 수준/코호트별로 평가되고, 표로 작성되고 요약될 수 있다. 퀵브롤리주맙 농도-시간 데이터의 개별 및 평균(±SD) C_{max} 및 C_{trough}는 코호트별로 표로 작성하고 플롯할 수 있다. 누적 비율 및 정상 상태 달성과 같은 PK 매개변수는 데이터가 이용가능한 경우 용량 수준/코호트별로 표로 작성되고 요약될 수 있다.
- [0369] 면역원성 분석
- [0370] 기준선 ADA-양성 대상체는 기준선에서 ADA 양성 샘플을 갖는 대상체로 정의된다. ADA-양성 대상체는 치료 개시

후 기준선에 비해 적어도 하나의 ADA-양성 샘플을 갖는 대상체이다. 치료 개시 후 기준선 ADA-양성 대상체 및 ADA-양성 대상체의 빈도 분포는 각각 A-20502 및 웹브롤리주맙에 대해 요약될 수 있다.

[0371] 약력학적 분석

[0372] 선택된 약력학적 바이오마커는 치료 전 및 치료 중 종양 및 말초 혈액 샘플 사이의 의미있는 변화에 대해 평가 될 것이다.

[0373] * * *

[0374] 본 발명은 본원에 설명된 특정 구현양태에 의해 범위가 제한되지 않는다. 실제로, 설명된 것에 추가하여 본 발명의 다양한 변형은 전술한 설명 및 첨부 도면으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 그러한 수정은 첨부된 청구 범위 내에 속하도록 의도된다.

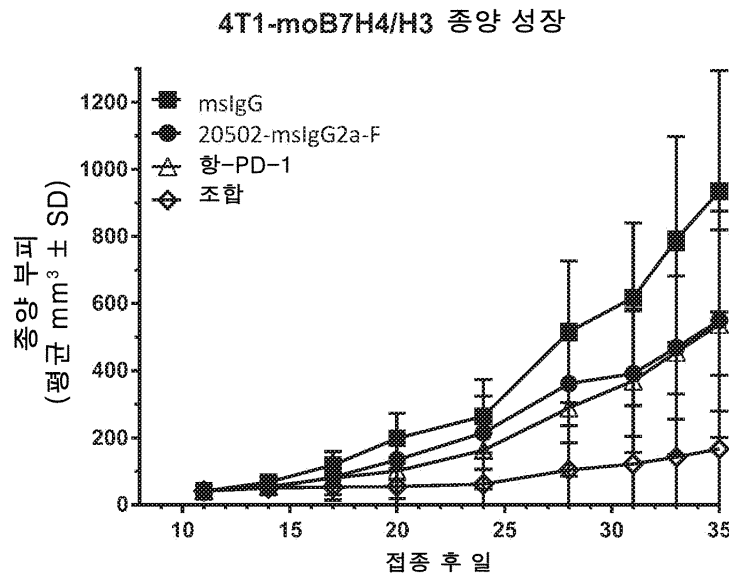
[0375] 본원에 인용된 모든 참고 문헌(예를 들어, 간행물 또는 특허 또는 특허 출원)은 각각의 개별 참조(예를 들어, 간행물 또는 특허 또는 특허 출원)가 구체적으로 언급된 것과 동일한 정도로 전체적으로 그리고 모든 목적을 위해 본원에 포함되며, 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 통합되는 것으로 개별적으로 표시된다.

[0376] 다른 구현양태는 다음의 청구 범위 내에 있다.

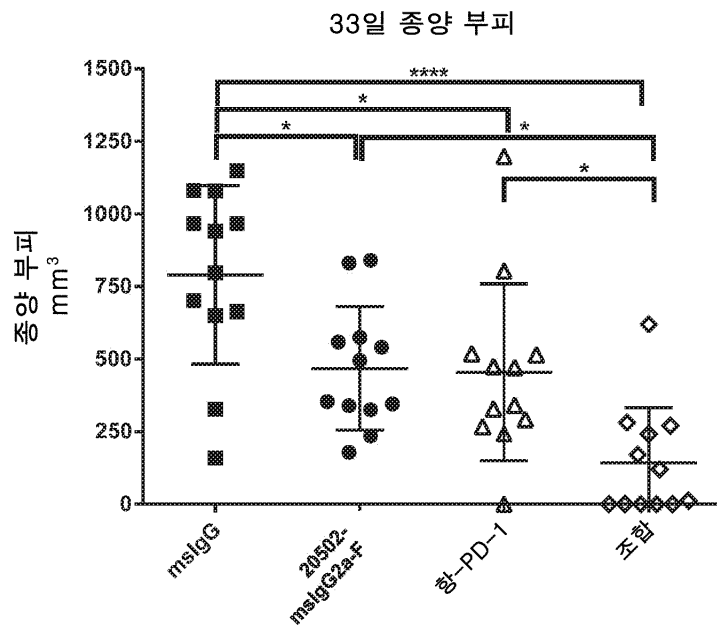
[0377]

