



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0146108  
(43) 공개일자 2024년10월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)  
G01N 33/68 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
C07K 16/2803 (2013.01)  
A61P 35/00 (2018.01)  
(21) 출원번호 10-2024-7032471(분할)  
(22) 출원일자(국제) 2018년05월30일  
심사청구일자 없음  
(62) 원출원 특허 10-2019-7038189  
원출원일자(국제) 2018년05월30일  
심사청구일자 2021년05월28일  
(85) 번역문제출일자 2024년09월27일  
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/035134  
(87) 국제공개번호 WO 2018/222718  
국제공개일자 2018년12월06일  
(30) 우선권주장  
62/512,648 2017년05월30일 미국(US)  
(뒷면에 계속)

(71) 출원인  
브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니  
미국, 뉴저지 08543-4000, 프린스턴, 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드  
(72) 발명자  
노보트니, 제임스 주니어  
미국 08848 뉴저지주 밀포드 헤밍웨이 드라이브 2론버그, 닐스  
미국 94062 캘리포니아주 우드사이드 바넷 로드 168  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
양영준, 이귀동

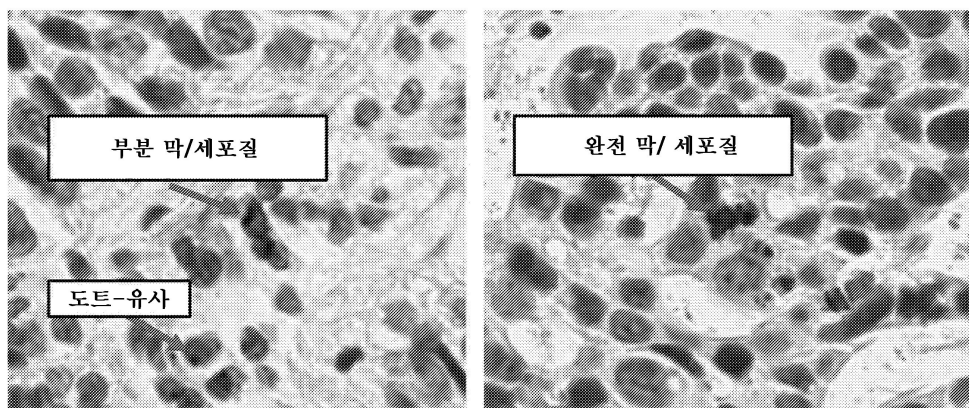
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 LAG-3 양성 종양의 치료

(57) 요약

본 발명은 인간 환자에서 종양을 치료하는 방법을 제공하며, (i) LAG-3 양성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것 및 (ii) 환자에게 PD-1 경로 억제제, PD1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제의 조합, LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제의 조합, 또는 항-CTLA4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 LAG-3 양성 PD-L1 양성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 본 발명의 방법은 PD-1 경로 억제제, PD1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제의 조합, 또는 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제의 조합을 사용한 치료에 대한 반응률을 개선시킬 수 있다.

대표도



(52) CPC특허분류

*C07K 16/2818* (2013.01)  
*G01N 33/5743* (2019.01)  
*G01N 33/57484* (2013.01)  
*G01N 33/6893* (2013.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*A61K 2039/507* (2013.01)  
*C07K 2317/31* (2013.01)  
*G01N 2800/52* (2021.08)  
*G01N 2800/54* (2013.01)

(72) 발명자

**헤드벳, 사이러스**

미국 10075 뉴욕주 뉴욕 이스트 79번 스트리트 501  
 아파트먼트 12비

**클라인즈, 라파엘**

미국 10994 뉴욕주 웨스트 나약 반 호텐 필즈 231

**로크, 다렌**

미국 08505-1714 뉴저지주 보든타운 올리버 스트리트 403

**콕즈웰, 존 피.**

미국 19067 펜실베이니아주 야들리 에버그린 로드 1206

**잭슨, 제프리**

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로  
 빈스 라인 로드

**하비슨, 크리스토퍼**

미국 08619 뉴저지주 해밀턴 타이거스 코트 12

**에드워즈, 로빈**

미국 08543 뉴저지주 프린스턴 루트 206 앤드 프로  
 빈스 라인 로드

(30) 우선권주장

62/513,813	2017년06월01일	미국(US)
62/555,176	2017년09월07일	미국(US)
62/582,178	2017년11월06일	미국(US)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

악성 종양의 치료 용도.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2017년 5월 30일에 출원된 미국 가출원 번호 62/512,648; 2017년 6월 1일에 출원된 62/513,813; 2017년 9월 7일에 출원된 62/555,176; 및 2017년 11월 6일에 출원된 62/582,178을 우선권 주장하며, 이들은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본원에 개시된 발명은 PD-1 경로 억제제, PD1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제의 조합, LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제의 조합, 또는 항-CTLA-4 항체를 사용하여 인간 환자에서 LAG-3 양성 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0005] 림프구 활성화 유전자-3 (LAG-3; CD223)은 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포 및 하위세트의 NK 및 수지상 세포의 세포 표면 상에서 발현되는 제I형 막횡단 단백질이다 (Triebel F, et al., J. Exp. Med. 1990; 171:1393-1405; Workman C J, et al., J. Immunol. 2009; 182(4):1885-91). LAG-3은 T 헬퍼 세포 활성화를 위한 보조-수용체인 CD4와 밀접하게 관련된다. 두 분자는 4개의 세포외 Ig-유사 도메인을 갖고, 그의 기능적 활성을 위해 그의 리간드인 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 부류 II에 대한 결합을 필요로 한다. CD4와 대조적으로, LAG-3은 단지 활성화된 T 세포의 세포 표면 상에서만 발현되고, 세포 표면으로부터의 그의 절단은 LAG-3 신호전달을 종결시킨다. LAG-3은 또한 가용성 단백질로서 발견될 수 있지만 그것은 MHC 부류 II에 결합하지 않으며 가용성 LAG-3의 기능은 알려져 있지 않다.

[0006] LAG-3은 조절 T 세포 (Treg) 활성을 촉진시키고 T 세포 활성화 및 증식을 음성 조절하는 데 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다 (Workman C J, et al., J. Immunol. 2005; 174:688-695). 천연 및 유도 Treg 둘 다는 그의 최대 억제 기능을 위해 요구되는 증가된 LAG-3을 발현한다 (Camisaschi C, et al., J. Immunol. 2010; 184:6545-6551 및 Huang C T, et al., Immunity. 2004; 21:503-513). 게다가, CD4+ 이펙터 T 세포 상에서의 LAG-3의 이소성 발현은 그의 증식 능력을 감소시키고, 그에게 제3자 T 세포에 대한 조절 잠재력을 부여하였다 (Huang C T, et al., Immunity. 2004; 21:503-513). 최근 연구는 또한 소진된 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV)-특이적 CD8+ T 세포 상에서의 높은 LAG-3 발현이 그의 미반응성 상태의 원인이 되고, CD8+ T 세포 항종양 반응을 제한한다는 것을 밝혀냈다 (Blackburn S D, et al., Nat. Immunol. 2009; 10:29-37 및 Grosso J F, et al., J. Clin. Invest. 2007; 117:3383-3392). 실제로, LAG-3은 2개의 무린 모델에서 CD8+ T 세포에 대한 직접적인 효과를 통해 자기 및 종양 항원에 대한 반응을 유지하였다 (Grosso J F, et al., J. Clin. Invest. 2007; 117:3383-3392).

[0007] 그러나, 종양 발생 및 종양 재발 환경에서 관찰된 면역 관용은 오로지 LAG-3으로부터가 아니라 다양한 T 세포 음성 조절 수용체의 공동-발현에 의해 매개되는 것으로 보인다. 만성 바이러스 감염 모델 (Blackburn S D, et al., Nat. Immunol. 2009; 10:29-37, Grosso J F, et al., J. Clin. Invest. 2007; 117:3383-3392, 및 Lyford-Pike S, et al., Cancer Res. 2013; 73(6):1733-41), 녹-아웃 마우스 (Woo S R, et al., Cancer Res. 2012; 72:917-927; Okazaki T, et al., J. Exp Med. 2011; 208:395-407, 및 Bettini M. et al., J. Immunol. 2011; 187:3493-3498), 종양 재발 모델 (Goding S R, et al., J. Immunol. 2013; 190(9):4899-4909) 및, 보다 제한된 정도로, 인간 암 환자 (Goding S R, et al., J. Immunol. 2013; 190(9):4899-4909, Matsuzaki J, et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 2010; 107:7875-7880, 및 Gandhi M K, et al., Blood. 2006; 108:2280-

2289)로부터의 데이터는 항원에 연속적으로 노출된 T 세포가 "소진"으로 지칭되는 과정을 통해 점진적으로 불활성화되는 모델을 지지한다. 소진된 T 세포는, 세포의 증식, 시토카인 생산, 및 표적 세포 사멸 능력을 제한하고/거나 Treg 활성을 증가시키는 작용을 하는 T 세포 음성 조절 수용체, 우세하게는 세포독성 T-림프구 항원-4 (CTLA-4), 프로그램화된 세포 사멸 1 (PD-1), 및 LAG-3의 발현을 특징으로 한다. 그러나, 종양의 발생 및 재발에 있어서 이들 분자의 발현의 시기 및 순서는 완전히 특징화되지 않았다.

[0008] PD-1은 T 세포 활성화 및 관용의 조절에 있어서 결정적인 역할을 하는 세포 표면 신호전달 수용체이다 (Keir M E, et al., Annu Rev Immunol 2008; 26:677-704). 이는 제I형 막횡단 단백질이고, BTLA, CTLA-4, ICOS 및 CD28과 함께 T 세포 공동-자극 수용체의 CD28 패밀리를 구성한다. PD-1은 활성화된 T 세포, B 세포 및 골수 세포에서 주로 발현된다 (Dong H, et al., Nat Med. 1999; 5:1365-1369). 이는 자연 킬러 (NK) 세포 상에서도 또한 발현된다 (Terme M, et al., Cancer Res 2011; 71:5393-5399). PD-1이 그의 리간드인 PD-L1 및 PD-L2에 결합하여 근위 세포내 면역 수용체 티로신 억제 도메인 내의 티로신 잔기의 인산화를 발생시키고, 이어서 포스파타제 SHP-2가 동원되어, 결국 T 세포 활성화의 하향-조절을 발생시킨다. PD-1의 하나의 중요한 역할은 감염에 대한 염증 반응시에 말초 조직 내의 T 세포의 활성을 제한하고, 따라서 자가면역의 발생을 제한하는 것이다 (Pardoll D M., Nat Rev Cancer 2012; 12:252-264). 이 음성 조절 역할의 증거는 PD-1-결핍 마우스에서 심근 병증과 함께 관절염 및 신염을 포함한 루푸스-유사 자가면역 질환이 발생한다는 발견으로부터 나온다 (Nishimura H, et al., Immunity, 1999; 11:141-151; 및 Nishimura H, et al., Science, 2001; 291:319-322). 종양 환경에서, 그 결과는 종양 미세환경 내에서의 면역 내성의 발생이다. PD-1은 종양-침윤 림프구 상에서 고도로 발현되고, 그의 리간드는 많은 상이한 종양의 세포 표면 상에서 상향-조절된다 (Dong H, et al., Nat Med 2002; 8:793-800). 다중 무인 암 모델은 PD-1에 대한 리간드의 결합이 면역 회피를 발생시킨다는 것을 입증하였다. 또한, 이러한 상호작용의 차단은 항종양 활성을 발생시킨다 (Topalian S L, et al. NEJM 2012; 366(26):2443-2454; Hamid O, et al., NEJM 2013; 369:134-144). 더욱이, PD-1/PD-L1 상호작용의 억제는 전임상 모델에서 강력한 항종양 활성을 매개하는 것으로 밝혀졌다 (미국 특허 번호 8,008,449 및 7,943,743).

[0009] 최근에, 여러 면역 체크포인트 경로 억제제는, 진행성 흑색종을 갖는 환자의 치료를 위해 세포독성 T-림프구 항원-4 (CTLA-4)에 결합하고 이를 억제하는 항체 (Ab)인 이필리무맙 (예르보이(YERVOY)®)의 개발, 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체에 특이적으로 결합하고 억제 PD-1/PD-1 리간드 경로를 차단하는 항체, 예컨대 니볼루맙 및 펌브롤리주맙 (이전에 램브롤리주맙; USAN Council Statement, (2013) Pembrolizumab: Statement on a nonproprietary name adopted by the USAN Council (ZZ-165), November 27, 2013)의 개발, 및 LAG-3에 특이적으로 결합하고 면역 반응을 자극할 수 있는 항체 BMS-986016 (미국 특허 번호 9,505,839에 기재된 바와 같음)의 개발을 포함한, 암을 치료하기 위한 새로운 면역요법 접근법을 제공하기 시작하였다.

[0010] 개인맞춤형 의학 출현 분야의 유망성은, 효능을 증진시키고 유해 효과를 최소화하기 위해 정의된 하위집단, 및 궁극적으로는 개별 환자에 대해 치료제를 맞춤하기 위해 약리유전체학의 사용이 증가할 것이라는 점이다. 최근의 성공은, 예를 들어 필라델피아 염색체-양성 만성 골수성 백혈병 (CML)을 치료하기 위해, bcr-abl 티로신 키나제를 억제하는 단백질 티로신 키나제 억제제인 이마티닙 메실레이트 (글리벡(GLEEVEC)®); 돌연변이체 역형성 림프종 키나제 (ALK) 유전자를 발현하는 말기 비소세포 폐암을 갖는 환자의 5%를 치료하기 위한 크리조티닙 (잘코리(XALKORI)®); 및 흑색종 종양의 대략 절반에서 발현되는 돌연변이된 B-Raf 단백질 (V600E- BRAF)의 억제제인 베무라페닙 (젤보라프(ZELBORAF)®)의 개발을 포함한다. 그러나, 선택 암 집단에서 발견되는 별개의 활성화 돌연변이를 표적화하는 소분자 작용제의 임상 개발과는 달리, 암 면역요법에서의 특정한 과제는 환자 선택을 가능하게 하고 치료 중 관리를 안내하는 예측 바이오마커를 확인하는 것이었다. 따라서, 본 발명의 목적은 종양을 치료하는 개선된 방법을 제공하는 것이다.

## 발명의 내용

[0011] 본원에 개시된 발명의 한 측면은 인간 환자에서 PD-1 경로 억제제, LAG-3 억제제, PD1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제의 조합, 또는 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제의 조합으로 치료하기 위한 악성 종양을 선택하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양에서의 LAG-3 발현을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양에서의 LAG-3 발현 및 PD-L1 발현을 검출하는 것을 포함한다. 또한 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 인간 환자에서 LAG-3 양성 종양을 치료하는 방법이 본원에 개시된다.

[0012] 본원에 개시된 발명의 한 측면은 인간 환자에서 면역요법을 위한 악성 종양을 선택하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 면역요법을 위한 종양을 선



택하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 면역요법에 적절한 악성 종양을 확인하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 종양을 면역요법에 적절한 것으로 확인하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 면역요법에 반응성일 가능성이 있는 악성 종양을 확인하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 종양을 치료에 반응성일 가능성이 있는 것으로 확인하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 면역요법에 반응성일 가능성이 있는 악성 종양을 분류하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 종양을 면역요법에 반응성일 가능성이 있는 것으로 분류하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 종양 샘플에서 PD-L1 발현의 수준을 결정하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다.

[0013] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 면역요법에 반응성일 가능성이 있는 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 치료에 반응할 가능성이 있는 환자를 확인하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 면역요법을 위한 악성 종양을 갖는 환자를 선택하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 면역요법을 위한 환자를 선택하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 종양 샘플에서 PD-L1 발현의 수준을 결정하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다.

[0014] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 환자의 종양의 샘플에서의 LAG-3 발현에 기초하여 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 사용한 치료에 반응할 것으로 예측된다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 환자의 종양의 샘플에서의 LAG-3 발현에 기초하여 LAG-3 억제제를 사용한 치료에 반응할 것으로 예측된다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 환자의 종양의 샘플에서의 LAG-3 발현에 기초하여 PD-1 경로 억제제를 사용한 치료에 반응할 것으로 예측된다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 환자의 종양의 샘플에서의 LAG-3 발현에 기초하여 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 사용한 치료에 반응할 것으로 예측된다. 일부 실시양태에서, 환자는 환자의 종양의 샘플에서의 LAG-3 및 PD-L1 발현에 기초하여 치료에 반응할 것으로 예측된다.

[0015] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다

른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 종양 샘플에서 PD-L1 발현의 수준을 결정하는 것을 추가로 포함한다.

[0016] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다.

[0017] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다.

[0018] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 무진행 생존 기간을 12개월 초과로 연장시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 환자는 12개월 초과 무진행 생존을 입증한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 무진행 생존 기간을 12개월 초과로 연장시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 환자는 12개월 초과 무진행 생존을 입증한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 무진행 생존 기간을 12개월 초과로 연장시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 환자는 12개월 초과 무진행 생존을 입증한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 무진행 생존 기간을 12개월 초과로 연장시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 환자는 12개월 초과 무진행 생존을 입증한다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 환자의 무진행 생존은 투여 후에 약 13개월, 약 14개월, 약 15개월, 약 16개월, 약 17개월, 약 18개월, 약 2년, 약 3년, 약 4년, 약 5년, 약 6년, 약 7년, 약 8년, 약 9년 또는 약 10년 초과

로 연장된다. 특정 실시양태에서, 환자의 무진행 생존은 14개월 초과로 연장된다.

[0019]

본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 종양 크기를 적어도 10%만큼 감소시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 투여는 종양 크기를 투여 전의 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 또는 100% 감소시킨다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 종양 크기를 적어도 10%만큼 감소시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 투여는 종양 크기를 투여 전의 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 또는 100% 감소시킨다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 종양 크기를 적어도 10%만큼 감소시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 투여는 종양 크기를 투여 전의 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 또는 100% 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 환자는 (i) 12개월 초과로 연장된 무진행 생존, (ii) 투여 전의 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50%의 종양 크기 감소, 또는 (iii) 둘 다를 경험한다.

[0020]

본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 객관적 반응률을 50% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 객관적 반응률을 50% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 객관적 반응률을 50% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 일부 실시양태에서, 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다.

[0021]

본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 질환 제어율을 50% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 질환 제어율을 50% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75%



초과이다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 질환 제어율을 50% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 질환 제어율을 50% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 일부 실시양태에서, 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 중앙 반응 지속기간은  $\geq 3$ 개월,  $\geq 6$ 개월,  $\geq 12$ 개월 또는  $\geq 18$ 개월이다.

[0022] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자 집단의 각각의 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자 집단의 각각의 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 환자 집단의 각각의 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 환자 집단의 각각의 환자는 (i) 12개월 초과로 연장된 무진행 생존, (ii) 투여 전의 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50%의 종양 크기 감소, 또는 (iii) 둘 다를 추가로 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 환자 집단은 적어도 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000명의 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 포함한다.

[0023] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 조합 요법에 적합한 인간 환자를 선택하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 건강관리 제공자가 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하도록 지시하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 조합 요법에 적합한 인간 환자를 선택하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 건강관리 제공자가 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하도록 지시하는 것을 포함한다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 조합 요법에 적합한 인간 환자를 선택하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 건강관리 제공자가 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하도록 지시하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 투여는 악성 종양을 치료한다.

[0024] 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것은 악성 종양에서의 LAG-3 발현을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것은 악성 종양에서의 PD-L1 발현을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것은 악성 종양에서의 PD-L1 발현을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현은 LAG-3 발현을 결정할 수 있는 검정의 결과를 검토함으로써 결정된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현은 LAG-3 발현을 검출할 수 있는 면역조직화학 검정의 결과를 검토함으로써 결정된다. 일부 실시양태에서, PD-L1 발현은 PD-L1 발현을 결정할 수 있는 검정의 결과를 검토함으로써 결정된다. 일부 실시양태에서, PD-L1 발현은 PD-L1 발현을 검출할 수 있는 면역조직화학 검정의 결과를 검토함으로써 결정된다.

[0025] 특정 실시양태에서, LAG-3 양성 종양은 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 7%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 100%의 LAG-3 발현 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, LAG-3 양성 종양은 적어도 약 1%의 LAG-3 발현 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, LAG-3 양성 종양은 적어도 약 5%의 LAG-3 발현 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현 세포는 종양 침윤 림프구를 포함한다. 특정 실시양태에서, LAG-3 발현 세포는 세포의 총수이다. 다른 실시양태에서, 세포는 세포 표면 상에 LAG-3을 발현한다.

[0026] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 간암, 골암, 췌장암, 피부암, 구강암, 두경부암, 유방암, 소세포 및 비소세포 폐암을 포함한 폐암, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 신암, 자궁암, 난소암, 결장직장암, 결장암, 직장암, 항문부



암, 위암, 고환암, 자궁암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 비-호지킨 림프종, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 음경암, 소아기 암, 림프구성 림프종, 방광암, 신장암 또는 요관암, 신우 암종, 중추 신경계 (CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 중앙 혈관신생, 척수축 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피양암, 편평 세포암, 석면에 의해 유발된 것을 포함한 환경적으로 유발된 암, 혈액 악성종양, 예컨대 예를 들어, 다발성 골수종, B-세포 림프종, 호지킨 림프종/원발성 종격 B-세포 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 림프종, 만성 골수 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 여포성 림프종, 미만성 대 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 면역모세포성 대세포 림프종, 전구체 B-림프모구성 림프종, 외투 세포 림프종, 급성 림프모구성 백혈병, 균상 식육종, 역형성 대세포 림프종, T-세포 림프종 및 전구체 T-림프모구성 림프종, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0027] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 흑색종, 비소세포 폐암 (NSCLC), 인간 유두종 바이러스 (HPV)-관련 종양, 및 위 선암종으로부터 선택된다.
- [0028] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 NSCLC, 바이러스-관련 암 관련 종양, 또는 위 선암종이다.
- [0029] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 흑색종, 위암, 위식도 접합부 암, 비소세포 폐암, 방광암, 두경부 편평 세포암종 또는 신세포암이다.
- [0030] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 폐암, 흑색종, 두경부 편평 세포암종, 신암, 위암 또는 간세포암종이다.
- [0031] 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 약 1% 이상의 LAG-3 발현 세포를 포함하는 흑색종 종양이다.
- [0032] 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 약 1% 이상의 LAG-3 발현 세포를 포함하는 위암 종양이다.
- [0033] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 면역 체크포인트 억제제를 사용한 치료에 불응성이다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 항-PD-1 항체를 사용한 치료에 불응성이다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 항-PD-L1 항체를 사용한 치료에 불응성이다.
- [0034] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 인간 환자에서 흑색종을 치료하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 양성 흑색종을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 흑색종을 갖는 환자를 확인하는 것은 흑색종 종양에서의 LAG-3 발현을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현은 LAG-3 발현을 결정할 수 있는 검정의 결과를 검토함으로써 결정된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현은 LAG-3 발현을 검출할 수 있는 면역조직화학 검정에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다.
- [0035] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 흑색종의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 흑색종을 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 흑색종을 갖는 것으로 확인된다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 흑색종을 앓고 있는 인간 환자에서 무진행 생존을 12개월 초과로 연장시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 흑색종을 갖는 것으로 확인되고 여기서 환자는 12개월 초과로 무진행 생존을 입증한다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 흑색종을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 흑색종을 갖는 것으로 확인된다.
- [0036] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 흑색종을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 객관적 반응률을 15% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인하고 여기서 객관적 반응률은 15% 초과이다. 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 각각이 흑색종을 앓고 있는 인간 환자 집단에서 암 치료에 대한 질환 제어율을 70% 초과로 증가시키는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 흑색종을 갖는 것으로 확인하고 여기서 객관적 반응률은 70% 초과이다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 흑색종을 갖는 환자 집단의 각각의 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 중앙 반응 지속기간은  $\geq 3$ 개월,  $\geq 6$ 개월,  $\geq 12$ 개월 또는  $\geq 18$ 개월이다. 일부 실시양태에서, 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 양성 흑색종을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 각각의

환자는 투여 전에 LAG-3 양성 PD-L1 음성 흑색종을 갖는 것으로 확인된다.

- [0037] 일부 실시양태에서, 흑색종은 면역 체크포인트 억제제를 사용한 치료에 불응성이다. 일부 실시양태에서, 흑색종은 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료에 불응성이다.
- [0038] 일부 실시양태에서, LAG-3 및/또는 PD-L1 발현의 수준을 결정하는 것은 환자로부터 수득된 시험 조직 샘플을 제공하는 것을 포함하며, 시험 조직 샘플은 종양 세포 및/또는 종양-침윤 면역 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 종양 생검이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 포르말린-고정 파라핀 포매 (FFPE) 샘플이다.
- [0039] 일부 실시양태에서, 결정하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3 및/또는 PD-L1 단백질 또는 RNA 발현을 검출하는 것을 포함한다.
- [0040] 일부 실시양태에서, LAG-3 및/또는 PD-L1 발현은 시험 조직 샘플에서 각각 LAG-3 및/또는 PD-L1 단백질의 수준을 검출할 수 있는 검정에 의해 검출된다.
- [0041] 일부 실시양태에서, LAG-3 및/또는 PD-L1 발현은 면역조직화학 검정에 의해 검출된다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 모노플렉스 검정 (단일 분석물, 예를 들어, 항원/항체 쌍의 존재를 검출/측정하도록 설계된 검정)이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 멀티플렉스 검정 (다중 분석물을 동시에 또는 순차적으로 검출/측정하도록 설계된 검정)이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 샘플을 17B4, SP346, 11E3, 874501 또는 EPR4392(2) 항-인간 LAG-3 모노클로날 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 샘플을 각각 서열식별번호(SEQ ID NO): 3 및 5에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-LAG-3 항체와 접촉시키는 것을 포함한다.
- [0042] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 흑색 또는 갈색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 적색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 청색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 녹색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 자주색 발색원을 사용한다. 특정 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 황색 발색원을 사용한다.
- [0043] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 낮은 배율 (예를 들어, 4X 또는 10X)로 점수화된다. 일부 실시양태에서, 낮은 배율은 약 20X이다.
- [0044] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 높은 배율에 점수화된다. 일부 실시양태에서, 높은 배율은 약 40X 또는 그 초과 (60X, 100X)이다.
- [0045] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 영상 분석 소프트웨어에 의해 점수화된다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 병리학자에 의해 수동으로 점수화된다.
- [0046] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것 및/또는 시험 조직 샘플에서 PD-L1을 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 종양 세포의 비율을 평가하는 것 및/또는 시험 조직 샘플에서 PD-L1을 발현하는 종양 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 면역 세포의 비율을 평가하는 것 및/또는 시험 조직 샘플에서 PD-L1을 발현하는 면역 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 T 세포의 비율을 평가하는 것 및/또는 시험 조직 샘플에서 PD-L1을 발현하는 T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD8+ T 세포의 비율을 평가하는 것 및/또는 시험 조직 샘플에서 PD-L1을 발현하는 CD8+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD4+ T 세포의 비율을 평가하는 것 및/또는 시험 조직 샘플에서 PD-L1을 발현하는 CD4+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 FOXP3+ T 세포의 비율을 평가하는 것 및/또는 시험 조직 샘플에서 PD-L1을 발현하는 FOXP3+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.
- [0047] 일부 실시양태에서, 부분 막/세포질 LAG-3 국재화를 갖는 세포는 LAG-3 발현 세포로서 점수화된다. 일부 실시양태에서, 도트-유사 LAG-3 국재화를 갖는 세포는 LAG-3 발현 세포로서 점수화된다. 일부 실시양태에서, 완전 막/세포질 LAG-3 국재화를 갖는 세포는 LAG-3 발현 세포로서 점수화된다. 일부 실시양태에서, 임의의 LAG-3 국

재화 패턴을 갖는 세포는 LAG-3 발현 세포로서 점수화된다.

- [0048] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 세포에 의해 MHC 부류 II의 발현을 검출하는 것을 추가로 포함하는 멀티플렉스 검정이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 MHC 부류 II를 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 MHC II를 발현하는 비-면역 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.
- [0049] 일부 실시양태에서, LAG-3 및/또는 PD-L1 단백질 발현은 유동 세포측정법에 의해 검출된다. 일부 실시양태에서, 환자로부터 수득된 시험 조직 샘플은 종양 침윤 면역 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 혈액 악성종양이고 조직 샘플은 순환 림프구를 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법은 멀티플렉스 검정이다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법은 LAG-3, PD-L1, CD4, CD8, FOXP3, MHC 부류 II 및 그의 임의의 조합을 포함하는 마커의 발현을 검출하는 것을 포함한다.
- [0050] 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD8+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD4+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 FOXP3+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.
- [0051] 일부 실시양태에서, LAG-3 및/또는 PD-L1 발현은 종양 샘플에서 각각 LAG-3 및/또는 PD-L1 RNA의 수준을 검출할 수 있는 검정에 의해 검출된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 및/또는 PD-L1 발현은 RT-PCR 기반 검정에 의해 검출된다. 일부 실시양태에서, RT-PCR 기반 검정을 점수화하는 것은 미리 결정된 수준에 비해 시험 조직 샘플에서 LAG-3 및/또는 PD-L1 RNA 발현의 수준을 평가하는 것을 포함한다.
- [0052] 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 이중특이적 항체이다.
- [0053] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 (a) 서열식별번호: 7에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (b) 서열식별번호: 8에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (c) 서열식별번호: 9에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (d) 서열식별번호: 10에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (e) 서열식별번호: 11에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (f) 서열식별번호: 12에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.
- [0054] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 3 및 5에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0055] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 MK-4280 (28G-10), REGN3767, GSK2837781, IMP731 (H5L7BW), BAP050, IMP-701 (LAG-525), IMP321, FS-118, Sym022, TSR-033, MGD013, FS118 또는 GSK2831781이다.
- [0056] 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 (a) 서열식별번호: 23에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR1; (b) 서열식별번호: 24에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR2; (c) 서열식별번호: 25에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 CDR3; (d) 서열식별번호: 26에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR1; (e) 서열식별번호: 27에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR2; 및 (f) 서열식별번호: 28에 제시된 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 CDR3을 포함한다.
- [0057] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 19 및 21에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0058] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각 서열식별번호: 17 및 18에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0059] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 펩트올리주맵 (키트루다(KEYTRUDA); MK-3475), 피달리주맵 (CT-011) 또는 니볼루맵 (옵디보(OPDIVO); BMS-936558)이다.
- [0060] 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵 (테센트릭 또는 RG7446), 두르발루맵 (임핀지(Imfinzi) 또는 MEDI4736), 아벨루맵

(바벤시오(Bavencio)) 또는 BMS-936559이다.

- [0061] 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 항-PD-L2 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다.
- [0062] 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제, CD80 길항제, CD86 길항제, Tim-3 길항제, TIGIT 길항제, CD20 길항제, CD96 길항제, IDO1 길항제, STING 길항제, GARP 길항제, CD40 길항제, A2aR 길항제, CEACAM1 (CD66a) 길항제, CEA 길항제, CD47 길항제 PVRIG 길항제, TDO 길항제, VISTA 길항제 또는 KIR 길항제이다.
- [0063] 일부 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 4회 용량의 항-LAG-3 항체가 3, 20, 80, 160, 또는 240 mg의 용량으로 투여된다.
- [0064] 일부 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 4회 용량의 항-PD-1 항체가 80 또는 240 mg의 용량으로 투여된다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 4회 용량의 항-PD-L1 항체가 3, 20, 80, 160, 또는 240 mg의 용량으로 투여된다.
- [0066] 일부 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 4회 용량의 항-LAG-3 항체가 3, 20, 80, 160, 또는 240 mg의 용량으로 투여되고 4회 용량의 항-PD-1 항체가 80 또는 240 mg의 용량으로 투여된다.
- [0067] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 하기 용량: (a) 3 mg의 항-LAG-3 항체 및 80 mg의 항-PD-1 항체; (b) 3 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체; (c) 20 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체; (d) 80 mg의 항-LAG-3 항체 및 160 mg의 항-PD-1 항체; (e) 80 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체; (f) 160 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체, 또는 (g) 240 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체로 투여된다.
- [0068] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 80 mg의 항-LAG-3 항체 및 160 mg의 항-PD-1 항체의 용량으로 투여된다.
- [0069] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 80 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체의 용량으로 투여된다.
- [0070] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 160 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체의 용량으로 투여된다.
- [0071] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 및 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 정맥내 투여를 위해 제제화된다.
- [0072] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 및 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 함께 제제화된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 및 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 개별적으로 제제화된다.
- [0073] 일부 실시양태에서, 치료는 최대 12 주기로 이루어진다.
- [0074] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각의 주기의 제1일, 제15일, 제29일 및 제43일에 투여된다.
- [0075] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 각각의 주기의 제1일, 제15일, 제29일 및 제43일에 투여된다.
- [0076] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 투여 전에 투여된다. 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 투여 전 약 30분 내에 투여된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 투여 후에 투여된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 투여 이전에 투여된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편과 동시에 투여된다.
- [0077] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 PD-1 경로 억제제는 1차 치료로서 투여된다. 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 PD-1 경로 억제제는 2차 치료로서 투여된다.
- [0078] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법은 적어도 1종의 추가의 치료제의 투여를 추가로 포함한다. 일부 실시



양태에서, 적어도 1종의 추가의 치료제는 화학요법제이다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 추가의 치료제는 면역 체크포인트 억제제이다.

- [0079] 일부 실시양태에서, 방법은 종양 크기의 감소, 시간 경과에 따른 전이성 병변 수의 감소, 완전 반응, 부분 반응 및 안정한 질환으로부터 선택되는 적어도 1종의 치료 효과를 생성한다.
- [0080] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것은 환자의 T 세포를 활성화시킨다. 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것은 환자의 T 세포에 의한 활성화 마커의 발현을 유도한다.
- [0081] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 투여하는 것은 환자의 T 세포 상에 LAG-3 수용체의 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%의 점유율을 생성한다. 일부 실시양태에서, T 세포는 CD8+ T 세포이다. 일부 실시양태에서, T 세포는 종양 침윤 T 세포이다.
- [0082] 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다.
- [0083] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 약 0.1 내지 약 10 mg/kg 체중 범위 투여량의 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편; 약 0.1 내지 약 10 mg/kg 체중 범위 투여량의 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편; 및 본원에 개시된 방법 중 임의의 것에서 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트에 관한 것이다.
- [0084] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 약 0.1 내지 약 10 mg/kg 체중 범위 투여량의 항-PD1 항체 또는 그의 항원 결합 단편; 투여량의 면역 체크포인트 억제제; 및 본원에 개시된 방법 중 임의의 것에서 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 면역 체크포인트 억제제를 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트에 관한 것이다.
- [0085] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 약 0.1 내지 약 10 mg/kg 체중 범위 투여량의 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편; 및 본원에 개시된 방법 중 임의의 것에서 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트에 관한 것이다.
- [0086] 본원에 개시된 발명의 또 다른 측면은 0.1 내지 10 mg/kg 체중 범위 투여량의 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편; 및 본원에 개시된 방법 중 임의의 것에서 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 사용하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트에 관한 것이다.
- [0087] 본 발명의 측면은 PD-1 길항제를 사용한 치료에 불응성인 환자를 확인하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것을 포함하고, 여기서 PD-1 길항제를 사용한 치료 전의 LAG-3 발현의 수준에 비해, PD-1 길항제를 사용한 치료 후의 LAG-3 발현의 증가된 수준은 환자가 PD-1 길항제 요법에 불응성이라는 것을 나타낸다. 본 발명의 또 다른 측면은 PD-1 길항제를 사용한 치료에 불응성이 될 위험이 있는 환자를 확인하는 방법에 관한 것이며, LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것을 포함하고, 여기서 PD-1 길항제를 사용한 치료 전의 LAG-3 발현의 수준에 비해, PD-1 길항제를 사용한 치료 후의 LAG-3 발현의 증가된 수준은 환자가 PD-1 길항제 요법에 불응성이 될 위험이 있다는 것을 나타낸다. 본 발명의 일부 측면은 LAG-3 요법에 반응할 가능성이 있는 환자를 확인하는 방법에 관한 것이며, 환자에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것을 포함하고, 여기서 PD-1 길항제를 사용한 치료 전의 LAG-3 발현의 수준에 비해, PD-1 길항제를 사용한 치료 후의 LAG-3 발현의 증가된 수준은 환자가 LAG-3 요법에 반응할 가능성이 있다는 것을 나타낸다. 본 발명의 특정 측면은 LAG-3 요법을 사용한 치료를 위한 환자를 선택하는 방법에 관한 것이며, 환자에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것을 포함하고, 여기서 PD-1 길항제를 사용한 치료 전의 LAG-3 발현의 수준에 비해, PD-1 길항제를 사용한 치료 후의 LAG-3 발현의 증가된 수준은 환자가 LAG-3 요법에 반응할 가능성이 있다는 것을 나타낸다. 한 실시양태에서, PD-1 길항제는 PD-1 억제제이다. 특정 실시양태에서, PD-1 길항제는 PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 요법은 LAG-3 억제제이다. 특정한 실시양태에서, LAG-3 요법은 항-LAG-3 항체이다. 한 실시양태에서, LAG-3 요법은 조합 요법이다. 한 실시양태에서, LAG-3 조합 요법은 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체의 조합이다.

### 도면의 간단한 설명

- [0088] 도 1. 모노플렉스 LAG-3 면역조직화학 (IHC) 샘플에서 관찰된 염색 패턴.
- 도 2. 모노플렉스 LAG-3 IHC에 의해 분석된 샘플 중 총 종양 세포의 비로써의 LAG-3+ 세포의 빈도 분포.

- 도 3a-b. (도 3a) 연구 설계 및 중점. (도 3b) 흑색종 선행 IO 확장 코호트 내의 환자에 대한 주요 적격성 기준.
- 도 4. 기준선 인구통계 및 질환 특징.
- 도 5. 선행 요법.
- 도 6. 제1 40개의 IO 유경험 흑색종의 LAG-3 발현 상태.
- 도 7. 선행 항-PD1/PD-L1 요법 상에서 진행된 흑색종을 갖는 환자의 조사자 평가에 의한 반응.
- 도 8. LAG-3 발현은 반응에 대해 풍부화된다.
- 도 9. LAG-3 발현에 의한 반응의 깊이 및 지속기간.
- 도 10. 무진행 생존의 지속시간.
- 도 11. 기준선 특징에 의한 반응 (조사자 평가됨).
- 도 12. 위 종양 샘플의 LAG-3 발현 상태. 샘플의 48% (10/21)를 모노플렉스 IHC 검정에서 1% 컷오프를 사용하여 LAG-3 양성으로서 점수링하였다.
- 도 13. 항-LAG-3 및 항-PD-1 항체의 조합을 사용한 치료에 반응한 위암 환자에서의 표적 병변 크기의 변화. LAG-3 양성 종양은 치료에 반응성인 환자 중에서 풍부화되었다. 종양 반응은 RECIST에 따라 결정되었다. 본 연구에서의 환자는 이전에 항-PD-1/PD-L1 치료에 노출되지 않았다.
- 도 14. 모노플렉스 IHC 검정에 의해 결정시 편평 세포 두경부암 (SCCHN), 신 암종, 간세포성 암종 (HCC), 및 NSCLC 종양 샘플의 LAG-3 발현 상태.
- 도 15a 및 b. 도 15a. 색소성 흑색종 절편. 표백 하에 또는 표백 없이 핵을 헤마톡실린으로 대조염색하였다. 도 15b. 선행 표백 하에 또는 선행 표백 없이 색소성 흑색종 LAG-3 IHC. 핵을 헤마톡실린으로 대조염색하였다.
- 도 16. 업데이트된 연구 설계 및 중점.
- 도 17. 업데이트된 기준선 인구통계 및 질환 특징.
- 도 18. 업데이트된 선행 요법.
- 도 19. BMS-986016 및 니볼루맙 조합 요법의 업데이트된 항종양 활성.
- 도 20. 기준선 특징 및 LAG-3 발현에 의한 업데이트된 반응.
- 도 21. LAG-3 및 PD-L1 발현에 의한 업데이트된 표적 병변 크기의 최상 변화.
- 도 22. LAG-3 및 PD-L1 발현에 의한 업데이트된 반응의 깊이 및 지속기간.
- 도 23. 업데이트된 진행중 임상 추적.
- 도 24. T-세포 소진에서 LAG-3 및 PD-1의 역할 및 니볼루맙과 조합된 것의 제안된 임상 유용성.
- 도 25. 흑색종 종양 시편에서의 총 유핵 세포의 IHC 염색에 의한 LAG-3 발현 패턴.
- 도 26A-F. LAG-3과 면역 및 염증 바이오마커의 회합: (A) LAG-3 vs CD8, (B) LAG-3 vs FOXP3, (C) LAG-3 vs CD163, (D) LAG-3 vs CD68, (E) LAG-3 vs PD-L1, (F) LAG-3 vs MHC II.
- 도 27. <1% 또는  $\leq 1\%$  MHC II 양성 종양 세포를 포함하는 종양에서의 LAG-3 양성 종양 침윤 림프구 (TIL)의 비.
- 도 28A-C. (A) 요로상피암, (B) NSCLC, 및 (C) 모든 종양 유형에서의 염증 클러스터와 바이오마커 발현 사이의 관계.
- 도 29A-C. 이중 MHC II 종양 세포 발현 및 LAG-3 + TIL. (A) 요로상피 암종에서 MHC II 고 및 MHC II 저 종양 세포 영역에서의 LAG-3 + TIL 수. (B-C) 요로상피 및 위 암종 샘플에서 MHC II 고 및 MHC II 저 종양 세포 영역에서의 LAG-3 + TIL 세포의 비.

도 30a 및 b. 스크리닝에서의 및 니볼루맵 단독요법의 제2-4주에서의 LAG-3 mRNA 수준.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0089] 한 측면에서, 본 발명은 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 개선된 방법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 항-LAG-3 항체를 항-PD-1 항체와 조합하여 투여하는 것이 LAG-3 양성 및 LAG-3 음성 종양 둘 다를 갖는 환자를 포함하는 집단과 비교하여 LAG-3 양성 악성 종양을 갖는 환자 집단에서 놀랍게도 개선된 치료 결과를 달성한다는 것을 보여준다. 따라서, 한 측면에서, 본원에 기재된 발명은 LAG-3 양성 종양, 예를 들어, 흑색종을 갖는 환자를 확인하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 측면에서, 본원에 기재된 발명은 LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체) 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)의 조합을 투여함으로써 LAG-3 양성 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0090] 또 다른 측면에서, 본원에 기재된 발명은 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체) 또는 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제의 조합을 투여함으로써 LAG-3 양성 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0091] 또 다른 측면에서, 본원에 기재된 발명은 항-CTLA4 항체를 투여함으로써 LAG-3 양성 악성 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0092] 1. 정의
- [0093] 본 개시내용이 보다 용이하게 이해될 수 있도록, 특정 용어가 먼저 정의된다. 본 출원에 사용된 바와 같이, 본원에 달리 명백하게 제공된 경우를 제외하고는, 각각의 하기 용어는 하기 제시된 의미를 가질 것이다. 추가의 정의가 본 출원 전반에 걸쳐 제시된다.
- [0094] "항체" (Ab)는 비제한적으로, 항원에 특이적으로 결합하고 디설피드 결합에 의해 상호연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 당단백질 이뮤노글로불린, 또는 그의 항원 결합 부분을 포함할 것이다. 각각의 H쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서  $V_H$ 로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 불변 도메인,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  및  $C_{H3}$ 을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서  $V_L$ 로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 1개의 불변 도메인,  $C_L$ 을 포함한다.  $V_H$  및  $V_L$  영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 보다 보존된 영역 사이에 배치된 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 추가된 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의  $V_H$  및  $V_L$ 은 아미노-말단으로부터 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR을 포함한다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 중쇄는 C-말단 리신을 가질 수 있거나 또는 없다. 본원에 달리 명시되지 않는 한, 가변 영역 내의 아미노산은 카바트 넘버링 시스템을 사용하여 넘버링되고, 불변 영역 내의 것은 EU 시스템을 사용하여 넘버링된다.
- [0095] 이뮤노글로불린은 IgA, 분비형 IgA, IgG 및 IgM을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 통상적으로 공지된 이소형 중 임의의 것으로부터 유래할 수 있다. IgG 하위부류는 또한 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있고, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. "이소형"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 코딩된 항체 부류 또는 하위부류 (예를 들어, IgM 또는 IgG1)를 지칭한다. 용어 "항체"는 예로서, 모노클로날 및 폴리클로날 항체; 키메라 및 인간화 항체; 인간 또는 비인간 항체; 완전 합성 항체; 및 단일쇄 항체를 포함한다. 비인간 항체는 인간에서 그의 면역원성을 감소시키는 재조합 방법에 의해 인간화될 수 있다. 명백하게 언급되지 않은 경우, 및 문맥상 달리 나타내지 않는 한, 용어 "항체"는 단일특이적, 이중특이적 또는 다중특이적 항체, 뿐만 아니라 단일쇄 항체를 포함한다. 실시양태에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 다른 실시양태에서, 항체는 단일특이적 항체이다.
- [0096] 본원에 사용된 "IgG 항체"는 자연 발생 IgG 항체의 구조를 가지며, 즉, 그것은 동일한 하위부류의 자연 발생 IgG 항체와 동일한 수의 중쇄 및 경쇄 및 디설피드 결합을 갖는다. 예를 들어, 항-ICOS IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체는 2개의 중쇄 (HC) 및 2개의 경쇄 (LC)로 이루어지며, 여기서 2개의 중쇄 및 경쇄는 각각 자연 발생 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 항체에서 발생하는 디설피드 가교의 동일한 수 및 위치에 의해 연결된다 (항체가 돌연변이되어 디설피드 가교가 변형되지 않는 한).
- [0097] "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다 (예를 들어, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 PD-1 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러

나, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 상이한 종으로부터의 PD-1 분자와 교차-반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화합물이 실질적으로 없을 수 있다.