도면

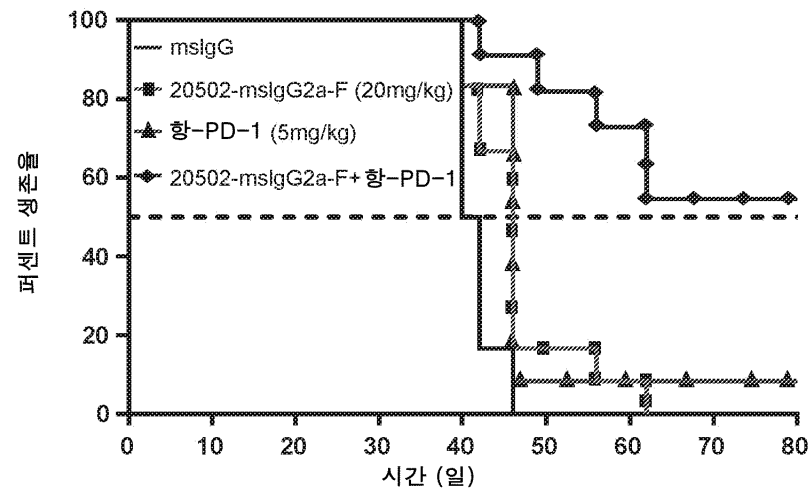
도면1a



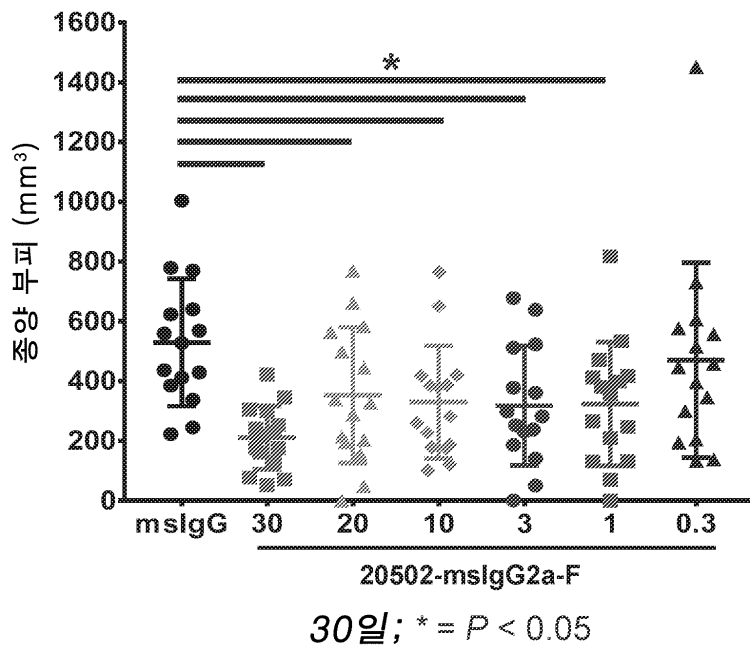
도면1b



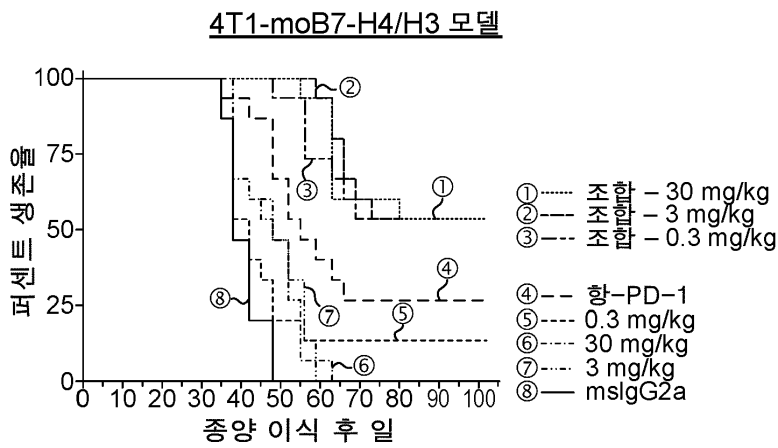
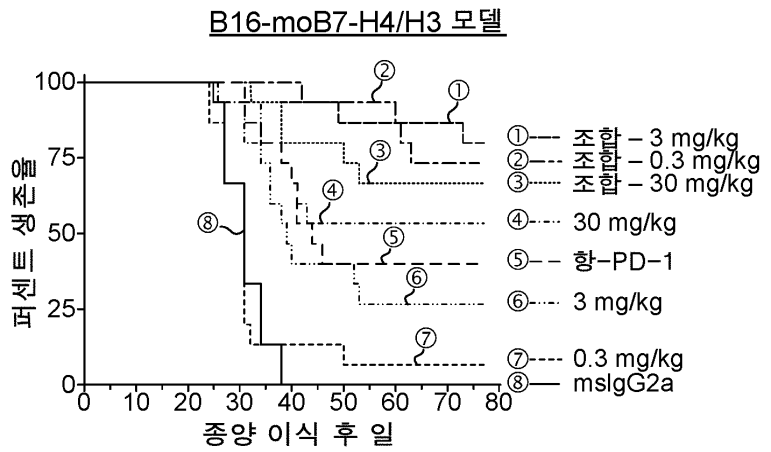
도면1c



도면2



도면3



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC

<120> COMBINATION THERAPY FOR CANCER

<130> 3986.018PC03

<150> US 62/854,494

<151> 2019-05-30

<150> US 62/802,091

<151> 2019-02-06

<150> US 62/745,464

<151> 2018-10-15

<160> 41

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 282

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile

1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser

20 25 30

Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile

35 40 45

Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu

50 55 60

Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val

65 70 75 80

His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met

85 90 95

Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn

100 105 110

Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr
 115 120 125
 Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu
 130 135 140
 Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn
 145 150 155 160
 Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln
 165 170 175
 Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser
 180 185 190
 Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met
 195 200 205
 Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser
 210 215 220
 Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val
 225 230 235 240
 Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser
 245 250 255
 Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu
 260 265 270
 Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met Leu Lys
 275 280

<210> 2

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cynomolgus monkey B7-H4

<400> 2

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile
 1 5 10 15
 Phe Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser
 20 25 30

Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile
 35 40 45

 Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu
 50 55 60
 Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Ile Gly Leu Val
 65 70 75 80
 His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met
 85 90 95
 Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn
 100 105 110

 Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr
 115 120 125
 Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu
 130 135 140
 Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn
 145 150 155 160
 Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln
 165 170 175

 Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser
 180 185 190
 Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met
 195 200 205
 Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser
 210 215 220
 Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val
 225 230 235 240

 Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser
 245 250 255
 Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Leu Ala Ile Ser Trp Ala Leu
 260 265 270
 Leu Pro Leu Ala Pro Tyr Leu Met Leu Lys

Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met

195 200 205

Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser

210 215 220

Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val

225 230 235 240

Thr Asp Ser Glu Val Lys Arg Arg Ser Gln Leu Gln Leu Leu Asn Ser

245 250 255

Gly Pro Ser Pro Cys Val Phe Ser Ser Ala Phe Val Ala Gly Trp Ala

260 265 270

Leu Leu Ser Leu Ser Cys Cys Leu Met Leu Arg

275 280

<210> 4

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Rat B7-H4

<400> 4

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Ile Phe Trp Ser Ile Ile Asn Val Ile

1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Val Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser

20 25 30

Gly Lys His Phe Ile Thr Val Thr Thr Phe Thr Ser Ala Gly Asn Ile

35 40 45

Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu

50 55 60

Asn Gly Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Ile Lys Gly Leu Val

65 70 75 80

His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Asp Leu Ser Gln Gln His Glu Met