[0098] 항체는 (예를 들어, 돌연변이, 결실, 치환, 비-항체 모이어티에 대한 접합에 의해) 변경된 항체일 수 있다. 예를 들어, 항체는 (자연 발생 항체와 비교하여) 항체의 성질 (예를 들어, 기능적 성질)을 변화시키는 1개 이상의 변이체 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들어, 수많은 이러한 변경, 예를 들어 반감기, 이펙터 기능 및/또는 환자에서의 항체에 대한 면역 반응에 영향을 미치는 변경이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 용어 항체는 또한 적어도 1개의 항체-유래 항원 결합 부위를 포함하는 인공 폴리펩티드 구축물을 포함한다.

[0099] 용어 "모노클로날 항체" ("mAb")는 단일 분자 조성의 항체 분자, 즉, 1차 서열이 본질적으로 동일하고 특정한 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타내는 항체 분자의 비-자연 발생 체제를 지칭한다. mAb는 단리된 항체의 예이다. mAb는 하이브리도마, 재조합, 트랜스제닉 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다른 기술에 의해 생산될 수 있다.

[0100] "인간" 항체 (HuMAb)는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 게다가, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우에, 불변 영역은 또한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된다. 본 발명의 인간 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그래프팅된 항체를 포함하는 것으로 의도되지는 않는다. 용어 "인간" 항체 및 "완전 인간" 항체는 동의어로 사용된다.

[0101] "인간화 항체"는 비-인간 항체의 CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두가 인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 상응하는 아미노산으로 대체된 항체를 지칭한다. 인간화 형태의 항체의 한 실시양태에서, CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두는 인간 이뮤노글로불린으로부터의 아미노산으로 대체된 반면에, 1개 이상의 CDR 영역 내의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산은 변화되지 않는다. 아미노산의 작은 부가, 결실, 삽입, 치환 또는 변형은, 이들이 특정한 항원에 결합하는 항체의 능력을 제거하지 않는 한, 허용가능하다. "인간화" 항체는 원래 항체의 것과 유사한 항원 특이성을 유지한다.

[0102] "키메라 항체"는, 가변 영역은 한 종으로부터 유래되고, 불변 영역은 또 다른 종으로부터 유래된 항체, 예컨대 가변 영역은 마우스 항체로부터 유래되고, 불변 영역은 인간 항체로부터 유래된 항체를 지칭한다.

[0103] "항-항원" 항체는 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 예를 들어, 항-PD-1 항체는 PD-1에 특이적으로 결합하고 항-LAG-3 항체는 LAG-3에 특이적으로 결합한다.

[0104] 항체의 "항원 결합 부분" ("항원 결합 단편"으로도 불림)은 전체 항체에 의해 결합되는 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 1개 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 전장 항체의 단편 또는 부분에 의해 수행될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 본원에 기재된 용어 항체, 예를 들어, 항-LAG-3 항체의 "항원 결합 부분" 또는 "항원 결합 단편" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 하기를 포함한다:

- [0105] (1) VL, VH, LC 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fab 단편 (과파인 절단으로부터의 단편) 또는 유사한 1가 단편;
- [0106] (2) 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 F(ab')<sub>2</sub> 단편 (캡신 절단으로부터의 단편) 또는 유사한 2가 단편;
- [0107] (3) VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편;
- [0108] (4) 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편,
- [0109] (5) VH 도메인으로 이루어진 단일 도메인 항체 (dAb) 단편 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-46);
- [0110] (6) 힌지에 의해 연결된 2개의 VH 도메인으로 이루어진 이중-단일 도메인 항체 (이중-친화도 재-표적화 항체 (DART));
- [0111] (7) 이중 가변 도메인 이뮤노글로불린;
- [0112] (8) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR); 및
- [0113] (9) 합성 링커에 의해 임의로 연결될 수 있는 2개 이상의 단리된 CDR의 조합. 게다가, Fv 단편의 2개의 도메인, VL 및 VH는 개별 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 VL 및 VH 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성한



단일 단백질 쇠 (단일 쇠 Fv (scFv)로 공지됨; 예를 들어, 문헌 [Bird et al. (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조)로서 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해 재조합 방법을 사용하여 연결될 수 있다. 이러한 단일 쇠 항체는 또한 용어 항체의 "항원 결합 부분" 또는 "항원 결합 단편" 내에 포괄되는 것으로 의도된다. 이들 항체 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 수득되고, 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝된다. 항원 결합 부분은 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 무손상 이뮤노글로불린의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다.

[0114] 용어 "LAG-3", "LAG3" 또는 "림프구 활성화 유전자-3"은 림프구 활성화 유전자-3을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 LAG-3은 인간 LAG-3 (hLAG-3), hLAG-3의 변이체, 이소형, 및 중 상동체, 및 hLAG-3과 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 본원에 사용된 용어 LAG-3은 변이체, 이소형, 상동체, 오르토로그 및 파라로그를 포함한다. 예를 들어, 인간 LAG-3 단백질에 특이적인 항체는, 특정 경우에 인간 이외의 종으로부터의 LAG-3 단백질과 교차-반응할 수 있다. 다른 실시양태에서, 인간 LAG-3 단백질에 특이적인 항체는 인간 LAG-3 단백질에 완전히 특이적일 수 있고, 중 또는 다른 유형의 교차-반응성을 나타내지 않을 수 있거나, 또는 모든 다른 종이 아닌 특성의 다른 종으로부터의 LAG-3과 교차-반응할 수 있다 (예를 들어, 원숭이 LAG-3과는 교차-반응하지만 마우스 LAG-3과는 교차-반응하지 않음). 용어 "인간 LAG-3"은 인간 서열 LAG-3, 예컨대 진뱅크 수탁 번호 NP\_002277을 갖는 인간 LAG-3의 완전 아미노산 서열을 지칭한다 (서열식별번호: 13). 용어 "마우스 LAG-3"은 마우스 서열 LAG-3, 예컨대 진뱅크 수탁 번호 NP\_032505를 갖는 마우스 LAG-3의 완전 아미노산 서열을 지칭한다. LAG-3은 또한, 예를 들어 CD223으로서 관련 기술분야에 공지되어 있다. 인간 LAG-3 서열은, 예를 들어 보존된 돌연변이 또는 비-보존 영역 내의 돌연변이를 가짐으로써 진뱅크 수탁 번호 NP\_002277의 인간 LAG-3과 상이할 수 있고, LAG-3은 진뱅크 수탁 번호 NP\_002277의 인간 LAG-3과 실질적으로 동일한 생물학적 기능을 갖는다. 예를 들어, 인간 LAG-3의 생물학적 기능은 LAG-3의 세포외 도메인 내에 본 개시내용의 항체에 의해 특이적으로 결합되는 에피토프를 갖는 것이거나 또는 인간 LAG-3의 생물학적 기능은 MHC 부류 II 분자에 결합하는 것이다.

[0115] 특정한 인간 LAG-3 서열은 일반적으로 진뱅크 수탁 번호 NP\_002277의 인간 LAG-3과 아미노산 서열이 적어도 90% 동일할 것이고, 다른 종 (예를 들어, 무원)의 LAG-3 아미노산 서열과 비교하였을 때 아미노산 서열을 인간의 것으로서 확인시켜 주는 아미노산 잔기를 함유한다. 특정 경우에, 인간 LAG-3은 진뱅크 수탁 번호 NP\_002277의 LAG-3과 아미노산 서열이 적어도 95%, 또는 심지어 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일할 수 있다. 특정 실시양태에서, 인간 LAG-3 서열은 진뱅크 수탁 번호 NP\_002277의 LAG-3 서열과 10개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 것이다. 특정 실시양태에서, 인간 LAG-3은 진뱅크 수탁 번호 NP\_002277의 LAG-3 서열과 5개 이하, 또는 심지어 4, 3, 2 또는 1개 이하의 아미노산 차이를 나타낼 수 있다. 퍼센트 동일성은 본원에 기재된 바와 같이 결정될 수 있다.

[0116] 본원에 사용된 용어 "프로그램화된 사멸 1", "프로그램화된 세포 사멸 1", "단백질 PD-1", "PD-1", "PD1", "PDCD1", "hPD-1" 및 "hPD-I"는 상호교환가능하게 사용되고, 인간 PD-1의 변이체, 이소형, 중 상동체, 및 PD-1과 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 완전 PD-1 서열은 진뱅크 수탁 번호 U64863 (서열식별번호: 29) 하에 찾아볼 수 있다.

[0117] 단백질 프로그램화된 사멸 1 (PD-1)은 CD28, CTLA-4, ICOS 및 BTLA를 또한 포함하는 수용체의 CD28 패밀리의 억제 구성원이다. PD-1은 활성화된 B 세포, T 세포, 및 골수 세포 상에서 발현된다 (Agata et al., supra; Okazaki et al. (2002) Curr. Opin. Immunol. 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) J Immunol 170:711-8). 패밀리의 초기 구성원인 CD28 및 ICOS는 노도클로날 항체의 첨가 후에 T 세포 증식을 증진시키는 것에 대한 기능적 효과에 의해 발견되었다 (Hutloff et al. Nature (1999); 397:263-266; Hansen et al. Immunogenics (1980); 10:247-260). PD-1은 아포토시스 세포에서의 차등 발현에 대한 스크리닝을 통해 발견되었다 (Ishida et al. EMBO J (1992); 11:3887-95). 패밀리의 다른 구성원인 CTLA-4 및 BTLA는 각각 세포독성 T 림프구 및 TH1 세포에서의 차등 발현에 대한 스크리닝을 통해 발견되었다. CD28, ICOS 및 CTLA-4는 모두 동종이량체화를 허용하는 쌍형성되지 않은 시스템 잔기를 갖는다. 대조적으로, PD-1은 다른 CD28 패밀리 구성원에서 특징적인 쌍형성되지 않은 시스템 잔기가 결여되어, 단량체로서 존재하는 것으로 시사된다.

[0118] PD-1 유전자는 Ig 유전자 슈퍼패밀리의 일부인 55 kDa의 제I형 막형단 단백질이다 (Agata et al. (1996) Int Immunol 8:765-72). PD-1은 막 근위 면역수용체 티로신 억제 모티프 (ITIM) 및 막 원위 티로신-기반 스위치 모티프 (ITSM)를 함유한다 (Thomas, M. L. (1995) J Exp Med 181:1953-6; Vivier, E and Daeron, M (1997) Immunol Today 18:286-91). CTLA-4와 구조적으로 유사하지만, PD-1은 B7-1 및 B7-2 결합에 결정적인 MYPPPY

모티프가 결여되어 있다 (서열식별번호: 32). PD-1에 대한 2종의 리간드, PD-L1 및 PD-L2가 확인되었으며, 이들은 PD-1에 결합시 T 세포 활성화를 하향조절하는 것으로 밝혀졌다 (Freeman et al. (2000) J Exp Med 192:1027-34; Latchman et al. (2001) Nat Immunol 2:261-8; Carter et al. (2002) Eur J Immunol 32:634-43). PD-L1 및 PD-L2 둘 다는 PD-1에 결합하지만 다른 CD28 패밀리 구성원에는 결합하지 않는 B7 상동체이다. PD-L1은 다양한 인간 암에서 풍부하다 (Dong et al. (2002) Nat. Med. 8:787-9). PD-1과 PD-L1 사이에서의 상호작용은 종양 침윤 림프구를 감소시키고, T-세포 수용체 매개 증식을 감소시키고, 암성 세포에 의한 면역 회피를 발생시킨다 (Dong et al. (2003) J. Mol. Med. 81:281-7; Blank et al. (2005) Cancer Immunol. Immunother. 54:307-314; Konishi et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:5094-100). 면역 억제체는 PD-1과 PD-L1의 국부 상호작용을 억제함으로써 역전될 수 있고, 그 효과는 PD-1과 PD-L2의 상호작용이 또한 차단되는 경우에 상가적이다 (Iwai et al. (2002) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 99:12293-7; Brown et al. (2003) J. Immunol. 170:1257-66).

[0119] PD-1이 CD28 패밀리의 억제 구성원인 것과 일치하게, PD-1 결핍 동물은 자가면역 심근병증, 및 관절염 및 신염을 동반한 루푸스-유사 증후군을 포함하여 다양한 자가면역 표현형을 발생시킨다 (Nishimura et al. (1999) Immunity 11:141-51; Nishimura et al. (2001) Science 291:319-22). 추가적으로, PD-1은 자가면역 뇌척수염, 전신 홍반성 루푸스, 이식편-대-숙주 질환 (GVHD), 제I형 당뇨병 및 류마티스 관절염에서 역할을 하는 것으로 밝혀졌다 (Salama et al. (2003) J Exp Med 198:71-78; Prokunina and Alarcon-Riquelme (2004) Hum Mol Genet 13:R143; Nielsen et al. (2004) Lupus 13:510). 류틴 B 세포 종양 세포주에서, PD-1의 ITSM은 BCR-매개  $Ca^{2+}$ -유동 및 하류 이펙터 분자의 티로신 인산화를 차단하는 데 필수적인 것으로 밝혀졌다 (Okazaki et al. (2001) PNAS 98:13866-71).

[0120] "프로그래밍된 사멸 리간드-1 (PD-L1)"은 PD-1에 결합시 T 세포 활성화 및 시토카인 분비를 하향조절하는, PD-1에 대한 2종의 세포 표면 당단백질 리간드 중 하나이다 (다른 것은 PD-L2임). 본원에 사용된 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1 (hPD-L1), hPD-L1의 변이체, 이소형, 및 종 상동체, 및 hPD-L1과 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 완전 hPD-L1 서열은 진뱅크 수탁 번호 Q9NZQ7 하에 찾아볼 수 있다.

[0121] 본원에 사용된 용어 "프로그래밍된 사멸 리간드-2" 및 "PD-L2"는 인간 PD-L2 (hPD-L2), hPD-L2의 변이체, 이소형, 및 종 상동체, 및 hPD-L2와 적어도 1개의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 완전 hPD-L2 서열은 진뱅크 수탁 번호 Q9BQ51 하에 찾아볼 수 있다.

[0122] 본원에 사용된 "환자"는 암 (예를 들어, 흑색종)을 앓고 있는 임의의 환자를 포함한다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.

[0123] "투여하는"은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여 대상체에게 치료제를 포함하는 조성물을 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본원에 개시된 제제에 대한 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피하, 복강내, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함한다. 본원에 사용된 어구 "비경구 투여"는 통상적으로 주사에 의한, 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하고, 비제한적으로, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 폐내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제제는 비-비경구 경로를 통해, 일부 실시양태에서는 경구로 투여된다. 다른 비-비경구 경로는 국소, 표피 또는 점막 투여 경로, 예를 들어 비강내, 질, 직장, 설하 또는 국소 투여 경로를 포함한다. 또한, 투여는 예를 들어 1회, 복수회, 및/또는 1회 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0124] 대상체의 "치료" 또는 "요법"은 질환과 연관된 증상, 합병증 또는 상태, 또는 생화학적 징후의 발병, 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 역전시키거나, 완화시키거나, 호전시키거나, 억제하거나, 늦추거나 또는 방지하는 것을 목적으로 대상체에 대해 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 그에 대한 활성제의 투여를 지칭한다.

[0125] 본원에 사용된 "유효 치료"는 유의한 효과, 예를 들어 질환 또는 장애의 적어도 1종의 증상의 호전을 일으키는 치료를 지칭한다. 유의한 효과는 기준선을 넘어서는 개선, 즉 방법에 따른 요법의 개시 전에 이루어진 측정 또는 관찰을 넘어서는 개선의 형태를 취할 수 있다. 유의한 효과는 또한 고형 종양의 마커의 유해한 진행을 정지시키거나, 늦추거나, 지연시키거나 또는 안정화시키는 것의 형태를 취할 수 있다. 유효 치료는 고형 종양의 적어도 1종의 증상의 완화를 지칭할 수 있다. 이러한 유효 치료는, 예를 들어 환자 통증을 감소시킬 수 있고/거나, 병변의 크기 및/또는 수를 감소시킬 수 있고/거나, 종양 전이를 감소시키거나 방지할 수 있고/거나, 종양

성장을 늦출 수 있다.

- [0126] 용어 "유효량"은 목적하는 생물학적, 치료적 및/또는 예방적 결과를 제공하는 작용제의 양을 지칭한다. 그 결과는 질환의 징후, 증상 또는 원인 중 하나 이상의 감소, 호전, 경감, 약화, 지연 및/또는 완화, 또는 생물학적 시스템의 임의의 다른 목적하는 변경일 수 있다. 고형 종양과 관련하여, 유효량은 종양 축소를 유발하고/거나 종양의 성장 속도를 감소시키거나 (예컨대 종양 성장을 억제하거나) 또는 다른 원치 않는 세포 증식을 방지 또는 지연시키는 데 충분한 양을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유효량은 종양 발달을 지연시키는 데 충분한 양이다. 일부 실시양태에서, 유효량은 종양 재발을 방지 또는 지연시키는 데 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 약물 또는 조성물의 유효량은 (i) 암 세포의 수를 감소시키고/거나; (ii) 종양 크기를 감소시키고/거나; (iii) 말초 기관으로의 암 세포 침윤을 어느 정도 억제, 지연, 감속, 및 아마 정지시키고/거나; (iv) 종양 전이를 억제 (즉, 어느 정도 늦춤), 및 아마 정지시키고/거나; (v) 종양 성장을 억제하고/거나; (vi) 종양 발생 및/또는 재발을 방지 또는 지연시키고/거나; (vii) 암과 연관된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 경감시킬 수 있다. 한 예에서, "유효량"은 암의 유의한 감소 또는 암, 예컨대 진행성 고형 종양의 진행의 감속을 발생시키는 것으로 임상적으로 증명된, 조합된 항-LAG-3 항체의 양 및 항-PD-1 항체의 양이다. 본원에 사용된 용어 "고정 용량", "균일 용량" 및 "균일-고정 용량"은 상호교환가능하게 사용되고, 환자의 체중 또는 체표면적 (BSA)에 관계없이 환자에게 투여되는 용량을 지칭한다. 따라서 고정 또는 균일 용량은 mg/kg 용량으로 제공되지 않고, 오히려 작용제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-1 항체)의 절대량으로서 제공된다.
- [0127] 본원에 사용된, PFS로서 약칭될 수 있는 용어 "무진행 생존"은, 환자가 질환을 갖지만 이것이 악화되지 않는 상태로 살아가는, 고형 종양 (즉, 흑색종)의 치료 동안 및 그 후의 시간 길이를 지칭한다.
- [0128] 본원에 사용된 "투여 간격"은 대상체에게 투여되는 본원의 개시된 제제의 다중 용량 사이에서 경과하는 시간의 양을 의미한다. 투여 간격은 따라서 범위로 나타내어질 수 있다.
- [0129] 본원에 사용된 용어 "투여 빈도"는 주어진 시간 내에 본원에 개시된 제제의 용량을 투여하는 빈도를 지칭한다. 투여 빈도는 주어진 시간당 용량의 횟수, 예를 들어, 1주 1회 또는 2주 1회로서 나타내어질 수 있다.
- [0130] 본 발명의 조성물과 관련하여 용어 "고정 용량"의 사용은 단일 조성물 중에 2종 이상의 상이한 항체가 서로 특정한 (고정된) 비로 조성물 중에 존재한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, 고정 용량은 항체의 중량 (예를 들어, mg)을 기준으로 한다. 특정 실시양태에서, 고정 용량은 항체의 농도 (예를 들어, mg/ml)를 기준으로 한다. 일부 실시양태에서, 제1 항체 (mg) 대 제2 항체 (mg)의 비는 적어도 약 1:1, 약 1:2, 약 1:3, 약 1:4, 약 1:5, 약 1:6, 약 1:7, 약 1:8, 약 1:9, 약 1:10, 약 1:15, 약 1:20, 약 1:30, 약 1:40, 약 1:50, 약 1:60, 약 1:70, 약 1:80, 약 1:90, 약 1:100, 약 1:120, 약 1:140, 약 1:160, 약 1:180, 약 1:200, 약 200:1, 약 180:1, 약 160:1, 약 140:1, 약 120:1, 약 100:1, 약 90:1, 약 80:1, 약 70:1, 약 60:1, 약 50:1, 약 40:1, 약 30:1, 약 20:1, 약 15:1, 약 10:1, 약 9:1, 약 8:1, 약 7:1, 약 6:1, 약 5:1, 약 4:1, 약 3:1, 또는 약 2:1이다. 예를 들어, 제1 항체 및 제2 항체의 3:1 비는 바이알이 약 240 mg의 제1 항체 및 80 mg의 제2 항체 또는 약 3 mg/ml의 제1 항체 및 1 mg/ml의 제2 항체를 함유할 수 있다는 것을 의미할 수 있다.
- [0131] 본 발명의 조성물과 관련하여 용어 "균일 용량"의 사용은 환자의 체중 또는 체표면적 (BSA)에 관계없이 환자에게 투여되는 용량을 의미한다. 따라서 균일 용량은 mg/kg 용량으로 제공되지 않고, 오히려 작용제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-1 항체)의 절대량으로서 제공된다. 예를 들어, 60 kg 사람 및 100 kg 사람은 동일한 용량의 조성물을 받을 것이다 (예를 들어, 240 mg의 항-PD-1 항체 및 80 mg의 항-LAG-3 항체 둘 다를 함유하는 단일 고정 투여 제제 바이알 (또는 120 mg의 항-PD-1 항체 및 40 mg의 항-LAG-3 항체를 함유하는 2개의 고정 투여 제제 바이알 등)에 들은 240 mg의 항-PD-1 항체 및 80 mg의 항-LAG-3 항체).
- [0132] 본원에 지칭된 용어 "체중 기준 용량"은 환자에게 투여되는 용량이 환자의 체중을 기준으로 하여 계산된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 60 kg 체중인 환자가 3 mg/kg의 항-PD-1 항체와 조합된 3 mg/kg의 항-LAG-3 항체를 필요로 하는 경우에, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체의 1:1 비의 고정 투여 제제로부터 한 번에 항-LAG-3 항체 (즉, 180 mg) 및 항-PD-1 항체 (즉, 180 mg)의 적절한 양을 도출할 수 있다.
- [0133] 본원에 사용된 용어 "약 1주 1회", "약 매주 1회", "약 2주마다 1회", 또는 임의의 다른 유사한 투여 간격 용어는 근사치를 의미하고, "약 1주 1회" 또는 "약 매주 1회"는 7일 ± 2일마다, 즉, 5일마다 내지 9일마다를 포함할 수 있다. "1주 1회"의 투여 빈도는 따라서 5일마다, 6일마다, 7일마다, 8일마다, 또는 9일마다일 수 있다. "약 2주마다 1회"는 14일 ± 3일마다, 즉, 11일마다 내지 17일마다를 포함할 수 있다. 유사한

근사법이, 예를 들어 약 3주마다 1회, 약 4주마다 1회, 약 5주마다 1회, 약 6주마다 1회, 및 약 12주마다 1회에 대해 적용된다. 일부 실시양태에서, 약 6주마다 1회 또는 약 12주마다 1회의 투여 간격은, 제1 용량이 제1주 중 임의의 날에 투여될 수 있고, 이어서 다음 용량이 각각 제6주 또는 제12주 중 임의의 날에 투여될 수 있다는 것을 의미한다. 다른 실시양태에서, 약 6주마다 1회 또는 약 12주마다 1회의 투여 간격은, 제1 용량이 제1주의 특정한 날 (예를 들어, 월요일)에 투여되고, 이어서 다음 용량이 각각 제6주 또는 제12주의 동일한 날 (즉, 월요일)에 투여된다는 것을 의미한다.

[0134] "암"은 신체 내 비정상 세포의 비제어된 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 군을 지칭한다. 비조절된 세포 분열 및 성장은 분열 및 성장으로 인해 이웃 조직을 침습하는 악성 종양의 형성을 발생시키고, 또한 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이될 수 있다. "암" 또는 "암 조직"은 종양을 포함할 수 있다.

[0135] 본원에 사용된 용어 "종양"은 과도한 세포 성장 또는 증식으로부터 발생하는, 전암성 병변을 포함한 양성 (비-암성) 또는 악성 (암성)의 조직의 임의의 덩어리를 지칭한다.

[0136] LAG-3 발현과 관련하여 용어 "LAG-3 양성" 또는 "LAG-3 발현 양성"은 해당 비율을 초과하여 조직 샘플이 LAG-3을 발현하는 것으로 점수화되는, 종양 세포 및 종양-침윤 염증 세포를 포함하는 시험 조직 샘플에서의 세포의 비율을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 (IHC)에 의해 검정된 LAG-3 발현에 대해, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 0.01%, 적어도 약 0.5%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 100%가 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 다른 실시양태에서, 면역조직화학 (IHC) 또는 유동 세포측정법에 의해 검정된 LAG-3 발현에 대해, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 적어도 약 0.01%, 적어도 약 0.5%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 100%가 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 또한 본원에서 LAG-3을 발현하는 종양으로 표현될 수 있다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 0.1% 내지 적어도 약 20%가 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 적어도 약 0.1% 내지 적어도 약 20%가 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 특정 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 0.1% 내지 적어도 약 10%가 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 특정 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 적어도 약 0.1% 내지 적어도 약 10%가 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 1%가 세포 표면 상에 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 적어도 약 1%가 세포 표면 상에 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 다른 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 5%가 세포 표면 상에 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 다른 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 적어도 약 5%가 세포 표면 상에 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 하나의 특정한 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 1%, 또는 1- 5% 범위가 세포 표면 상에 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 하나의 특정한 실시양태에서, LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 발현 양성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 적어도 약 1%, 또는 1- 5% 범위가 세포 표면 상에 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다.

[0137] "LAG-3 음성" 또는 "LAG-3 발현 음성"은 검출가능한 양의 LAG-3 발현의 결여를 지칭한다. 일부 실시양태에서, IHC에 의해 검정된 LAG-3 발현에 대해, LAG-3 음성 종양 또는 LAG-3 발현 음성 종양은 세포의 총수의 0.01% 미만인 검출가능한 수준의 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, IHC 또는 유동 세포측정법에 의해 검정된 LAG-3 발현에 대해, LAG-3 음성 종양 또는 LAG-3 발현 음성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 0.01% 미만인 검출가능한 수준의 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, IHC에 의해 검정된 LAG-3 발현에 대해, LAG-3 음성 종양 또는 LAG-



3 발현 음성 종양은 세포의 총수의 1% 미만이 검출가능한 수준의 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, IHC 또는 유동 세포측정법에 의해 검정된 LAG-3 발현에 대해, LAG-3 음성 종양 또는 LAG-3 발현 음성 종양은 종양-침윤 염증 세포 (예를 들어, T 세포, CD8+ T 세포, CD4+ T 세포, FOXP3+ 세포)의 총수의 1% 미만이 검출가능한 수준의 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 음성 종양 또는 LAG-3 발현 음성 종양은 영 (0)개의 세포가 검출가능한 수준의 LAG-3을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 음성 종양 또는 LAG-3 발현 음성 종양은 LAG-3 양성 또는 LAG-3 발현 양성 종양 이외의 임의의 종양이다.

[0138] 세포 표면 PD-L1 발현과 관련하여 용어 "PD-L1 양성" 또는 "PD-L1 발현 양성"은 해당 비율을 초과하여 샘플이 세포 표면 PD-L1을 발현하는 것으로 점수화되는, 종양 세포 및 종양-침윤 염증 세포를 포함하는 시험 조직 샘플에서의 세포의 비율을 지칭한다. 면역조직화학 (IHC)에 의해, 예를 들어 mAb 28- 8을 사용하여 검정된 세포 표면 발현에 대해, PD-L1 양성 종양 또는 PD-L1 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 0.01%, 적어도 약 0.5%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 또는 적어도 약 30%가 PD-L1을 발현한다는 것을 의미한다. PD-L1 양성 종양 또는 PD-L1 발현 양성 종양은 또한 본원에서 PD-L1을 발현하는 종양으로 표현될 수 있다. 다른 실시양태에서, PD-L1 양성 종양 또는 PD-L1 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 0.1% 내지 적어도 약 20%가 PD-L1을 발현한다는 것을 의미한다. 특정 실시양태에서, PD-L1 양성 종양 또는 PD-L1 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 0.1% 내지 적어도 약 10%가 PD-L1을 발현한다는 것을 의미한다. 일부 실시양태에서, PD-L1 양성 종양 또는 PD-L1 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 1%가 세포 표면 상에 PD-L1을 발현한다는 것을 의미한다. 다른 실시양태에서, PD-L1 양성 종양 또는 PD-L1 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 5%가 세포 표면 상에 PD-L1을 발현한다는 것을 의미한다. 하나의 특정한 실시양태에서, PD-L1 양성 종양 또는 PD-L1 발현 양성 종양은 세포의 총수의 적어도 약 1%, 또는 1- 5% 범위가 세포 표면 상에 PD-L1을 발현한다는 것을 의미한다.

[0139] 세포 표면 PD-L1 발현과 관련하여 용어 "PD-L1 음성" 또는 "PD-L1 발현 음성"은 PD-L1 양성 또는 PD-L1 발현 양성인 종양 세포 및 종양-침윤 염증 세포를 포함하는 시험 조직 샘플에서의 세포의 비율을 지칭한다.

[0140] "면역 반응"은 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 다른 비정상 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우에 정상 인간 세포 또는 조직을 선택적으로 표적화하고/거나, 이에 결합하고/거나, 이에 대해 손상을 입히고/거나, 이를 파괴시키고/거나, 이를 척추동물의 신체로부터 제거시키는, 면역계 세포 (예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 킬러 (NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 및 호중구), 및 이들 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생산된 가용성 거대분자 (항체, 시토카인, 및 보체 포함)의 작용을 지칭한다.

[0141] "종양-침윤 염증 세포"는 전형적으로 대상체에서 염증 반응에 참여하고, 종양 조직을 침윤시키는 모든 유형의 세포이다. 이러한 세포는 종양-침윤 림프구 (TIL), 대식세포, 단핵구, 호산구, 조직구 및 수지상 세포를 포함한다.

[0142] 본원에 사용된 용어 "및/또는"은 2개의 명시된 특색 또는 성분 각각을 함께 또는 따로따로 구체적으로 개시하는 것으로서 이해되어야 한다. 따라서, 본원에서 어구 예컨대 "A 및/또는 B"에 사용된 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독), 및 "B" (단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 마찬가지로, 어구 예컨대 "A, B, 및/또는 C"에 사용된 용어 "및/또는"은 각각의 하기 측면: 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)를 포괄하는 것으로 의도된다.

[0143] 측면이 언어 "포함하는"을 사용하여 본원에 기재된 경우에, 달리 "로 이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진"과 관련하여 기재된 유사한 측면이 또한 제공되는 것으로 이해된다.

[0144] 용어 "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 결정된 바와 같은 특정한 값 또는 조성에 대한 허용 오차 범위 내의 값 또는 조성을 지칭하며, 이는 부분적으로 값 또는 조성이 측정 또는 결정되는 방법, 즉 측정 시스템의 제한에 따라 달라질 것이다. 예를 들어, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 관련 기술분야에서의 실시예에 따라 1 또는 1 초과의 표준 편차 내에 있음을 의미할 수 있다. 대안적으로, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 최대 10% 또는 20%의 범위 (즉,  $\pm 10\%$  또는  $\pm 20\%$ )를 의미할 수 있다. 예를 들어, 약 3mg은 2.7 mg 내지 3.3 mg (10% 경우) 또는 2.4 mg 내지 3.6 mg (20% 경우)의 임의의 수를 포함할 수 있다. 게다가, 특히 생물학적 시스템 또는 과정과 관련하여, 용어는 값의 최대 10배 또는 최대 5배를 의미할 수 있다. 특정한 값 또는 조성이 본 출원 및 청구범위에서 제공되는 경우에, 달리 언급되지 않는 한, "약" 또

는 "본질적으로 포함하는"의 의미는 그러한 특정한 값 또는 구성에 대한 허용 오차 범위 내에 있는 것으로 가정되어야 한다.

[0145] 본원에 기재된 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비 범위 또는 정수 범위는 달리 나타내지 않는 한, 언급된 범위 내의 임의의 정수 값, 및 적절한 경우에, 그의 분율 (예컨대 정수의 1/10 및 1/100)을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0146] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 개시내용이 관련된 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, 문헌 [the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 5th ed., 2013, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 2006, Oxford University Press]은 통상의 기술자에게 본 개시내용에 사용된 많은 용어에 대한 일반 사전을 제공한다.

[0147] 단위, 접두어, 및 기호는 시스템 인터내셔널 드 유니테스 (SI) 허용 형태로 표시된다. 수치 범위는 범위를 규정하는 수를 포함한다. 본원에 제공된 표제는 본 개시내용의 다양한 측면을 제한하는 것이 아니며, 이는 본 명세서를 전체로서 참조할 수 있다. 따라서, 바로 하기에 정의되는 용어는 본 명세서를 그 전문을 참조하여 보다 충분히 정의된다.

[0148] 본 발명의 다양한 측면이 하기 서브섹션에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0149] 2. 본 발명의 방법

[0150] 한 측면에서, 본 발명은 LAG-3 양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 LAG-3 양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종)을 치료하는 방법에 관한 것이다. LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체) 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)의 조합 요법은 LAG-3-음성 악성 종양 및 LAG-3-양성 악성 종양을 혼합하여 갖는 일반적 환자 집단에서보다 LAG-3 양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종)을 갖는 환자 집단에서 더 우수한 치료 결과 (예를 들어, 객관적 반응률 및 질환 제어율)를 생성한다. 악성 종양의 치료를 개선시키기 위해, 한 측면에서, 본 발명은 LAG-3-양성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것 및 LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체) 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)의 면역요법을 제공하는 것을 제공한다.

[0151] 또 다른 측면에서, 본 발명은 LAG-3-양성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체) 또는 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제의 조합을 투여함으로써 LAG-3 양성 종양을 치료하는 것에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 LAG-3-양성 종양을 갖는 환자를 확인하고 항-PD-1 항체를 투여함으로써 LAG-3 양성 종양을 치료하는 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 LAG-3-양성 종양을 갖는 환자를 확인하고 항-PD-L1 항체를 투여함으로써 LAG-3 양성 종양을 치료하는 방법을 포함한다.

[0152] 또 다른 측면에서, 본 발명은 LAG-3-양성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것 및 항-CTLA-4 항체를 투여함으로써 LAG-3 양성 종양을 치료하는 것에 관한 것이다.

[0153] 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 환자에서 면역요법을 위한 악성 종양을 선택하는 방법을 포함하며, (a) 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 (b) 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 면역요법을 위한 종양을 선택하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 환자에서 면역요법에 적합한 악성 종양을 확인하는 방법을 포함하며, (a) 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 (b) 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 종양을 면역요법에 적합한 것으로 확인하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 환자에서 면역요법에 반응성일 가능성이 있는 악성 종양을 확인하는 방법을 포함하며, (a) 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 (b) 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 종양을 치료에 반응성일 가능성이 있는 것으로 확인하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 환자에서 면역요법에 반응성일 가능성이 있는 악성 종양을 분류하는 방법에 관한 것이며, (a) 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 (b) 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 종양을 면역요법에 반응성일 가능성이 있는 것으로 분류하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 항-PD-1 항체와

접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 항-PD-L1 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 항-PD-1 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 특정 실시양태에서, 본 방법 중 임의의 것은 종양 샘플에서 PD-L1 발현을 결정하는 것을 추가로 포함한다.

[0154] 한 실시양태에서, 본 발명은 면역요법에 반응할 가능성이 있는 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 방법을 포함하며, (a) 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 (b) 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 치료에 반응할 가능성이 있는 환자를 확인하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 면역요법을 위한 악성 종양을 갖는 환자를 선택하는 방법을 포함하며, (a) 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 것; 및 (b) 종양이 LAG-3 양성 종양인 경우 면역요법을 위한 환자를 선택하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 항-PD-1 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 항-PD-L1 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 항-PD-1 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 항-PD-L1 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 종양을 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 특정 실시양태에서, 본 방법 중 임의의 것은 종양 샘플에서 PD-L1 발현을 결정하는 것을 추가로 포함한다.

[0155] 한 실시양태에서, 본 발명은 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법을 포함하며, 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 환자의 종양의 샘플에서의 LAG-3 발현에 기초하여 또는 LAG-3 및 PD-L1 발현에 기초하여 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 사용한 치료에 반응할 것으로 예측된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다.

[0156] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법을 포함하며, (a) 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준 및 LAG-3 및 PD-L1 발현의 수준을 결정하는 것; 및 (b) 종양이 LAG-3 양성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 종양인 경우 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하







서 악성 종양을 치료하는 방법을 포함하며, 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 종양이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다. 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다.

[0161] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양의 치료를 필요로 하는 인간 환자에서 악성 종양을 치료하는 방법을 포함하며, 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다.

[0162] 특정 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 무진행 생존 기간을 12개월 초과로 연장시키는 방법을 포함하며, 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 환자는 12개월 초과 무진행 생존을 입증한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다. 일부 실시양태에서, 환자의 무진행 생존은 투여 후에 약 13개월, 약 14개월, 약 15개월, 약 16개월, 약 17개월, 약 18개월, 약 2년, 약 3년, 약 4년, 약 5년, 약 6년, 약 7년, 약 8년, 약 9년 또는 약 10년 초과로 연장될 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다.

[0163] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 인간 환자에서 종양 크기를 적어도 10%만큼 감소시키는 방법을 포함하며, 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종) 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 투여는 종양 크기를 투여 전의 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 또는 100% 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다.

[0164] 본 발명은 또한 환자에서 재발을 예방하고/거나 완화를 유도하는 방법을 포함할 수 있으며, 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 환자는 투여 전에 LAG-3-양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종) 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 (i) LAG-3-양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 (ii) 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-

L1 음성 악성 종양이다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다.

[0165]

특정 실시양태에서, 본 발명은 환자 집단의 각각의 환자가 악성 종양을 앓고 있는 환자 집단에서 암 치료에서 객관적 반응률을 55% 초과로 증가시키는 방법을 포함하며, 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종) 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 객관적 반응률은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 일부 실시양태에서, 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제와 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제와 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다.

[0166]

특정 실시양태에서, 본 발명은 환자 집단의 각각의 환자가 악성 종양을 앓고 있는 환자 집단에서 암 치료에서 질환 제어율을 55% 초과로 증가시키는 방법을 포함하며, 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 포함하고, 여기서 각각의 환자는 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종) 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인되고 여기서 질환 제어율은 55%, 60%, 65%, 70%, 또는 75% 초과이다. 일부 실시양태에서, 방법은 투여 전에 LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다.

[0167]

다른 실시양태에서, 방법에서의 각각의 환자는 (i) 12개월 초과로 연장된 무진행 생존, (ii) 투여 전의 종양 크기와 비교하여 적어도 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 또는 약 50%의 종양 크기 감소, 또는 (iii) 둘 다를 경험한다. 일부 실시양태에서, 환자 집단은 LAG-3 양성 악성 종양 (예를 들어, 흑색종) 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 적어도 100명의 환자일 수 있다. 일부 실시양태에서, 환자 집단은 LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 적어도 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 또는 1000 명의 환자일 수 있다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다.

[0168]

추가 실시양태에서, 본 발명은 조합 요법에 적합한 인간 환자를 선택하는 방법을 제공하며, (a) LAG-3 양성 악성 종양 또는 LAG-3 양성 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것; 및 (b) 건강관리 제공자가 환자에게 본원에 개시된 면역요법을 투여하도록 지시하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 악성 종양이다. 방법은 본원에 개시된 면역요법을 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태

에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, 투여는 악성 종양을 치료한다.

[0169] 본 발명의 방법은 본원에 개시된 면역요법의 투여의 결과로서 악성 종양을 치료하거나 종양 크기를 감소시키거나, 종양의 성장을 방지하거나, 환자로부터 종양을 제거하거나, 종양의 재발을 방지하거나, 환자에서 완화를 유도하거나, 또는 그의 임의의 조합일 수 있다. 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 면역요법의 투여는 완전 반응을 유도한다. 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 면역요법의 투여는 부분 반응을 유도한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 LAG-3 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 항-PD-1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 항-PD-L1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역요법은 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이고 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다.

[0170] 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 종양은 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 7%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 100%의 LAG-3 발현 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현 세포는 종양 침윤 림프구를 포함한다.

[0171] 일부 실시양태에서, 확인하는 것은 악성 종양에서 LAG-3 발현을 결정하는 것을 포함한다.

[0172] 일부 실시양태에서, LAG-3 발현은 LAG-3 발현을 결정할 수 있는 검정의 결과를 수신하는 것에 의해 결정된다.

[0173] 특정 실시양태에서, 본 방법 중 임의의 것은 종양 샘플에서 PD-L1 발현을 결정하는 것을 추가로 포함한다.

[0174] 특정 실시양태에서, 본 방법 중 임의의 것은 투여 전에 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 방법 중 임의의 것은 투여 전에 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 것을 추가로 포함한다.

[0175] 특정 실시양태에서, 본 방법 중 임의의 것은 악성 종양에서의 PD-L1 발현을 결정하는 것을 추가로 포함한다.

[0176] 본 방법 중 임의의 것의 특정 실시양태에서, 환자는 투여 전에 PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다. 본 방법 중 임의의 것의 특정 실시양태에서, 환자는 투여 전에 PD-L1 음성 악성 종양을 갖는 것으로 확인된다.

[0177] 종양 샘플에서 PD-L1 발현을 결정하는 방법, PD-L1 양성 악성 종양을 갖는 환자를 확인하는 방법, 및 악성 종양에서 PD-L1 발현을 결정하는 방법은 PCT/US2016/029878에 개시되어 있다.

[0178] 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법은 치료를 필요로 하는 절제불가능한 또는 전이성 흑색종을 갖는 인간 환자를 PD-1 경로 억제제 및 LAG-3 억제제의 조합으로 치료하는 방법을 포함하며, 여기서 환자는 이전에 항-PD-1 억제제 및/또는 항-PD-L1 억제제로 치료되었다. 특정 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 특정한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 항체이다. 특정 실시양태에서, LAG-3 항체는 BMS-986016이다. 실시양태에서, 흑색종은 LAG-3 발현 종양이다. 특정한 실시양태에서, 흑색종은  $\geq 1\%$ 의 LAG-3 발현을 갖는 LAG-3 발현 종양이다.

[0179] LAG-3 발현의 측정

[0180] 특정 실시양태에서, 본 방법에 대한 LAG-3 억제제/ PD-1 경로 억제제 조합 요법, PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체) 요법, 또는 항-CTLA-4 항체 요법에 적합한 환자를 확인하는 것은 샘플, 예를 들어, 종양 세포 및 종양 침윤 염증 세포를 포함하는 악성 종양 시험 조직 샘플에서 LAG-3 발현을 측정 또는 평가하는 것을 포함한다. 어구 "LAG-3을 발현하는 종양", "LAG-3 발현 종양", "LAG-3 양성 종양", 및 "LAG-3 발현 양성 종양"은 본



원에서 상호교환가능하게 사용되고, LAG-3 발현 종양-침윤 림프구를 포함하는 종양을 포괄한다. 어구의 의미는 본원의 다른 곳에서도 제공된다. LAG-3 발현을 측정 또는 평가하는 방법은 적용가능한 임의의 방법에 의해 달성될 수 있다.

[0181] 한 실시양태에서, LAG-3 발현을 평가하기 위해, 시험 조직 샘플은 요법을 필요로 하는 환자로부터 수득된다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 임의의 임상적으로 관련된 조직 샘플, 예컨대 종양 생검, 핵 생검 조직 샘플, 미세 바늘 흡인물, 또는 체액, 예컨대 혈액, 혈장, 혈청, 림프, 복수액, 낭액 또는 소변의 샘플을 포함한다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 원발성 종양으로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 전이로부터의 것이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 다중 시점에, 예를 들어, 치료 전, 치료 동안, 및/또는 치료 후에 대상체로부터 채취한다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 대상체에서 상이한 위치로부터 채취하며, 예를 들어 원발성 종양으로부터의 샘플 및 원격 위치에서의 전이로부터의 샘플이 있다.

[0182] 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 파라핀-포매 고정 조직 샘플이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 포르말린-고정 파라핀 포매 (FFPE) 조직 샘플이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 신선한 조직 (예를 들어, 종양) 샘플이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 동결된 조직 샘플이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 신선한 동결된 (FF) 조직 (예를 들어, 종양) 샘플이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 유체로부터 단리된 세포이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 순환 종양 세포 (CTC)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 종양-침윤 림프구 (TIL)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 종양 세포 및 종양-침윤 림프구 (TIL)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 순환 림프구를 포함한다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 보관 조직 샘플이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 공지된 진단, 치료 및/또는 결과 병력을 갖는 보관 조직 샘플이다. 일부 실시양태에서, 샘플은 조직의 블록이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 분산된 세포이다. 일부 실시양태에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약  $1 \times 10^6$  개 세포 또는 그 초과이다. 일부 실시양태에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약  $1 \times 10^5$  개 세포이다. 일부 실시양태에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 10,000개 세포이다. 일부 실시양태에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 1,000개 세포이다. 일부 실시양태에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 100개 세포이다. 일부 실시양태에서, 샘플 크기는 약 1개 세포 내지 약 10 세포이다. 일부 실시양태에서, 샘플 크기는 단세포이다.