85 90 95

Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Val Val Gly Asn

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

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

Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val
 225 230 235 240
 Thr Asp Ser Glu Val Lys Arg Arg Ser Gln Leu Glu Leu Leu Asn Ser
 245 250 255
 Gly Pro Ser Pro Cys Val Ser Ser Val Ser Ala Ala Gly Trp Ala Leu
 260 265 270

Leu Ser Leu Ser Cys Cys Leu Met Leu Arg
 275 280

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR1

<400> 5

Gly Ser Ile Lys Ser Gly Ser Tyr Tyr Trp Gly
 1 5 10

<210> 6

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR2

<400> 6

Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH CDR3

<400> 7

Ala Arg Glu Gly Ser Tyr Pro Asn Gln Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR1

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR2

<400> 9

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL CDR3

<400> 10

Gln Gln Tyr His Ser Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 11

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH Amino Acid

<400> 11

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Lys Ser Gly

20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Glu Gly Ser Tyr Pro Asn Gln Phe Asp Pro Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL Amino Acid

<400> 12

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Phe Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 13

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH FR1

<400> 13

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly
 20 25

<210> 14

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH FR2

<400> 14

Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 1 5 10

<210

> 15

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH FR3

<400> 15

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

1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 20 25 30

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH FR4

<400> 16

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 17

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL FR1

<400> 17

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys

 20

<210> 18

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL FR2

<400> 18

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 19

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL FR3

<400> 19

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL FR4

<400> 20

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 21

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Full-Length Heavy Chain Amino Acid

<400> 21

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Lys Ser Gly
 20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
 450

<210> 22

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Full-Length Light chain Amino Acid

<400> 22

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn

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

<210> 24

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> constant region of a human kappa light chain

<400> 24

cggaccgtgg ctgcaccatc tgtcttcac ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60
 ggaactgcct ctgttgtgtg cctgetgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
 tggagggtgg ataacgcctt ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180
 agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc acctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240
 aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaag 300
 agcttcaaca ggggagagtg t 321

<210> 25

<211> 330

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> human IgG1 heavy chain

<400> 25

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 27
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> the variable heavy chain-encoding nucleotide
 <400> 27

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtcctc 60
 acctgcactg tctctgggtg ctccatcaaa agtggtagtt actactgggg ctggatccgc 120
 cagccccag ggaaggggct ggagtggatt gggaacatct attatagtgg gagcacctac 180
 tacaaccctg ccctcagaag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240
 tcctgaagc tgagtctgt gaccgccga gacacggcgg tgtactactg cgccagagaa 300
 ggatcttacc ccaatcagtt tgatccatgg ggacagggta cattggtcac cgtctcctca 360

<210> 28
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> variable light chain-encoding nucleotide sequence
 <400> 28

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggct tgggacagag tcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
 gaagatttg cagtttatta ctgtcagcag taccactcct tccctttcac ttttggcgga 300

gggaccaagg ttgagatcaa a 321

<210> 29
 <211> 385
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> B7-H4 IgV-huIgG1
 <400> 29

Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile
 1 5 10 15
 Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser
 20 25 30
 Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile
 35 40 45
 Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu
 50 55 60
 Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val
 65 70 75 80
 His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met
 85 90 95
 Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn
 100 105 110
 Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr
 115 120 125
 Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu
 130 135 140
 Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
 145 150 155 160
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 165 170 175
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 180 185 190
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 195 200 205
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 210 215 220
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 225 230 235 240
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 31
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> anti-PD-1 antibody light chain
 <400> 31
 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 Lys Gly Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 32

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VH amino Acid sequence

<400> 32

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45
 Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 33

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VL Amino Acid Sequence

<400> 33

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 Lys Gly Val Ser Thr Ser

20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg

85 90 95
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VH-CDR1

<400> 34

Asn Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 35

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VH-CDR2

<400> 35

Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asn

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VH-CDR3

<400> 36

Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VL-CDR1

<400> 37

Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VL-CDR2

<400> 38

Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser

1 5

<210> 39

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-PD-1 antibody VL-CDR3

<400> 39

Gln His Ser Arg Asp Leu Pro Leu Thr

1 5

<210> 40

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala

65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
 100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
 115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
 145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
 165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
 180 185 190

Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
 195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
 210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro
 225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
 245 250 255

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
 260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
 275 280 285

<210> 41
 <211> 290
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 41

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
 1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
275 280 285

Glu Thr
290