[0183] 또 다른 실시양태에서, LAG-3 발현의 평가는 시험 조직 샘플을 수득하지 않고 달성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 적합한 환자를 선택하는 것은 (i) 임의로 시험 조직의 암을 갖는 환자로부터 수득된 시험 조직 샘플 (시험 조직 샘플은 종양 세포 및/또는 종양-침윤 염증 세포를 포함함)을 제공하는 것; 및 (ii) 시험 조직 샘플에서 세포 표면 상에 LAG-3을 발현하는 세포의 비율이 미리 결정된 역치 수준보다 더 높다는 평가에 기초하여 시험 조직 샘플에서 세포의 표면 상에 LAG-3을 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.

[0184] 그러나, 시험 조직 샘플에서 LAG-3 발현을 측정하는 것을 포함하는 방법 중 임의의 것에서, 환자로부터 수득된 시험 조직 샘플을 제공하는 것을 포함하는 단계는 임의적인 단계인 것으로 이해되어야 한다. 즉, 특정 실시양태에서, 방법은 이러한 단계를 포함하고, 다른 실시양태에서는, 이러한 단계가 방법에 포함되지 않는다. 또한, 특정 실시양태에서 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 세포를 확인하거나 또는 그의 수 또는 비율을 결정하기 위한 "측정" 또는 "평가" 단계는 LAG-3 발현에 대한 변형적 검정 방법에 의해, 예를 들어 리버스 트랜스크립타제-폴리머라제 연쇄 반응 (RT-PCR) 검정 또는 IHC 검정을 수행함으로써 수행되는 것으로 이해되어야 한다. 특정의 다른 실시양태에서, 어떠한 변형적 단계도 수반되지 않고, LAG-3 발현은, 예를 들어 실험실로부터의 시험 결과 보고를 검토함으로써 평가된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현은 실험실로부터의 면역조직화학 검정의 결과를 검토함으로써 평가된다. 특정 실시양태에서, LAG-3 발현의 평가까지의 및 이를 포함한 방법 단계는 중간 결과를 제공하며, 이는 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제의 조합 요법을 위한 적합한 후보를 선택하는 데 사용하기 위해 의사 또는 다른 건강관리 제공자에게 제공될 수 있다. 특정 실시양태에서, LAG-3 발현의 평가까지의 및 이를 포함한 방법 단계는 중간 결과를 제공하며, 이는 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체) 요법을 위한 적합한 후보를 선택하는 데 사용하기 위해 의사 또는 다른 건강관리 제공자에게 제공될 수 있다. 특정 실시양태에서, LAG-3 발현의 평가까지의 및 이를 포함한 방법 단계는 중간 결과를 제공하며, 이는 항-CTLA-4 항체 요법을 위한 적합한 후보를 선택하는 데 사용하기 위해 의사 또는 다른 건강관리 제공자에게 제공될 수 있다. 특정 실시양태에서, 중간 결과를 제공하는 단계는 의료 진료의 또는 의료 진료의 지시 하에 활동하는 사람에 의해 수행된다. 다른 실시양태에서, 이들 단계는 독립적인 실험실에 의해 수행되거나 또는 독립적인 사람, 예컨대 실험실 기술자에 의해 수행된다.



- [0185] 본 방법 중 임의의 것의 특정 실시양태에서, LAG-3을 발현하는 세포의 비율은 LAG-3 RNA의 존재를 결정하기 위한 검정을 수행함으로써 평가된다. 추가 실시양태에서, LAG-3 RNA의 존재는 RT-PCR, 계내 혼성화 또는 RNase 보호에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 RNA의 존재는 RT-PCR 기반 검정에 의해 검출된다. 일부 실시양태에서, RT-PCR 기반 검정을 점수화하는 것은 미리 결정된 수준에 비해 시험 조직 샘플에서 LAG-3 RNA 발현의 수준을 평가하는 것을 포함한다.
- [0186] 다른 실시양태에서, LAG-3을 발현하는 세포의 비율은 LAG-3 폴리펩티드의 존재를 결정하는 검정을 수행함으로써 평가된다. 추가 실시양태에서, LAG-3 폴리펩티드의 존재는 IHC, 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA), 생체내 영상화, 또는 유동 세포측정법에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 발현은 IHC에 의해 결정된다. 모든 이들 방법의 다른 실시양태에서, LAG-3의 세포 표면 발현은, 예를 들어 IHC 또는 생체내 영상화를 사용하여 검정된다.
- [0187] 실시양태에서, 측정된 바이오마커는 LAG-3, CD4, CD8, FOXP3, CD163 CD68, 및 그의 임의의 조합이다. 실시양태에서, 바이오마커는 본원에 개시된 임의의 검출 방법을 사용하여 측정된다. 다른 실시양태에서, 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 세포의 비율은 유동 세포측정법에 의해 평가된다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법에 의해 검정된 시험 조직 샘플은 종양 침윤 면역 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 혈액 악성종양이고 유동 세포측정법에 의해 검정된 조직 샘플은 말초 혈액 세포를 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법은 멀티플렉스 검정이다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 LAG-3, CD4, CD8, FOXP3, 및 그의 임의의 조합을 포함하는 마커의 발현을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, LAG-3, CD4, CD8, 및 FOXP3는 단일 마커로서 검출된다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD8+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD4+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 FOXP3+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 CD163 및/또는 CD68을 포함하는 마커의 발현을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유동 세포측정법을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 CD163 및/또는 CD68을 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.
- [0188] 본 방법 중 임의의 것의 특정 실시양태에서, 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 세포의 비율은 LAG-3 폴리펩티드의 존재를 검출하는 검정을 수행함으로써 평가된다. 일부 실시양태에서, LAG-3 폴리펩티드의 존재는 면역조직화학 검정에 의해 검출된다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 종양 생검이다. 일부 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 포르말린-고정 파라핀 포매 (FFPE) 샘플이다.
- [0189] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 모노플렉스 검정이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 멀티플렉스 검정이다. 일부 실시양태에서, 멀티플렉스 면역조직화학 검정은 CD4, CD8, FOXP3, CD163, CD68, 또는 그의 임의의 조합의 존재를 검출할 수 있다.
- [0190] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 샘플을 17B4 마우스 항-인간 LAG-3 IgG1 모노클로날 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 샘플을 각각 서열식별번호: 3 및 5에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-LAG-3 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 샘플을 SP346 토끼 항-인간 LAG-3 IgG 모노클로날 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 샘플을 11E3 (노부스바이오(Novusbio)), 874501 (노부스바이오) 또는 EPR4392(2) (앱캠(Abcam)) 항-인간 LAG-3 모노클로날 항체와 접촉시키는 것을 포함한다.
- [0191] 예를 들어, 흑색종 종양 샘플에서, 멜라닌은 조직학적 특색을 가림으로써, 및 면역조직화학 (IHC) 동안 염색을 방해 및/또는 차폐함으로써 조직학적 분석을 방해할 수 있다. 멜라닌은 샘플을 표백함으로써 제거될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Shen & Wu, Appl Immunohistochem Mol Morphol, 23(4): 303-307 (2015); Orchard & Calonje, Am J Dermatopathol, 20(4): 357-61 (1998)]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 샘플을 항-LAG-3 항체와 접촉시키기 전에 멜라닌 표백을 포함한다. 예를 들어, 도 15를 참조한다. 일부 실시양태에서, 멜라닌 표백은 샘플을 묶은 과산화수소 (0.1 내지 30% v/v), 트리클로로이소시아누르산 (TCCA), 과망가니즈산칼륨/옥살산과 접촉시키는 것, 또는 조직 샘플을 탈색 (즉, 그로부터 멜라닌을 제거)하기 위한 다른 전통적인 산화 방법을 포함한다.
- [0192] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 흑색 또는 갈색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화

학 검정은 적색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 청색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 녹색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 자주색 발색원을 사용한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 황색 발색원을 사용한다.

[0193] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 낮은 배율로 점수화된다. 일부 실시양태에서, 낮은 배율은 약 20X이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 높은 배율로 점수화된다. 일부 실시양태에서, 높은 배율은 약 40X이다.

[0194] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 영상 분석 소프트웨어에 의해 점수화된다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 병리학자 시각적 면역 점수에 의해 점수화된다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 수동으로 점수화된다.

[0195] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 면역 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD8+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 CD4+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 FOXP3+ T 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.

[0196] LAG-3 폴리펩티드 국제화는 부분 막/세포질 국제화, 도트 유사 국제화, 핵주위, 및 완전 막/세포질 국제화를 포함한다. 일부 실시양태에서, 부분 막/세포질 LAG-3 국제화를 갖는 세포가 점수화된다. 일부 실시양태에서, 도트-유사 LAG-3 국제화를 갖는 세포가 점수화된다. 일부 실시양태에서, 완전 막/세포질 LAG-3 국제화를 갖는 세포가 점수화된다. 일부 실시양태에서, 핵주위 LAG-3 국제화를 갖는 세포가 점수화된다. 일부 실시양태에서, 임의의 LAG-3 국제화 패턴을 갖는 세포가 점수화된다.

[0197] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 세포에 의해 MHC 부류 II의 발현을 검출하는 것을 추가로 포함하는 멀티플렉스 검정이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 MHC 부류 II를 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 MHC 부류 II를 발현하는 비-면역 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, MHC II 발현 세포의 분포는 종양 샘플에서 불균질하다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 고밀도의 MHC 부류 II 발현 세포를 포함하는 종양 샘플의 영역에서 MHC 부류 II를 발현하는 세포의 비율을 평가하는 것을 포함한다.

[0198] 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정은 종양 침윤 림프구 (TIL)에 의해 CD163 및/또는 CD68의 발현을 검출하는 것을 추가로 포함하는 멀티플렉스 검정이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학 검정을 점수화하는 것은 시험 조직 샘플에서 CD163 및/또는 CD68을 발현하는 TIL의 비율을 평가하는 것을 포함한다.

[0199] 영상화 기술은 암 연구 및 치료에 있어서 중요한 도구를 제공하였다. 양전자 방출 단층촬영 (PET), 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영 (SPECT), 형광 반사 영상화 (FRI), 형광-매개 단층촬영 (FMT), 생물발광 영상화 (BLI), 레이저-스캐닝 공초점 현미경검사 (LSCM) 및 다광자 현미경검사 (MPM)를 포함한, 분자 영상화 시스템에 있어서의 최근의 발전은, 이들 기술이 암 연구에 훨씬 더 많이 사용될 가능성이 있다는 것을 예고할 것이다. 이들 분자 영상화 시스템 중 일부는, 임상가가 종양이 신체 내의 어느 부위에 위치하는지를 볼 수 있을 뿐만 아니라 종양 거동 및/또는 치료 약물에 대한 반응성에 영향을 미치는 생물학적 과정, 구체적 분자 및 세포의 발현 및 활성을 가시화할 수 있도록 한다 (Condeelis and Weissleder, Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2(12):a003848 (2010)). PET의 감도 및 해상도와 연계된 한계 특이성은 이뮤노PET 영상화를 조직 샘플 중 항원의 발현을 모니터링하고 검정하는 데 특히 매력적인 것으로 만든다 (McCabe and Wu, Cancer Biother. Radiopharm. 25(3):253-61 (2010); Olafsen et al., Protein Eng. Des. Sel. 23(4):243-9 (2010)). 본 방법 중 임의의 것의 특정 실시양태에서, LAG-3 발현은 이뮤노PET 영상화에 의해 검정된다. 특정 실시양태에서 이뮤노PET는 지르코늄-89 방사성표지된 항-LAG-3 항체를 사용하여 수행된다. 본 방법 중 임의의 것의 특정 실시양태에서, 시험 조직 샘플에서 LAG-3을 발현하는 세포의 비율은 시험 조직 샘플에서 세포 표면 상의 LAG-3 폴리펩티드의 존재를 결정하는 검정을 수행함으로써 평가된다. 특정 실시양태에서, 시험 조직 샘플은 FFPE 조직 샘플이다. 다른 실시양태에서, LAG-3 폴리펩티드의 존재는 IHC 검정에 의해 결정된다. 추가 실시양태에서, IHC 검정은 자동화 과정을 사용하여 수행된다. 일부 실시양태에서, IHC 검정은 LAG-3 폴리펩티드에 결합하는 항-LAG-3 mAb를 사용하여 수행

된다.

[0200] 자동화 IHC에 의한 LAG-3 발현의 검정

[0201] 본 방법의 한 실시양태에서, 자동화 IHC 방법은 FFPE 조직 시편에서 LAG-3의 발현을 검정하는 데 사용된다. 본 개시내용은 시험 조직 샘플에서 인간 LAG-3 항원의 존재를 검출하거나, 또는 인간 LAG-3 항원의 수준을 정량화하거나 샘플에서 항원을 발현하는 세포의 비율을 정량화하는 방법을 제공하며, 시험 샘플 및 음성 대조군 샘플을, 인간 LAG-3에 특이적으로 결합하는 mAb 또는 그의 부분과 인간 LAG-3 사이에 복합체의 형성을 허용하는 조건 하에 상기 mAb와 접촉시키는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 시험 및 대조군 조직 샘플은 FFPE 샘플이다. 이어서 복합체의 형성이 검출되며, 여기서 시험 샘플과 음성 대조군 샘플 사이의 복합체 형성의 차이는 샘플에서의 인간 LAG-3 항원의 존재를 나타낸다. LAG-3 발현을 정량화하기 위해 다양한 방법이 사용된다.

[0202] 특정한 실시양태에서, 자동화 IHC 방법은 (a) 자동염색기에 올려진 조직 절편을 탈파라핀화 및 재수화시키는 것; (b) 자동염색기에서 항원을 회복시키는 것; (c) 시약을 자동염색기 상에 설정하는 것; 및 (d) 조직 시편에서 내인성 퍼옥시다제를 중화시키는 단계; 슬라이드 상의 비-특이적 단백질-결합 부위를 차단시키는 단계; 슬라이드를 1차 Ab와 함께 인큐베이션하는 단계; 1차 후 차단제와 인큐베이션하는 단계; 1차 후 항체 검출제, 예컨대 검출 효소에 접합될 수 있거나 접합되지 않을 수 있는 또 다른 항체와 인큐베이션하는 단계; 중합제=효소 검출 시약과 인큐베이션하는 단계; 발색원 기질을 부가하고 발색하는 단계; 및 헤마톡실린으로 대조염색하는 단계를 포함하도록 자동염색기를 구동시키는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항원을 회복시키는 것은 임의의 열 기반 항원 회복 장치를 사용하는 것을 포함한다.

[0203] 일부 실시양태에서, 종양 조직 샘플에서 LAG-3 발현을 평가하기 위해, 병리학자는 현미경 하에 각각의 필드 내 LAG-3+ 종양 세포의 수를 검사하고, 양성인 세포의 백분율을 속으로 추정된 다음, 이를 평균내어 최종 백분율에 이르게 한다. 상이한 염색 강도는 0/음성, 1+/약함, 2+/중간, 및 3+/강함으로 규정된다. 전형적으로, 백분율 값은 먼저, 0 및 3+ 버킷에 할당된 다음, 중간 1+ 및 2+ 강도가 고려된다. 고도로 불균질한 조직에 대해서는, 시편이 여러 구역으로 분할되고, 각각의 구역이 개별적으로 점수화된 다음, 백분율 값의 단일 세트에 합해진다. 상이한 염색 강도에 대한 음성 및 양성 세포의 백분율이 각각의 영역으로부터 결정되고, 각각의 구역에 대한 중앙 값이 제공된다. 최종 백분율 값이 하기 각각의 염색 강도 카테고리에 대해 조직에 제공된다: 음성, 1+, 2+ 및 3+. 모든 염색 강도의 합은 100%여야 한다.

[0204] 일부 실시양태에서, 염색은 또한 종양-침윤 염증 세포 예컨대 대식세포 및 림프구에서 평가된다. 대식세포 및 림프구는 LAG-3 염색에 대해 평가되고, 모든 샘플에서 각각의 세포 카테고리에 대해 양성 또는 음성인 것으로만 기록된다. 염색은 또한, 외부/내부 종양 면역 세포 지정에 따라 특징화된다. "내부"는 면역 세포가 종양 세포들 중에 물리적으로 삽입되어 있지 않으면서, 종양 조직 내에 및/또는 종양 영역의 경계 상에 있는 것을 의미한다. "외부"는 면역 세포가 결합 조직과 회합된 주변부 또는 임의의 회합된 인접 조직에서 발견되면서, 종양과 어떠한 물리적 회합도 없는 것을 의미한다.

[0205] 이들 점수화 방법의 특정 실시양태에서, 샘플은 독립적으로 작업하는 2명 이상의 병리학자에 의해 점수화되고, 점수는 후속적으로 통합된다. 특정의 다른 실시양태에서, 양성 및 음성 세포의 확인은 적절한 소프트웨어를 사용하여 점수화된다.

[0206] 히스토점수 (H-점수)는 IHC 데이터의 보다 정량적인 척도로서 사용된다. 히스토점수는 하기와 같이 계산된다:

[0207] 
$$\text{히스토점수} = [(\% \text{ 종양} \times 1 (\text{낮은 강도})) + (\% \text{ 종양} \times 2 (\text{중간 강도}))$$

[0208] 
$$+ (\% \text{ 종양} \times 3 (\text{높은 강도}))]$$

[0209] 히스토점수를 결정하기 위해, 병리학자는 시편 내에서 각각의 강도 카테고리에 있는 염색된 세포의 백분율을 추정한다. 대부분의 바이오마커의 발현이 불균질하기 때문에, 히스토점수는 전체 발현의 보다 참된 표현이다. 최종 히스토점수 범위는 0 (최소 점수, 발현 없음) 내지 300 (최대 점수, 강하고 포괄적인 발현)이다.

[0210] 3. LAG-3 억제제

[0211] 한 측면에서, 본 발명은 악성 종양의 치료에서 LAG-3 억제제를 사용하는 방법을 특색으로 한다. 본원에 사용된 LAG-3 억제제는 LAG-3 결합제 및 가용성 LAG-3 폴리펩티드를 포함한다. LAG-3 결합제는 LAG-3에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다.

[0212] 일부 실시양태에서, LAG-3 억제제는 LAG-3-결합제, 예를 들어 항-LAG-3 항체이다. 일부 실시양태에서, LAG-3

억제제는 가용성 LAG-3 폴리펩티드, 예를 들어, MHC 부류 II에 결합할 수 있는 LAG-3-Fc 융합 폴리펩티드이다.

- [0213] 본 발명에서 사용하기에 적합한 항-인간-LAG-3 항체 (또는 그로부터 유래된 VH/VL 도메인)는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 관련 기술분야에서 인식되는 항-LAG-3 항체가 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, LAG-3 억제제는 항-LAG-3 이중특이적 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 LAG-3 및 PD-1에 결합한다.
- [0214] 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 PCT/US13/48999에 기재된 바와 같은, 각각 서열식별번호: 1 및 2에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 BMS-986016, 또는 그의 항원 결합 단편 및 변이체이다.
- [0215] 다른 실시양태에서, 항체는 BMS-986016의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 가변 영역을 갖는다. 따라서, 한 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 3에 제시된 서열을 갖는 BMS-986016의 VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 5에 제시된 서열을 갖는 BMS-986016의 VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 7, 8 및 9에 제시된 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 각각 서열식별번호: 10, 11 및 12에 제시된 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 3 및/또는 서열식별번호: 5에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및/또는 VL 영역을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 4 및/또는 서열식별번호: 6에 제시된 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 (VH) 및/또는 경쇄 가변 (VL) 영역을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와 결합에 대해 경쟁하고/거나 LAG-3 상에서 그와 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 아미노산 서열 PGHPLAPG (서열식별번호: 14)를 포함하는 인간 LAG-3의 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 아미노산 서열 HPAAPSSW (서열식별번호: 15) 또는 PAAPSSWG (서열식별번호: 16)를 포함하는 인간 LAG-3의 에피토프에 결합한다.
- [0216] 또 다른 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와 적어도 약 90% 가변 영역 아미노산 서열 동일성 (예를 들어, 서열식별번호: 3 또는 서열식별번호: 5와 적어도 약 90%, 95% 또는 99% 가변 영역 동일성)을 갖는다.
- [0217] 일부 실시양태에서, 관련 기술분야에서 인식되는 항-LAG-3 항체가 본 발명의 치료 방법에 사용될 수 있다. 예를 들어, US2011/0150892 A1에 기재되어 있으며 모노클로날 항체 25F7 (또한 "25F7" 및 "LAG-3.1"로 공지됨)로 지칭되는 항-인간 LAG-3 항체가 사용될 수 있다. 사용될 수 있는 다른 관련 기술분야에서 인식되는 항-LAG-3 항체는 US 2011/007023에 기재된 IMP731 (H5L7BW), WO2016028672에 기재된 MK-4280 (28G-10), 문헌 [Journal for ImmunoTherapy of Cancer, (2016) Vol. 4, Supp. Supplement 1 Abstract Number: P195]에 기재된 REGN3767, WO2017/019894에 기재된 BAP050, IMP-701 (LAG-525), Sym022, TSR-033, MGD013, BI754111, FS118, AVA-017 및 GSK2831781을 포함한다. 청구된 발명에 유용한 이들 및 다른 항-LAG-3 항체는 예를 들어 WO2016/028672, WO2017/106129, WO2017/062888, WO2009/044273, WO2018/069500, WO2016/126858, WO2014/179664, WO2016/200782, WO2015/200119, WO2017/019846, WO2017/198741, WO2017/220555, WO2017/220569, WO2018/071500, WO2017/015560, WO2017/025498, WO2017/087589, WO2017/087901, WO2018/083087, WO2017/149143, WO2017/219995, US2017/0260271, WO2017/086367, WO2017/086419, WO2018/034227, 및 WO2014/140180에서 찾아볼 수 있다. 한 실시양태에서, LAG-3 억제제는 IMP321 (에프틸라기 모드 알파)이다. 각각의 이들 참고문헌의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0218] LAG-3에의 결합에 대해 상기 참조된 관련 기술분야에서 인식되는 항체 중 임의의 것과 경쟁하는 항체가 또한 사용될 수 있다.
- [0219] 특정 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 LAG-3 발현을 결정하는 데 사용된다. 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 포르말린-고정, 파라핀-포매 (FFPE) 조직 시편에서 LAG-3에 결합하는 그의 능력에 대해 선택된다. 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 동결된 조직에서 LAG-3에 결합할 수 있다. 추가 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 막 결합된, 세포질, 및/또는 가용성 형태의 LAG-3을 구별할 수 있다.
- [0220] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법에 따라 LAG-3 발현을 검정, 검출, 및/또는 정량화하기에 유용한 항-LAG-3 항체는 17B4 마우스 IgG1 항-인간 LAG-3 모노클로날 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 예를 들어, 문헌 [J. Matsuzaki, et al.; PNAS 107, 7875 (2010)]을 참조한다.
- [0221] 4. PD-1 경로 억제제
- [0222] 한 측면에서, 본 발명은 악성 종양의 치료에서 PD-1 억제제를 사용하는 방법을 특색으로 한다. 본원에 사용된 "PD-1 경로 억제제"는 PD-1 결합제, PD-L1 결합제 및 PD-L2 결합제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. PD-1 결합제는 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다. PD-L1 및 PD-L2 결합제는 PD-L1 및/또는 PD-L2에 특이



적으로 결합하는 항체, 뿐만 아니라 PD-L1 및/또는 PD-L2에 결합하는 가용성 PD-1 폴리펩티드를 포함한다.

[0223] 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 PD-1-결합제, 예를 들어 항-PD-1 항체이다. 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 PD-L1-결합제, 예를 들어, 항-PD-L1 항체이다. 일부 실시양태에서, PD-1 경로 억제제는 PD-L2-결합제, 예를 들어 항-PD-L2 항체이다. 추가 실시양태에서, PD-L1-결합제는 가용성 PD-1 폴리펩티드, 예를 들어, PD-L1에 결합할 수 있는 PD-1-Fc 융합 폴리펩티드이다. 추가 실시양태에서, PD-L2-결합제는 가용성 PD-1 폴리펩티드, 예를 들어, PD-L2에 결합할 수 있는 PD-1-Fc 융합 폴리펩티드이다.

[0224] 본 발명에서 사용하기에 적합한 항-인간-PD-1 항체 (또는 그로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 관련 기술 분야에 널리 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 관련 기술분야에서 인식되는 항-PD-1 항체가 사용될 수 있다. 예를 들어, WO 2006/121168에 기재된 모노클로날 항체 5C4 (본원에서 니볼루맙 또는 BMS-936558로 지칭됨), 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 및 5F4가 사용될 수 있다. 다른 공지된 PD-1 항체는 WO 2008/156712에 기재된 램브롤리주맙 (MK-3475), 및 WO 2012/145493에 기재된 AMP-514를 포함한다. 추가의 공지된 항-PD-1 항체 및 다른 PD-1 억제제는 WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335 및 WO 2011/161699에 기재된 것들을 포함하며, 이는 본원에 참조로 포함된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 REGN2810이다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 PDR001이다. 또 다른 공지된 항-PD-1 항체는 피딜리주맙 (CT-011)이다.

[0225] 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 니볼루맙 ("옵디보®"로도 공지됨; 이전에 5C4, BMS-936558, MDX-1106, 또는 ONO-4538로 지정됨)은 PD-1 리간드 (PD-L1 및 PD-L2)와의 상호작용을 선택적으로 막음으로써 항종양 T-세포 기능의 하향-조절을 차단하는 완전 인간 IgG4 (S228P) PD-1 면역 체크포인트 억제제 항체이다 (미국 특허 번호 8,008,449; Wang et al., Cancer Immunol Res. 2(9):846-56 (2014)). 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 니볼루맙과 교차-경쟁한다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 니볼루맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙과 동일한 CDR을 갖는다.

[0226] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 각각 서열식별번호: 17 및 18에 제시된 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄, 또는 그의 항원 결합 단편 및 변이체를 포함한다.

[0227] 다른 실시양태에서, 항체는 니볼루맙의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 가변 영역을 갖는다. 따라서, 한 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 19에 제시된 서열을 갖는 니볼루맙의 VH의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인 및 서열식별번호: 21에 제시된 서열을 갖는 니볼루맙의 VL의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 23, 24, 및 25에 제시된 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인 및 각각 서열식별번호: 26, 27, 및 28에 제시된 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 19 및/또는 서열식별번호: 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 VH 및/또는 VL 영역을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 각각 서열식별번호: 20 및/또는 서열식별번호: 22에 제시된 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 (VH) 및/또는 경쇄 가변 (VL) 영역을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 상기 언급된 항체와 결합에 대해 경쟁하고/거나 PD-1 상에서 그와 동일한 에피토프에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와 적어도 약 90% 가변 영역 아미노산 서열 동일성을 갖는다 (예를 들어, 서열식별번호: 19 또는 서열식별번호: 21과 적어도 약 90%, 95% 또는 99% 가변 영역 동일성을 가짐).

[0228] 고친화도로 PD-1에 특이적으로 결합하는 인간 모노클로날 항체 (HuMAb)는 미국 특허 번호 8,008,449 및 8,779,105에 개시되어 있다. 다른 항-PD-1 mAb는 예를 들어, 미국 특허 번호 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 및 8,354,509, 및 PCT 공개 번호 WO 2012/145493에 기재되어 있으며, 이는 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 하기 특징 중 1개 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) 비아코어 (Biacore) 바이오센서 시스템을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정시,  $1 \times 10^{-7}$  M 이하의  $K_D$ 로 인간 PD-1에 결합함; (b) 인간 CD28, CTLA-4 또는 ICOS에 실질적으로 결합하지 않음; (c) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식을 증가시킴; (d) MLR 검정에서 인터페론- $\gamma$  생산을 증가시킴; (e) MLR 검정에서 IL-2 분비를 증가시킴; (f) 인간 PD-1 및 시노물구스 원숭이 PD-1에 결합함; (g) PD-1에 대한 PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합을 억제함; (h) 항원-특이적 기억 반응을 자극함; (i) 항체 반응을 자극함; 및 (j) 생체내 종양 세포 성장을 억제함. 본 발명에 유용한 항-PD-1 항체는 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고 상기 특징들 중 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 또는 적어도 5개를 나타내는 mAb를 포함한다. 이들 특징 중 1개 이상을 나타내는 항-PD-1 항체는 미국 특허 번호 8,008,449, 8,779,105, 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 및 8,354,509, 및 PCT 공개 번호 WO 2012/145493에 개시되어 있으며, 이는 본원에 참조로 포함된다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 램브롤리주맙이다. 램브롤리주맙은 인간 세포 표면 수용체 PD-1 (프로그램화된 사멸-1 또는 프로그램화된

세포 사멸-1)에 대해 지시된 인간화 모노클로날 IgG4 (S228P) 항체이다. 캄브롤리주맵은 예를 들어 미국 특허 번호 8,354,509 및 8,900,587에 기재되며, 이는 본원에 참조로 포함된다.

- [0229] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 캄브롤리주맵과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 캄브롤리주맵과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 캄브롤리주맵과 동일한 CDR을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 캄브롤리주맵이다. 캄브롤리주맵 ("키트루다®", 람브롤리주맵, 및 MK-3475로도 공지됨)은 인간 세포 표면 수용체 PD-1 (프로그래밍된 사멸-1 또는 프로그래밍된 세포 사멸-1)에 대해 지시된 인간화 모노클로날 IgG4 항체이다. 캄브롤리주맵은 예를 들어 미국 특허 번호 8,354,509 및 8,900,587에 기재되어 있고; 또한 <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=695789> (최종 액세스: 2014년 12월 14일)를 참조한다. 캄브롤리주맵은 재발성 또는 불응성 흑색종의 치료를 위해 FDA에 의해 승인받았다.
- [0230] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 MEDI0608과 교차-경쟁한다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 MEDI0608과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 MEDI0608과 동일한 CDR을 갖는다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 모노클로날 항체인 MEDI0608 (이전에 AMP-514)이다. MEDI0608은 예를 들어 미국 특허 번호 8,609,089B2 또는 <http://www.cancer.gov/drugdictionary?cdrid=756047> (최종 액세스 2014년 12월 14일)에 기재되어 있다.
- [0231] 특정 실시양태에서, 제1 항체는 항-PD-1 길항제이다. 항-PD-1 길항제의 한 예는 B7-DC Fc 융합 단백질인 AMP-224이다. AMP-224는 미국 공개 번호 2013/0017199 또는 <http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug?cdrid=700595> (최종 액세스 2015년 7월 8일)에 논의되어 있다.
- [0232] 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 BGB-A317과 교차-경쟁한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 단편은 BGB-A317과 동일한 에피토프에 결합한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 BGB-A317과 동일한 CDR을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 인간화 모노클로날 항체인 BGB-A317이다. BGB-A317은 미국 공개 번호 2015/0079109에 기재되어 있다.
- [0233] 일부 실시양태에서, 항체는 이전에 PD-1에 결합하는 것으로 보고된 항체이나 상이한 표적에 결합하는 것으로 여겨지는 피달리주맵 (CT-011)이다. 피달리주맵은 미국 특허 번호 8,686,119 B2 또는 WO 2013/014668 A1에 기재되어 있다.
- [0234] 특정 실시양태에서, 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맵과 교차-경쟁하거나, 또는 그와 동일한 인간 PD-1의 에피토프 영역에 결합하는 항체는 mAb이다. 인간 대상체에 대한 투여를 위해, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체, 또는 인간화 또는 인간 항체일 수 있다. 이러한 키메라, 인간화 또는 인간 mAb는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다.
- [0235] 다른 항-PD-1 모노클로날 항체는 예를 들어 미국 특허 번호 6,808,710, 7,488,802, 8,168,757 및 8,354,509, 미국 공개 번호 2016/0272708, 및 PCT 공개 번호 WO 2012/145493, WO 2008/156712, WO 2015/112900, WO 2012/145493, WO 2015/112800, WO 2014/206107, WO 2015/35606, WO 2015/085847, WO 2014/179664, WO 2017/020291, WO 2017/020858, WO 2016/197367, WO 2017/024515, WO 2017/025051, WO 2017/123557, WO 2016/106159, WO 2014/194302, WO 2017/040790, WO 2017/133540, WO 2017/132827, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/106061, WO 2017/19846, WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, 및 WO 2017/133540에 기재되어 있으며, 이들 각각은 그 전문이 참조로 포함된다.
- [0236] 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵 (또한 옵디보®, 5C4, BMS-936558, MDX-1106 및 ONO-4538로 공지됨), 캄브롤리주맵 (머크(Merck); 또한 키트루다®, 람브롤리주맵, 및 MK-3475로 공지됨; WO2008/156712 참조), PDR001 (노파르티스(Novartis); WO 2015/112900 참조), MEDI-0680 (아스트라제네카(AstraZeneca); 또한 AMP-514로 공지됨; WO 2012/145493 참조), 세미플리맵 (레게네론(Regeneron); 또한 REGN-2810으로 공지됨; WO 2015/112800 참조), JS001 (타이저우 준시 파마(TAIZHOU JUNSHI PHARMA); 문헌 [Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)] 참조), BGB-A317 (베이진(Beigene); WO 2015/35606 및 US 2015/0079109 참조), INCSHR1210 (지양수 헨루리 메디신(Jiangsu Hengrui Medicine); 또한 SHR-1210으로 공지됨; WO 2015/085847; 문헌 [Si-Yang Liu et al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)] 참조), TSR-042 (테사로 바이오 파마슈티칼(Tesaro Biopharmaceutical); 또한 ANB011로 공지됨; WO2014/179664 참조), GLS-010 (욱시/하얼빈 글로리아 파마슈티칼스(Wuxi/Harbin Gloria Pharmaceuticals); 또한 WBP3055로 공지됨; 문헌 [Si-Yang Liu et

al., J. Hematol. Oncol. 10:136 (2017)] 참조), AM-0001 (아르모(Armo)), STI-1110 (소렌토 테라퓨틱스(Sorrento Therapeutics); WO 2014/194302 참조), AGEN2034 (아제누스(Agenus); WO 2017/040790 참조), MGA012 (마크로제닉스(Macrogenics), WO 2017/19846 참조), 및 IBI308 (이노벤프(Innovent); WO 2017/024465, WO 2017/025016, WO 2017/132825, 및 WO 2017/133540 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0237] 개시된 발명의 조성물에 유용한 항-PD-1 항체는 또한 상기 항체의 항원 결합 부분을 포함한다. 항체의 항원 결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것은 충분히 입증되었다. 용어 항체의 "항원 결합 부분" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 (i)  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  및  $C_H1$  도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디설피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인  $F(ab')_2$  단편; (iii)  $V_H$  및  $C_H1$  도메인으로 이루어진 Fd 단편; 및 (iv) 항체의 단일 아암의  $V_L$  및  $V_H$  도메인으로 이루어진 Fv 단편을 포함한다.

[0238] 개시된 방법에서 사용가능한 항-PD-1 항체는 또한, 인간 PD-1에 특이적으로 결합하고, 인간 PD-1에의 결합에 대해 본원에 개시된 임의의 항-PD-1 항체, 예를 들어 니볼루맙과 교차-경쟁하는 단리된 항체를 포함하며 (예를 들어, 미국 특허 번호 8,008,449 및 8,779,105; WO 2013/173223 참조), 이는 본원에 참조로 포함된다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 본원에 기재된 항-PD-1 항체 중 임의의 것, 예를 들어 니볼루맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 항체가 항원에의 결합에 대해 교차-경쟁하는 능력은 이들 모노클로날 항체가 항원의 동일한 에피토프 영역에 결합하고 그러한 특정한 에피토프 영역에 대한 다른 교차-경쟁 항체의 결합을 입체적으로 방해한다는 것을 나타낸다. 이들 교차-경쟁 항체는 PD-1의 동일한 에피토프 영역에 대한 그의 결합에 있어서 참조 항체, 예를 들어 니볼루맙의 경우와 매우 유사한 기능적 특성을 갖는 것으로 예상된다. 교차-경쟁 항체는 표준 PD-1 결합 검정, 예컨대 비아코어 분석, ELISA 검정 또는 유동 세포측정법에서 니볼루맙과 교차-경쟁하는 그의 능력에 기초하여 용이하게 확인될 수 있다 (예를 들어, WO 2013/173223 참조).

[0239] 개시된 방법에서 사용하기에 적합한 항-PD-1 항체는, PD-1에 높은 특이성 및 친화도로 결합하고, PD-L1 및/또는 PD-L2의 결합을 차단하고, PD-1 신호전달 경로의 면역억제 효과를 억제하는 항체이다. 본원에 개시된 조성물 또는 방법 중 임의의 것에서, 항-PD-1 "항체"는 PD-1 수용체에 결합하며, 리간드 결합을 억제하고 면역계를 상향조절하는 데 있어서 전체 항체의 경우와 유사한 기능적 특성을 나타내는 항원 결합 부분 또는 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 인간 PD-1에의 결합에 대해 니볼루맙과 교차-경쟁한다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 키메라, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체 또는 그의 부분이다. 특정 실시양태에서, 항체는 인간화 항체이다. 다른 실시양태에서, 항체는 인간 항체이다. IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형의 항체가 사용될 수 있다.

[0240] 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 인간 IgG1 또는 IgG4 이소형의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정의 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 IgG4 중쇄 불변 영역의 서열은 힌지 영역에서 세린 잔기를, IgG1 이소형 항체 내의 상응하는 위치에서 통상적으로 발견되는 프롤린 잔기로 대체한 S228P 돌연변이를 함유한다. 니볼루맙에 존재하는 이 돌연변이는 내인성 IgG4 항체와의 Fab 아암 교환을 막는 반면, 야생형 IgG4 항체와 연관된 Fc 수용체를 활성화시키는 데 있어서 낮은 친화도를 유지한다 (Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56). 또 다른 실시양태에서, 항체는 인간 카파 또는 람다 불변 영역인 경쇄 불변 영역을 포함한다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 mAb 또는 그의 항원 결합 부분이다. 항-PD-1 항체의 투여를 포함하는 본원에 기재된 치료 방법 중 임의의 것의 특정 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 팜브롤리주맙이다. 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 미국 특허 번호 8,008,449에 기재된 인간 항체 17D8, 2D3, 4H1, 4A11, 7D3 및 5F4로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 MEDI0608 (이전에 AMP-514), AMP-224 또는 BGB-A317이다.

[0241] 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 이중특이적 항체이다. 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 PD-1 및 LAG-3 둘 다에 결합하는 이중특이적 항체이다.

[0242] 5. 항-PD-L1 항체

[0243] 특정 실시양태에서, 본 출원은 항-PD-L1 항체를 PD-1 경로 억제제로서 사용하는 것을 포괄한다. 한 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 PD-L1 수용체, 즉, PD-1의 그의 리간드 PD-L1에 대한 결합을 억제한다.

[0244] 본 발명에서 사용하기에 적합한 항-인간-PD-L1 항체 (또는 그로부터 유래된  $VH$  및/또는  $VL$  도메인)는 관련 기술 분야에 널리 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 관련 기술분야에서 인식되는 항-PD-L1 항체가 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 7,943,743에 개시된 인간 항-PD-L1 항체가 사용될 수 있다.

이러한 항-PD-L1 항체는 3G10, 12A4 (또한 BMS-936559로도 지칭됨), 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 및 13G4를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙 (테센트릭 또는 RG7446) (예를 들어, 문헌 [Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000. Abstract; U.S. Patent No. 8,217,149] 참조), 두르발루맙 (임핀지 또는 MEDI4736) (Khleif (2013) In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802), 아벨루맙 (바벤시오)이다. 사용될 수 있는 다른 관련 기술분야에서 인식되는 항-PD-L1 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 7,635,757 및 8,217,149, 미국 공개 번호 2009/0317368, 및 PCT 공개 번호 WO 2011/066389 및 WO 2012/145493에 기재된 것을 포함하며, 이는 본원에 참조로 포함된다. PD-L1에의 결합에 대해 이들 관련 분야에서 인식되는 항체 또는 억제제와 경쟁한 항체가 또한 사용될 수 있다. 본 개시내용의 방법에 유용한 항-PD-L1 항체의 예는 미국 특허 번호 9,580,507에 개시된 항체를 포함한다. 미국 특허 번호 9,580,507에 개시된 항-PD-L1 인간 모노클로날 항체는 하기 특징 중 1개 이상을 나타내는 것으로 입증되었다: (a) 비아코어 바이오센서 시스템을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정시, 인간 PD-L1에  $1 \times 10^{-7}$  M 이하의 KD로 결합함; (b) 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에서 T-세포 증식을 증가시킴; (c) MLR 검정에서 인터페론- $\gamma$  생산을 증가시킴; (d) MLR 검정에서 IL-2 분비를 증가시킴; (e) 항체 반응을 자극함; 및 (f) T 세포 이펙터 세포 및/또는 수지상 세포에 대한 T 조절 세포의 효과를 역전시킴. 본 발명에서 사용가능한 항-PD-L1 항체는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하고 상기 특징 중 적어도 1개, 일부 실시양태에서, 적어도 5개를 나타내는 모노클로날 항체를 포함한다.

[0245] 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559 (이전에 12A4 또는 MDX-1105)이다 (예를 들어, 미국 특허 번호 7,943,743; WO 2013/173223 참조). 다른 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 MPDL3280A (또한 RG7446 및 아테졸리주맙으로 공지됨) (예를 들어, 문헌 [Herbst et al. 2013 J Clin Oncol 31(suppl):3000]; 미국 특허 번호 8,217,149 참조), MEDI4736 (Khleif, 2013, In: Proceedings from the European Cancer Congress 2013; September 27-October 1, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 802), 또는 MSB0010718C (또한 아벨루맙으로 불림; US 2014/0341917 참조)이다. 특정 실시양태에서, 인간 PD-L1에의 결합에 대해 상기 언급된 PD-L1 항체와 교차-경쟁하거나, 또는 그와 동일한 인간 PD-L1의 에피토프 영역에 결합하는 항체는 mAb이다. 인간 대상체에 대한 투여를 위해, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체일 수 있거나, 또는 인간화 또는 인간 항체일 수 있다. 이러한 키메라, 인간화 또는 인간 mAb는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 단리될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559 (또한 12A4, MDX-1105로 공지됨; 예를 들어, 미국 특허 번호 7,943,743 및 WO 2013/173223 참조), 아테졸리주맙 (로슈; 또한 테센트릭®; MPDL3280A, RG7446으로 공지됨; US 8,217,149 참조; 또한, 문헌 [Herbst et al. (2013) J Clin Oncol 31(suppl):3000] 참조), 두르발루맙 (아스트라제네카; 또한 임핀지™, MEDI-4736으로 공지됨; WO 2011/066389 참조), 아벨루맙 (화이자; 또한 바벤시오®, MSB-0010718C로 공지됨; WO 2013/079174 참조), STI-1014 (소렌토; WO2013/181634 참조), CX-072 (시툼엑스(Cytomx); WO2016/149201 참조), KN035 (3D 메드/알파맙(3D Med/Alphamab); 문헌 [Zhang et al., Cell Discov. 7:3 (March 2017)] 참조), LY3300054 (일라이 릴리 캄파니(Eli Lilly Co.); 예를 들어, WO 2017/034916 참조), 및 CK-301 (체크포인트 테라퓨틱스(Checkpoint Therapeutics); 문헌 [Gorelik et al., AACR:Abstract 4606 (Apr 2016)] 참조)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0246] 특정 실시양태에서, PD-L1 항체는 아테졸리주맙 (테센트릭®)이다. 아테졸리주맙은 완전 인간화 IgG1 모노클로날 항-PD-L1 항체이다.

[0247] 특정 실시양태에서, PD-L1 항체는 두르발루맙 (임핀지™)이다. 두르발루맙은 인간 IgG1 카파 모노클로날 항-PD-L1 항체이다.

[0248] 특정 실시양태에서, PD-L1 항체는 아벨루맙 (바벤시오®)이다. 아벨루맙은 인간 IgG1 람다 모노클로날 항-PD-L1 항체이다.

[0249] 다른 실시양태에서, 항-PD-L1 모노클로날 항체는 28-8, 28-1, 28-12, 29-8, 5H1, 및 그의 임의의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0250] 또한 개시된 방법에서 사용가능한 항-PD-L1 항체는, 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하고, 인간 PD-L1에의 결합에 대해 본원에 개시된 임의의 항-PD-L1 항체, 예를 들어 아테졸리주맙, 두르발루맙 및/또는 아벨루맙과 교차-경쟁하는 단리된 항체를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 중 임의의 것, 예를 들어 아테졸리주맙, 두르발루맙 및/또는 아벨루맙과 동일한 에피토프에 결합한다. 항체가 항원에의 결합에 대해 교차-경쟁하는 능력은 이들 항체가 항원의 동일한 에피토프 영역에 결합하고 그러한 특정한 에피토프 영역에 대한 다른 교차-경쟁 항체의 결합을 입체적으로 방해한다는 것을 나타낸다. 이들 교차-경쟁 항체는



PD-L1의 동일한 에피토프 영역에 대한 그의 결합에 있어서 참조 항체, 예를 들어 아테졸리주맙 및/또는 아벨루맙의 경우와 매우 유사한 기능적 특성을 갖는 것으로 예상된다. 교차-경쟁 항체는 표준 PD-L1 결합 검정, 예컨대 비아코어 분석, ELISA 검정 또는 유동 세포측정법에서 아테졸리주맙 및/또는 아벨루맙과 교차-경쟁하는 그의 능력에 기초하여 용이하게 확인될 수 있다 (예를 들어, WO 2013/173223 참조).

[0251] 특정 실시양태에서, 인간 PD-L1에의 결합에 대해 아테졸리주맙, 두르발루맙 및/또는 아벨루맙과 교차-경쟁하거나, 또는 그와 동일한 인간 PD-L1 항체의 에피토프 영역에 결합하는 항체는 모노클로날 항체이다. 인간 대상체에 대한 투여를 위해, 이들 교차-경쟁 항체는 키메라 항체, 조작된 항체, 또는 인간화 또는 인간 항체이다. 이러한 키메라, 조작된, 인간화 또는 인간 모노클로날 항체는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 제조 및 분리될 수 있다.

[0252] 개시된 발명의 방법에서 사용가능한 항-PD-L1 항체는 또한 상기 항체의 항원 결합 부분을 포함한다. 항체의 항원 결합 기능이 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것은 충분히 입증되었다.

[0253] 개시된 방법 또는 조성물에서 사용하기에 적합한 항-PD-L1 항체는, PD-L1에 높은 특이성 및 친화도로 결합하고, PD-1의 결합을 차단하고, PD-1 신호전달 경로의 면역억제 효과를 억제하는 항체이다. 본원에 개시된 조성물 또는 방법 중 임의의 것에서, 항-PD-L1 "항체"는, PD-L1에 결합하며 수용체 결합을 억제하고 면역계를 상향-조절하는 데 있어서 전체 항체의 경우와 유사한 기능적 특성을 나타내는 항원 결합 부분 또는 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-PD-L1 항체 또는 그의 항원 결합 부분은 인간 PD-L1에의 결합에 대해 아테졸리주맙, 두르발루맙 및/또는 아벨루맙과 교차-경쟁한다.

[0254] 본 발명에 유용한 항-PD-L1 항체는 본원에 개시된  $V_H$  및/또는  $V_L$  서열 중 하나 이상을 갖는 항체로부터 출발하여 조작된 항체를 포함하며, 이러한 조작된 항체는 출발 항체로부터 변경된 특성을 가질 수 있다. 항-PD-L1 항체는 본 발명의 변형된 항-PD-1 항체의 조작을 위해 상기 기재된 바와 같은 다양한 변형에 의해 조작될 수 있다.

[0255] 6. 항-CTLA-4 항체

[0256] 특정 실시양태에서, 본 출원은 항-CTLA-4 항체의 사용을 포괄한다. 한 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 CTLA-4에 결합하고 이를 억제한다. 일부 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙 (예르보이), 트레멜리무맙 (티실리무맙; CP-675,206), AGEN-1884 또는 ATOR-1015이다.

[0257] 7. 면역 체크포인트 억제제

[0258] 한 측면에서, 본 발명은 악성 종양의 치료에서 PD-1 억제제를 면역 체크포인트 억제제와 조합하여 사용하는 방법을 특색으로 한다. 임의의 관련 기술분야에서 인식되는 면역 체크포인트 억제제가 사용될 수 있다.

[0259] 특정 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제, CD80 길항제, CD86 길항제, Tim-3 길항제, TIGIT 길항제, CD20 길항제, CD96 길항제, IDO1 길항제, STING 길항제, GARP 길항제, CD40 길항제, A2aR 길항제, CEACAM1 (CD66a) 길항제, CEA 길항제, CD47 길항제 PVRIG 길항제, TDO 길항제, VISTA 길항제 또는 KIR 길항제이다.

[0260] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제이다. 특정 실시양태에서, CTLA-4 길항제는 항-CTLA-4 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙 (예르보이), 트레멜리무맙 (티실리무맙; CP-675,206), AGEN-1884 또는 ATOR-1015이다.

[0261] 한 실시양태에서, CTLA-4 길항제는 가용성 CTLA-4 폴리펩티드이다. 한 실시양태에서, 가용성 CTLA-4 폴리펩티드는 아바타셉트 (오렌시아(Orencia)), 벨라타셉트 (뉴로직스(Nulojix)), RG2077 또는 RG-1046이다. 또 다른 실시양태에서, CTLA-4 길항제는 세포 기반 요법이다. 일부 실시양태에서, CTLA-4 길항제는 항-CTLA-4 mAb RNA/GITRL RNA-형질감염된 자가 수지상 세포 백신 또는 항-CTLA-4 mAb RNA-형질감염된 자가 수지상 세포 백신이다.

[0262] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 KIR 길항제이다. 특정 실시양태에서, KIR 길항제는 항-KIR 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-KIR 항체는 리틸루맙 (1-7F9, BMS-986015, IPH 2101) 또는 IPH4102이다.

[0263] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 TIGIT 길항제이다. 한 실시양태에서, TIGIT 길항제는 항-TIGIT 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 특정 실시양태에서, 항-TIGIT 항체는 BMS-986207, AB 154, COM902 (CGEN-15137) 또는 OMP-313M32이다.

- [0264] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 Tim-3 길항제이다. 특정 실시양태에서, Tim-3 길항제는 항-Tim-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-Tim-3 항체는 TSR-022 또는 LY3321367이다.
- [0265] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 IDO1 길항제이다. 또 다른 실시양태에서, IDO1 길항제는 인독시모드 (NLG8189; 1-메틸-D-TRP), 에파카도스타트 (INCB-024360, INCB-24360), KHK2455, PF-06840003, 나복시모드 (RG6078, GDC-0919, NLG919), BMS-986205 (F001287) 또는 피롤리딘-2,5-디온 유도체이다.
- [0266] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 STING 길항제이다. 특정 실시양태에서, STING 길항제는 2' 또는 3'-모노-플루오로 치환된 시클릭-디-뉴클레오타이드; 2'3'-디-플루오로 치환된 혼합된 연결 2',5' - 3',5' 시클릭-디-뉴클레오타이드; 2'-플루오로 치환된, 비스-3',5' 시클릭-디-뉴클레오타이드; 2',2"-디F-Rp,Rp,비스-3',5' 시클릭-디-뉴클레오타이드; 또는 플루오린화 시클릭-디-뉴클레오타이드이다.
- [0267] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CD20 길항제이다. 일부 실시양태에서, CD20 길항제는 항-CD20 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 한 실시양태에서, 항-CD20 항체는 리툭시맙 (리툭산(RITUXAN); IDEC-102; IDEC-C2B8), ABP 798, 오파투무맙 또는 오비누투주맙이다.
- [0268] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CD80 길항제이다. 특정 실시양태에서, CD80 길항제는 항-CD80 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 한 실시양태에서, 항-CD80 항체는 갈릭시맙 또는 AV 1142742이다.
- [0269] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 GARP 길항제이다. 일부 실시양태에서, GARP 길항제는 항-GARP 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 특정 실시양태에서, 항-GARP 항체는 ARGX-115이다.
- [0270] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CD40 길항제이다. 특정 실시양태에서, CD40 길항제는 항-CD40 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 일부 실시양태에서, 항-CD40 항체는 BMS3h-56, 루카투무맙 (HCD122 및 CHIR-12.12), CHIR-5.9 또는 다세투주맙 (huS2C6, PRO 64553, RG 3636, SGN 14, SGN-40)이다. 또 다른 실시양태에서, CD40 길항제는 가용성 CD40 리간드 (CD40-L)이다. 한 실시양태에서, 가용성 CD40 리간드는 융합 폴리펩티드이다. 한 실시양태에서, 가용성 CD40 리간드는 CD40-L/FC2 또는 단량체 CD40-L이다.
- [0271] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 A2aR 길항제이다. 일부 실시양태에서, A2aR 길항제는 소분자이다. 특정 실시양태에서, A2aR 길항제는 CPI-444, PBF-509, 이스트라데필린 (KW-6002), 프렐라테난트 (SCH420814), 토자데난트 (SYN115), 비파데난트 (BIIB014), HTL-1071, ST1535, SCH412348, SCH442416, SCH58261, ZM241385 또는 AZD4635이다.
- [0272] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CEACAM1 길항제이다. 일부 실시양태에서, CEACAM1 길항제는 항-CEACAM1 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 한 실시양태에서, 항-CEACAM1 항체는 CM-24 (MK-6018)이다.
- [0273] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CEA 길항제이다. 한 실시양태에서, CEA 길항제는 항-CEA 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 특정 실시양태에서, 항-CEA 항체는 세르구투주맙 아무날류킨 (RG7813, RO-6895882) 또는 RG7802 (RO6958688)이다.
- [0274] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CD47 길항제이다. 일부 실시양태에서, CD47 길항제는 항-CD47 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 특정 실시양태에서, 항-CD47 항체는 HuF9-G4, CC-90002, TTI-621, ALX148, NI-1701, NI-1801, SRF231 또는 Effi-DEM이다.
- [0275] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 PVRIG 길항제이다. 특정 실시양태에서, PVRIG 길항제는 항-PVRIG 항체 또는 그의 항원 결합 단편이다. 한 실시양태에서, 항-PVRIG 항체는 COM701 (CGEN-15029)이다.
- [0276] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 TDO 길항제이다. 한 실시양태에서, TDO 길항제는 4-(인돌-3-일)-피라졸 유도체, 3-인돌 치환된 유도체, 또는 3-(인돌-3-일)-피리딘 유도체이다. 또 다른 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 이중 IDO 및 TDO 길항제이다. 한 실시양태에서, 이중 IDO 및 TDO 길항제는 소분자이다.
- [0277] 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 VISTA 길항제이다. 일부 실시양태에서, VISTA 길항제는 CA-170 또는 JNJ-61610588이다.
- [0278] 8. 제약 조성물
- [0279] 인간 환자에게 투여하기에 적합한 제약 조성물은 전형적으로 비경구 투여를 위해, 예를 들어 액체 담체 중에 제제화되거나, 또는 정맥내 투여를 위한 액체 용액 또는 현탁액으로의 재구성에 적합하다.
- [0280] 일반적으로, 이러한 조성물은 전형적으로 제약상 허용되는 담체를 포함한다. 본원에 사용된 용어 "제약상 허용

되는"은 동물, 특히 인간에서의 사용에 대해 정부 감독 기관에 의해 승인되었거나 또는 미국 약전 또는 또 다른 일반적으로 인식된 약전에 열거되어 있다는 것을 의미한다. 용어 "담체"는 화합물과 함께 투여되는 희석제, 아주반트, 부형제 또는 비히클을 지칭한다. 이러한 제약 담체는 멸균 액체, 예컨대 물, 및 석유, 동물성, 식물성 또는 합성 기원의 것들을 포함한 오일, 예컨대 땅콩 오일, 대두 오일, 미네랄 오일, 참깨 오일, 글리세롤 폴리 에틸렌 글리콜 리시놀레에이트 등일 수 있다. 물 또는 수성 염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액이 담체로서, 특히 주사액 (예를 들어, 항-LAG-3 및/또는 항-PD-1 항체를 포함함)을 위해 사용될 수 있다. 비경구 투여를 위한 액체 조성물은 주사 또는 연속 주입에 의한 투여를 위해 제제화될 수 있다. 주사 또는 주입에 의한 투여 경로는 정맥내, 복강내, 근육내, 척수강내 및 피하를 포함한다. 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-1 항체는 정맥내로 (예를 들어, 개별 제제로 또는 함께 (동일한 제제로 또는 개별 제제로)) 투여된다.

[0281] 9. 환자 집단

[0282] 본원에 개시된 면역요법, 예를 들어, LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체), PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체), 항-CTLA-4 항체, 또는 LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체) 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)의 조합을 사용하여 인간 환자에서 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양 및 혈액 악성종양)을 치료하는 임상 방법이 본원에 제공된다.

[0283] 본 발명의 방법을 사용하여 치료될 수 있는 암 및/또는 악성 종양의 예는 간암, 간세포성 암종 (HCC), 골암, 췌장암, 피부암, 구강암, 두경부암, 유방암, 폐암, 소세포 폐암, NSCLC, 피부 또는 안내 악성 흑색종, 신암, 자궁암, 난소암, 결장직장암, 결장암, 직장암, 항문부암, 위암, 고환암, 자궁암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 두경부 편평 세포 암종 (SCCHN), 비-호지킨 림프종, 식도암, 소장암, 내분비계암, 갑상선암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 음경암, 소아기 고형 종양, 림프구성 림프종, 방광암, 신장암 또는 요관암, 신우 암종, 중추 신경계 (CNS) 신 생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척수축 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피양암, 편평 세포암, 석면에 의해 유발된 것을 포함한 환경적으로 유발된 암, 혈액 악성종양, 예컨대 예를 들어 다발성 골수종, B-세포 림프종, 호지킨 림프종/원발성 종격 B-세포 림프종, 비-호지킨 림프종, 급성 골수성 림프종, 만성 골수 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 여포성 림프종, 미만성 대 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 면역모세포성 대세포 림프종, 전구체 B-림프모구성 림프종, 외투 세포 림프종, 급성 림프모구성 백혈병, 균상 식육종, 역형성 대세포 림프종, T-세포 림프종 및 전구체 T-림프모구성 림프종, 및 상기 암의 임의의 조합을 포함한다. 본 발명은 또한 전이성 암의 치료에 적용가능하다. 실시양태에서, 암은 신세포 암종 (RCC), 위/위식도 접합부 암종, 비소세포 폐 암종 (NSCLC), 흑색종, 두경부 편평 세포 암종 (SCCHN), 간세포성 암종 또는 요로상피 암종이다.

[0284] 일부 실시양태에서, 흑색종은 절제불가능한 또는 전이성 흑색종이다. 실시양태에서, 환자는 이전에 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체로 치료되었다. 특정 실시양태에서, 종양은 LAG-3 발현 종양이다. 특정한 실시양태에서, 종양은  $\geq 1\%$ 의 LAG-3 발현을 갖는 LAG-3 발현 종양이다.

[0285] 한 실시양태에서, 인간 환자는 절제불가능한 전이성 흑색종을 앓고 있으며, 이전에 항-PD-1 또는 항-PD-L1 전이성 억제제로 치료되었다. 특정한 실시양태에서, 인간 환자는 절제불가능한 전이성 흑색종을 앓고 있으며, 이전에 항-PD-1 또는 항-PD-L1 전이성 억제제로 치료되었고, 종양은 LAG-3 발현 종양이다. 한 실시양태에서, 인간 환자는 절제불가능한 전이성 흑색종을 앓고 있으며, 이전에 항-PD-1 또는 항-PD-L1 전이성 억제제로 치료되었고, 종양은 LAG-3 발현 종양이다. 특정 실시양태에서, 인간 환자는 절제불가능한 전이성 흑색종을 앓고 있으며, 이전에 항-PD-1 또는 항-PD-L1 전이성 억제제로 치료되었고, 종양은  $\geq 1\%$ 의 LAG-3 발현을 갖는 LAG-3 발현 종양이다.

[0286] 한 실시양태에서, 인간 환자는 면역 체크포인트 억제제를 사용한 치료에 불응성인 악성 종양을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 PD-1 억제제를 사용한 치료에 불응성인 악성 종양을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 항-PD-1 항체를 사용한 치료에 불응성인 악성 종양을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료에 불응성인 악성 종양을 앓고 있다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 위암, 신암, HCC, SCCHN 또는 NSCLC이다.

[0287] 한 실시양태에서, 인간 환자는 흑색종을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 면역 체크포인트 억제제를 사용한 치료에 불응성인 흑색종을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 PD-1 억제제를 사용한 치료에 불응성인 흑색종을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 항-PD-1 항체를 사용한 치료에 불응성인 흑색종을 앓고 있다. 또 다른 실시양태에서, 환자는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료에 불응성인 흑색종을 앓고 있다.

- [0288] 한 실시양태에서, 인간 환자는 흑색종, 위암, 신암, HCC, SCCHN 또는 NSCLC를 앓고 있다. 한 실시양태에서, 인간 환자는 흑색종을 앓고 있다.
- [0289] 한 실시양태에서, 인간 환자는 NSCLC 또는 바이러스-관련 암 (예를 들어, 인간 유두종 바이러스 (HPV)-관련 종양) 또는 위 선암종을 앓고 있다. 특정한 실시양태에서, HPV-관련 종양은 HPV+ 두경부암 (HNC)이다. 또 다른 특정한 실시양태에서, 위 선암종은 엡스타인-바르 바이러스 (EBV) 감염과 연관된다.
- [0290] 치료 전, 그 동안 또는 그 후에 상기 기재된 임상 속성들 중 1가지 이상에 대해 환자를 시험하거나 선택할 수 있다.
- [0291] 본원에 기재된 방법에 따라, 악성 종양을 시험하여 LAG-3 발현을 결정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 따라 치료된 악성 종양은 LAG-3 양성 종양이다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성 흑색종이다. 또 다른 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성 위암, 신암, HCC, SCCHN 또는 NSCLC이다.
- [0292] 일부 실시양태에서, LAG-3 양성 흑색종 종양에서의 세포의 총수의 적어도 약 0.5%, 적어도 약 0.75%, 적어도 약 1%, 적어도 약 1.25%, 적어도 약 1.5%, 적어도 약 1.75%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3% 세포가 LAG-3을 발현한다.
- [0293] 일부 실시양태에서, 악성 종양의 세포의 총수의 적어도 약 0.5%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 또는 적어도 약 30%가 LAG-3을 발현한다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 흑색종, 위암, 신암, HCC, SCCHN 또는 NSCLC이다.
- [0294] 본원에 기재된 방법에 따라, 악성 종양을 시험하여 LAG-3 및 PD-L1 발현을 결정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 따라 치료된 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 양성 종양이다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 양성 흑색종이다. 또 다른 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 양성 위암, 신암, HCC, SCCHN 또는 NSCLC이다.
- [0295] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 방법에 따라 치료된 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 종양이다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 흑색종이다. 또 다른 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성 PD-L1 음성 위암, 신암, HCC, SCCHN 또는 NSCLC이다.
- [0296] 10. 면역요법
- [0297] 한 측면에서, 본원에 제공된 면역요법은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양 또는 혈액 악성종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한, LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체), 및 억제 면역 수용체 (예를 들어, 그의 천연 리간드에 결합시, 활성화, 예컨대 세포독성 활성을 억제/중화하는 수용체), 특히 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체를 차단하는 또 다른 항체의 투여를 수반한다. 또 다른 측면에서, 본원에 제공된 면역요법은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양 또는 혈액 악성종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체의 투여를 수반한다. 또 다른 측면에서, 본원에 제공된 면역요법은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양 또는 혈액 악성종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한 항-CTLA-4 항체의 투여를 수반한다.
- [0298] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한, 규정된 임상 투여 요법에 따라 조합된 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체를 제공한다. 특정한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 BMS-986016이다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 BMS-936558이다. 또 다른 실시양태에서, 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 유효 반응)을 제공하도록 조정된다.
- [0299] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한, 규정된 임상 투여 요법에 따라 조합된 항-LAG-3 항체 및 항-PD-L1 항체를 제공한다. 특정한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 BMS-986016이다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559이다. 또 다른 실시양태에서, 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 유효 반응)을 제공하도록 조정된다.
- [0300] 또 다른 측면에서, 본 발명은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한, 규정된 임상 투여 요법에 따른 항-LAG-3 항체를 제공한다. 특정한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 BMS-986016이다. 또 다른 실시양태에서, 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 유효 반응)을 제공하도록 조정된다.



- [0301] 또 다른 측면에서, 본 발명은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한, 규정된 임상 투여 요법에 따른 항-PD-1 항체를 제공한다. 특정한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 BMS-936558이다. 또 다른 실시양태에서, 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 유효 반응)을 제공하도록 조정된다.
- [0302] 또 다른 측면에서, 본 발명은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한, 규정된 임상 투여 요법에 따른 항-PD-L1 항체를 제공한다. 특정한 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559이다. 또 다른 실시양태에서, 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 유효 반응)을 제공하도록 조정된다.
- [0303] 또 다른 측면에서, 본 발명은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한, 규정된 임상 투여 요법에 따른 항-CTLA-4 항체를 제공한다. 특정한 실시양태에서, 항-CTLA4 항체는 이필리무맙 (예르보이)이다. 특정한 실시양태에서, 항-CTLA4 항체는 트레멜리무맙 (티실리무맙; CP-675,206), AGEN-1884 또는 ATOR-1015이다. 또 다른 실시양태에서, 투여 요법은 최적의 목적하는 반응 (예를 들어, 유효 반응)을 제공하도록 조정된다.
- [0304] 또 다른 측면에서, 본원에 제공된 면역요법은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양 또는 혈액 악성 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한 항-PD-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제의 투여를 수반한다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 BMS-936558이다. 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제, CD80 길항제, CD86 길항제, Tim-3 길항제, TIGIT 길항제, CD20 길항제, CD96 길항제, IDO1 길항제, STING 길항제, GARP 길항제, CD40 길항제, A2aR 길항제, CEACAM1 (CD66a) 길항제, CEA 길항제, CD47 길항제 PVRIG 길항제, TDO 길항제, VISTA 길항제 또는 KIR 길항제이다.
- [0305] 또 다른 측면에서, 본원에 제공된 면역요법은 악성 종양 (예를 들어, 진행성 불응성 고형 종양 또는 혈액 악성 종양)을 갖는 대상체를 치료하기 위한 항-PD-L1 항체 및 면역 체크포인트 억제제의 투여를 수반한다. 한 실시양태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559이다. 한 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 CTLA-4 길항제, CD80 길항제, CD86 길항제, Tim-3 길항제, TIGIT 길항제, CD20 길항제, CD96 길항제, IDO1 길항제, STING 길항제, GARP 길항제, CD40 길항제, A2aR 길항제, CEACAM1 (CD66a) 길항제, CEA 길항제, CD47 길항제 PVRIG 길항제, TDO 길항제, VISTA 길항제 또는 KIR 길항제이다.
- [0306] 본원에 사용된, 보조 또는 조합 투여 (공투여)는 동일한 또는 상이한 투여 형태의 화합물의 동시 투여, 또는 화합물의 개별 투여 (예를 들어, 순차적 투여)를 포함한다. 따라서, 예를 들어, 항-LAG-3 및 항-PD-1 항체는 단일 제제로 동시에 투여될 수 있다. 대안적으로, 항-LAG-3 및 항-PD-1 항체는 개별 투여를 위해 제제화될 수 있고, 공동으로 또는 순차적으로 (예를 들어, 하나의 항체는 제2 항체의 투여 전 약 30분 내에 투여됨)로 투여된다.
- [0307] 예를 들어, 항-PD-1 항체가 먼저 투여되고, 이어서 (예를 들어, 즉시 이어서) 항-LAG-3 항체가 투여될 수 있거나, 또는 그 반대일 수 있다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 항-LAG-3 항체의 투여 전에 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 항-LAG-3 항체의 투여 후에 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 공동시에 투여된다. 이러한 동시 또는 순차적 투여는 바람직하게는 둘 다의 항체가 치료되는 환자에 동시에 존재하도록 한다.
- [0308] 11. 치료 프로토콜
- [0309] 한 측면에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 환자에게 유효량의 LAG3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체)를 투여하는 것을 포함한다.
- [0310] 일부 실시양태에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어, 환자에게 유효량의 항-LAG-3 항체, 예컨대 서열식별번호: 3에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인 및 서열식별번호: 5에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것을 투여하는 것을 포함한다.
- [0311] 여기서 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 적어도 4회 용량의 항-LAG-3 항체가 약 1, 3, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150, 16, 180, 200, 240 또는 280 mg의 균일 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 4회 용량의 항-LAG-3 항체가 0.01, 0.03, 0.25, 0.1, 0.3, 1 또는 3, 5, 8 또는 10 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다.

- [0312] 한 측면에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 환자에게 유효량의 PD1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD1 항체)를 투여하는 것을 포함한다.
- [0313] 일부 실시양태에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어, 환자에게 유효량의 항-PD-1 항체, 예컨대 서열식별번호: 19에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인 및 서열식별번호: 21에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것을 투여하는 것을 포함하며, 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 적어도 4회 용량의 항-PD-1 항체가 약 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 또는 280 mg의 균일 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 4회 용량의 항-PD-1 항체가 0.1, 0.3, 1, 3, 5, 8 또는 10 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다.
- [0314] 한 측면에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 환자에게 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다.
- [0315] 일부 실시양태에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어, 환자에게 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함하며, 여기서 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 적어도 4회 용량의 항-CTLA-4 항체는 약 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 또는 280 mg의 균일 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 4회 용량의 항-CTLA-4 항체가 0.1, 0.3, 1, 3, 5, 8 또는 10 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다.
- [0316] 한 측면에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 환자에게 유효량의 각각의 LAG3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체) 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)를 투여하는 것을 포함한다.
- [0317] 일부 실시양태에서, 인간 환자에서 악성 종양을 치료하기에 적합한 치료 프로토콜은 예를 들어 환자에게 유효량의 각각의
- [0318] (a) 항-LAG-3 항체, 예컨대 서열식별번호: 3에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인 및 서열식별번호: 5에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것,
- [0319] (b) 항-PD-1 항체, 예컨대 서열식별번호: 19에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인 및 서열식별번호: 21에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것
- [0320] 을 투여하는 것을 포함하며,
- [0321] 여기서 방법은 적어도 하나의 투여 주기를 포함하며, 여기서 주기는 8주 기간이며, 여기서 적어도 하나의 주기 각각에 대해, 적어도 4회 용량의 항-LAG-3 항체가 약 1, 3, 10, 20, 50, 80, 100, 130, 150, 16, 180, 200, 240 또는 280 mg의 균일 용량으로 투여되고, 적어도 4회 용량의 항-PD-1 항체가 약 50, 80, 100, 130, 150, 180, 200, 240 또는 280 mg의 균일 용량으로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 4회 용량의 항-LAG-3 항체가 0.01, 0.03, 0.25, 0.1, 0.3, 1 또는 3, 5, 8 또는 10 mg/kg 체중의 용량으로 투여되고, 4회 용량의 항-PD-1 항체가 0.1, 0.3, 1, 3, 5, 8 또는 10 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다.
- [0322] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 하기 용량으로 투여된다:
- [0323] (a) 3 mg의 항-LAG-3 항체 및 80 mg의 항-PD-1 항체;
- [0324] (b) 3 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체;
- [0325] (c) 20 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체;
- [0326] (d) 80 mg의 항-LAG-3 항체 및 160 mg의 항-PD-1 항체;
- [0327] (e) 80 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체;
- [0328] (f) 160 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체; 또는
- [0329] (g) 240 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체.
- [0330] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 20 mg의 항-LAG-3 항체 및 80 mg의 항-PD-1 항체의 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 종양은 폐암이다.
- [0331] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 20 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체의 용량

으로 투여된다.

- [0332] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 80 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체의 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 종양은 흑색종 (예를 들어, 항-PD1/PD-L1 항체 유경험 흑색종 또는 1차 흑색종 치료), RCC (예를 들어, IO 나이브 RCC), NSCLC (예를 들어, 항-PD1/PD-L1 항체 유경험 NSCLC), 위암 (예를 들어, IO 나이브 위암), HCC (예를 들어, IO 나이브 HCC), NSCLC (예를 들어, NSCLC의 1차 치료), 또는 SCCHN (예를 들어, IO 나이브 SCCHN)이다.
- [0333] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 240 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체의 용량으로 투여된다.
- [0334] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 160 mg의 항-LAG-3 항체 및 240 mg의 항-PD-1 항체의 용량으로 투여된다. 한 실시양태에서, 종양은 흑색종 (예를 들어, 항-PD1/PD-L1 항체 유경험 흑색종 또는 1차 흑색종 치료), RCC (예를 들어, IO 나이브 RCC), NSCLC (예를 들어, 항-PD1/PD-L1 항체 유경험 NSCLC), 위암 (예를 들어, IO 나이브 위암), HCC (예를 들어, IO 나이브 HCC), NSCLC (예를 들어, NSCLC의 1차 치료), 또는 SCCHN (예를 들어, IO 나이브 SCCHN)이다. 또 다른 실시양태에서, 종양은 호지킨 림프종 (예를 들어, 선행 IO 치료된 호지킨 림프종); DLBCL, PD-1/PD-L1 나이브 호지킨 림프종 또는 PD-1/PD-L1 진행성/불응성 호지킨 림프종이다.
- [0335] 또 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체는 하기 용량으로 투여된다:
- [0336] (a) 0.3 mg/kg의 항-LAG-3 항체 및 1 mg/kg의 항-PD-1 항체;
- [0337] (b) 0.3 mg/kg의 항-LAG-3 항체 및 3 mg/kg의 항-PD-1 항체;
- [0338] (c) 0.25 mg/kg의 항-LAG-3 항체 및 3 mg/kg의 항-PD-1 항체;
- [0339] (d) 1 mg/kg의 항-LAG-3 항체 및 3 mg/kg의 항-PD-1 항체; 또는
- [0340] (e) 3 mg/kg의 항-LAG-3 항체 및 3 mg/kg의 항-PD-1 항체.
- [0341] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 및/또는 항-PD-1 항체의 용량은 체중당, 예를 들어 mg/kg 체중으로 계산된다. 또 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 및/또는 항-PD-1 항체의 용량은 균일-고정 용량이다. 또 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 및/또는 항-PD-1 항체의 용량은 시간 경과에 따라 달라진다. 예를 들어, 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-1 항체는 처음에 고용량으로 투여될 수 있고, 시간 경과에 따라 저하될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 및/또는 항-PD-1 항체는 처음에 저용량으로 투여되고, 시간 경과에 따라 증가한다.
- [0342] 또 다른 실시양태에서, 투여되는 항-LAG-3 및/또는 항-PD-1 항체의 양은 각각의 용량에 대해 일정하다. 또 다른 실시양태에서, 투여되는 항체의 양은 각각의 용량에서 달라진다. 예를 들어, 항체의 유지 (또는 후속) 용량은 먼저 투여되는 부하 용량보다 더 높거나 또는 그와 동일할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 항체의 유지 용량은 부하 용량보다 더 낮거나 또는 그와 동일할 수 있다.
- [0343] 또 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 및/또는 항-PD-1 항체는 정맥내 투여를 위해 제제화된다. 한 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 각각의 주기의 제1일, 제15일, 제29일 및 제43일에 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 각각의 주기의 제1일, 제15일, 제29일 및 제43일에 투여된다.
- [0344] 다른 실시양태에서, 항-LAG-3 및/또는 항-PD-1 항체는 약 1주에 1회, 약 매주 1회 또는 2주마다 3회, 약 1개월에 1회, 또는 임상 이익이 관찰되는 한, 또는 완전 반응, 확인된 진행성 질환 또는 관리불가능한 독성이 있을 때까지 투여된다.
- [0345] 또 다른 실시양태에서, 투여 주기는 8주이고, 이는 필요에 따라 반복될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 치료는 최대 12회의 주기로 이루어진다.
- [0346] 또 다른 실시양태에서, 4회 용량의 항-PD-1 항체가 8주 주기마다 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 4회 용량의 항-LAG-3 항체가 8주 주기마다 투여된다.
- [0347] 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 및 항-LAG-3 항체는 1차 치료 (예를 들어, 처음 또는 제1 치료)로서 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 항-PD-1 항체 및 항-LAG-3 항체는 2차 치료 (예를 들어, 처음 또는 제1 치료 후, 예컨대 재발 후 및/또는 제1 치료가 실패한 후의 것)로서 투여된다.
- [0348] 한 실시양태에서, 본 발명은 절제불가능한 또는 전이성 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에

PD-1 억제제로 치료되었다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 절제불가능한 또는 전이성 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에 PD-L1 억제제로 치료되었다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 절제불가능한 또는 전이성 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에 PD-1 억제제로 치료되었고, 여기서 흑색종은 LAG-3을 발현한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 절제불가능한 또는 전이성 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법에 관한 것이며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에 PD-L1 억제제로 치료되었고, 여기서 흑색종은 LAG-3을 발현한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 PD-1 경로 억제제 또는 PD-L1 경로 억제제를 사용한 치료 중에 또는 그 후에 진행된 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에 항-PD-1 억제제로 치료되었다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 PD-1 경로 억제제 또는 PD-L1 경로 억제제를 사용한 치료 중에 또는 그 후에 진행된 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에 항-PD-L1 억제제로 치료되었다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 PD-1 경로 억제제 또는 PD-L1 경로 억제제를 사용한 치료 중에 또는 그 후에 진행된 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에 항-PD-L1 억제제로 치료되었고, 여기서 흑색종은 LAG-3을 발현한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 PD-1 경로 억제제 또는 PD-L1 경로 억제제를 사용한 치료 중에 또는 그 후에 진행된 흑색종을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 및 PD-1 경로 억제제를 투여하는 것을 포함하고; 여기서 환자는 이전에 항-PD-L1 억제제로 치료되었고, 여기서 흑색종은 LAG-3을 발현한다. 일부 실시양태에서, 흑색종의 LAG-3 발현은  $\geq 1\%$ 이다. 특정한 실시양태에서, 투여되는 PD-1 경로 억제제는 항-PD-1 항체이다. 한 실시양태에서, PD-1 항체는 니볼루맙이다. 특정 실시양태에서, LAG-3 억제제는 LAG-3 항체이다. 한 실시양태에서, LAG-3 항체는 BMS-986016이다. 한 실시양태에서, 투여되는 PD-1 경로 억제제는 항-PD-L1 항체이다.

[0349] 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 BMS-986016이고 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 MK-4280이고 항-PD-1 항체는 팜브롤리주맙이다. 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 REGN3767이고 항-PD-1 항체는 REGN2810이다. 한 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 LAG525 (국제 공개 번호 W02015/138920)이고 항-PD-1 항체는 PDR001이다.

[0350] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것을 특색으로 하며, 여기서 항-PD-1 항체는 항-PD-L1 또는 항-PD-L2 항체에 의해 대체되거나 또는 그와 조합된다.

[0351] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것을 특색으로 하며, 여기서 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)를 투여하는 것은 환자의 T 세포를 활성화시킨다. 일부 실시양태에서, 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)를 투여하는 것은 환자의 T 세포에 의한 활성화 마커의 발현을 유도한다. 환자의 T 세포에 의한 활성화 마커의 발현은 유동 세포측정법을 사용하여 환자 샘플, 예를 들어, 말초 림프구 또는 종양-침윤 림프구를 분석함으로써 검출될 수 있다.

[0352] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것을 특색으로 하며, 여기서 항-LAG-3 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 투여하는 것은 환자의 T 세포 상에 LAG-3 수용체의 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%의 점유율을 생성한다. 일부 실시양태에서, T 세포는 CD8<sup>+</sup> T 세포이다. 일부 실시양태에서, T 세포는 종양 침윤 T 세포이다.

[0353] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 언급된 실시양태 중 임의의 것을 특색으로 하며, 여기서 치료 프로토콜은 적어도 1종의 추가의 치료제의 투여를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 추가의 치료제는 화학요법제이다. 일부 실시양태에서, 적어도 1종의 추가의 치료제는 면역 체크포인트 억제제이다.

[0354] 12. 결과



[0355] 표적 병변과 관련하여, 요법에 대한 반응은 하기를 포함할 수 있다:

완전 반응 (CR) (RECIST V1.1)	모든 표적 병변의 소멸. 임의의 병리학적 림프절 (표적이든 비-표적이든)은 짧은 축의 <10 mm로의 감소를 가져야 한다.
부분 반응 (PR) (RECIST V1.1)	기준선 합 직경을 기준으로, 표적 병변의 직경의 합의 적어도 30% 감소.
진행성 질환 (PD) (RECIST V1.1)	연구에서의 최소 합 (이는 기준선 합이 연구에서 최소인 경우 그것을 포함함)을 기준으로, 표적 병변의 직경의 합의 적어도 20% 증가. 20%의 상대 증가에 더하여, 합은 또한 적어도 5 mm의 무수 증가를 나타내어야 한다. (주: 1개 이상의 새로운 병변의 출현이 또한 진행으로 간주됨).
안정한 질환 (SD) (RECIST V1.1)	연구 동안의 최소 합 직경을 기준으로, PR에 해당되기에 수축이 충분하지 않고 PD에 해당되기에 증가가 충분하지 않은 것.
면역-관련 완전 반응 (irCR) (irRECIST)	모든 표적 병변의 소멸. 임의의 병리학적 림프절 (표적이든 비-표적이든)은 짧은 축의 <10 mm로의 감소를 가져야 한다.
면역-관련 부분 반응 (irPR) (irRECIST)	기준선 합 직경을 기준으로, 표적 병변 및 모든 새로운 측정가능한 병변의 직경의 합의 적어도 30% 감소 (즉, 중앙 부담의 백분을 변화). 주: 새로운 측정가능한 병변의 출현은 전체 중앙 부담에 포함되지만, 직경의 합이 최저점과 비교하여 $\geq 20\%$ 만큼 증가할 때까지는 자동적으로 진행성 질환으로서 해당되지 않는다.
면역-관련 진행성 질환 (irPD) (irRECIST)	연구에서의 최소 합 (이는 기준선 합이 연구에서 최소인 경우 그것을 포함함)을 기준으로, 중앙 부담 (즉 표적 병변, 및 임의의 새로운 측정가능한 병변의 합)의 적어도 20% 증가. 20%의 상대 증가에 더하여, 합은 또한 적어도 5 mm의 무수 증가를 나타내어야 한다. 진행성 질환에 대한 면역-관련 기준을 사용한 중앙 평가는 새로운 측정가능한 병변의 기여를 포함한다. 평가당 중앙 부담의 각각의 순 백분율 변화는 이전의 및 새로운 병변 둘 다의 그들이 나타내는 바와 같은 크기 및 성장 동역학을 설명한다.
면역-관련 안정한 질환 (irSD) (irRECIST)	연구 동안의 최소 합 직경을 기준으로, irPR에 해당되기에 수축이 충분하지 않고 irPD에 해당되기에 증가가 충분하지 않은 것.

[0356]

[0357] 비-표적 병변과 관련하여, 요법에 대한 반응은 하기를 포함할 수 있다:

완전 반응 (CR) (RECIST V1.1)	모든 비-표적 병변의 소멸. 모든 림프절은 크기가 비-병리학적이야 한다 (<10 mm 짧은 축).
비-CR/비-PD (RECIST V1.1)	1개 이상의 비-표적 병변(들)의 지속.
진행성 질환 (PD) (RECIST V1.1)	기준 비-표적 병변의 <i>평백한 진행</i> 1개 이상의 새로운 병변의 출현이 또한 진행으로 간주된다.
면역-관련 완전 반응 (irCR) (irRECIST)	모든 비-표적 병변의 소멸. 모든 림프절은 크기가 비-병리학적이야 한다 (<10 mm 짧은 축).
면역-관련 진행성 질환 (irPD) (irRECIST)	비-표적 병변(들)의 수 또는 크기의 증가는 중앙 부담이 20%만큼 증가하지 않는 한/증가할 때까지는 (즉 표적 병변 및 임의의 새로운 측정가능한 병변의 최저점에서의 직경의 합이 요구량만큼 증가함) 진행성 질환을 구성하지 않는다. 비-표적 병변은 안정한 질환 및 부분 반응의 정의 내인 것으로 간주되지 않는다.

[0358]

[0359] 본원에 개시된 방법에 따라 치료된 환자는 바람직하게는 암의 적어도 1종의 징후에서의 개선을 경험한다. 한 실시양태에서, 개선은 측정가능한 중앙 병변의 양 및/또는 크기의 감소에 의해 측정된다. 또 다른 실시양태에서, 병변은 흉부 X선 또는 CT 또는 MRI 필름 상에서 측정될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 세포학 또는 조직학을 사용하여 요법에 대한 반응성을 평가할 수 있다.

[0360]

한 실시양태에서, 치료된 환자는 완전 반응 (CR), 부분 반응 (PR), 안정한 질환 (SD), 면역-관련 완전 반응 (irCR), 면역-관련 부분 반응 (irPR) 또는 면역-관련 안정한 질환 (irSD)을 나타낸다. 또 다른 실시양태에서, 치료된 환자는 중앙 수축 및/또는 성장 속도의 감소, 즉 중앙 성장의 억제를 경험한다. 또 다른 실시양태에서,

원치 않는 세포 증식이 감소되거나 또는 억제된다. 또 다른 실시양태에서, 하기 중 1개 이상이 발생할 수 있다: 암 세포의 수가 감소될 수 있음; 종양 크기가 감소될 수 있음; 말초 기관 내로의 암 세포 침윤이 억제되거나, 지연되거나, 늦춰지거나, 또는 정지될 수 있음; 종양 전이가 늦춰지거나 억제될 수 있음; 종양 성장이 억제될 수 있음; 종양 재발이 방지되거나 지연될 수 있음; 암과 연관된 증상 중 1종 이상이 어느 정도 경감될 수 있음.

[0361] 다른 실시양태에서, 본원에 제공된 방법 중 임의의 것에 따른 유효량의 항-LAG-3 항체, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA-4 항체, 또는 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체의 조합, 또는 항-PD-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제의 조합의 투여는 종양 크기의 감소, 시간 경과에 따라 출현하는 전이 병변 수의 감소, 완전 완화, 부분 완화 또는 안정한 질환으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 치료 효과를 생성한다.

[0362] 또 다른 실시양태에서, 치료 방법은 (i) 치료 전에 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 단계, (ii) 치료를 위한 LAG-3 양성 종양을 선택하는 단계, (iii) 치료 전에 LAG-3 양성으로 확인된 종양을 치료하는 단계, 또는 (iv) 그의 임의의 조합을 포함하지 않는 치료 방법에 의해 달성되는 것보다 더 우수한 임상 이익률 ( $CBR=CR+PR+SD \geq 6$ 개월)을 생성한다. 다른 실시양태에서, 임상 이익률의 개선은 (i) 치료 전에 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 단계, (ii) 치료를 위한 LAG-3 양성 종양을 선택하는 단계, (iii) 치료 전에 LAG-3 양성으로 확인된 종양을 치료하는 단계, 또는 (iv) 그의 임의의 조합을 포함하지 않는 치료 방법과 비교하여 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 그 초과이다.

[0363] 또 다른 실시양태에서, 치료 방법은 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%의 객관적 반응률 ( $ORR=CR+PR$ )을 생성한다. 한 실시양태에서, 치료 방법은 적어도 약 15%의 객관적 반응률을 생성하며, 여기서 악성 종양은 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료에 저항성인 LAG-3 양성 흑색종이다. 일부 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 3$ 개월,  $\geq 6$ 개월,  $\geq 12$ 개월 또는  $\geq 18$ 개월이다. 한 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 6$ 개월이다. 일부 실시양태에서,  $\geq 6$ 개월의 반응 지속기간을 갖는 환자의 빈도는 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 100%이다.

[0364] 또 다른 실시양태에서, 치료 방법은 (i) 치료 전에 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 단계, (ii) 치료를 위한 LAG-3 양성 종양을 선택하는 단계, (iii) 치료 전에 LAG-3 양성으로 확인된 종양을 치료하는 단계, 또는 (iv) 그의 임의의 조합을 포함하지 않는 치료 방법에 의해 달성되는 것보다 더 우수한 객관적 반응률 ( $ORR=CR+PR$ )을 생성한다. 다른 실시양태에서, 객관적 반응률의 개선은 (i) 치료 전에 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 단계, (ii) 치료를 위한 LAG-3 양성 종양을 선택하는 단계, (iii) 치료 전에 LAG-3 양성으로 확인된 종양을 치료하는 단계, 또는 (iv) 그의 임의의 조합을 포함하지 않는 치료 방법과 비교하여 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 그 초과이다. 일부 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 3$ 개월,  $\geq 6$ 개월,  $\geq 12$ 개월 또는  $\geq 18$ 개월이다. 한 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 6$ 개월이다.

[0365] 또 다른 실시양태에서, 치료 방법은 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 약 100%의 질환 제어율 ( $DRR=CR+PR+SD$ )을 생성한다. 한 실시양태에서, 치료 방법은 적어도 약 70%의 질환 제어율을 생성하며, 여기서 악성 종양은 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체를 사용한 치료에 저항성인 LAG-3 양성 흑색종이다. 일부 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 3$ 개월,  $\geq 6$ 개월,  $\geq 12$ 개월 또는  $\geq 18$ 개월이다. 한 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 6$ 개월이다. 일부 실시양태에서,  $\geq 6$ 개월의 반응 지속기간을 갖는 환자의 빈도는 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 100%이다.

[0366] 또 다른 실시양태에서, 치료 방법은 (i) 치료 전에 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 단계, (ii) 치료를 위한 LAG-3 양성 종양을 선택하는 단계, (iii) 치료 전에 LAG-3 양성으로 확인된 종양을 치료하는 단계, 또는 (iv) 그의 임의의 조합을 포함하지 않는 치료 방법에 의해 달성되는 것보다 더 우수한 질환 제어율 ( $DRR=CR+PR+SD$ )을 생성한다. 다른 실시양태에서, 질환 제어율의 개선은 (i) 치료 전에 종양 샘플에서 LAG-3 발현의 수준을 결정하는 단계, (ii) 치료를 위한 LAG-3 양성 종양을 선택하는 단계, (iii) 치료 전에 LAG-3 양성으로 확인된 종양을 치료하는 단계, 또는 (iv) 그의 임의의 조합을 포함하지 않는 치료 방법과 비교하여 약 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 그 초과이다. 일부 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 3$ 개월,  $\geq 6$ 개월,  $\geq 12$ 개월 또는  $\geq 18$ 개월이다. 한 실시양태에서, 종양 반응 지속기간은  $\geq 6$ 개월이다.

[0367] 13. 키트 및 단위 투여 형태

- [0368] 면역요법에 대해 환자를 스크리닝하거나 또는 면역요법의 효능을 예측하기 위한 바이오마커로서의 LAG-3 발현을 검정하기 위한 항-LAG-3 항체를 포함하는 진단 키트가 또한 본 발명의 범주 내에 있다. 키트는 전형적으로, 키트의 내용물의 의도된 사용을 나타내는 라벨 및 사용에 대한 지침서를 포함한다. 용어 "라벨"은 키트 상에 또는 그와 함께 공급되거나, 또는 달리 키트에 동반되는 임의의 문서 또는 기록물을 포함한다. 진단 키트의 특정 실시양태에서, LAG-3 발현을 검정, 검출, 및/또는 정량화하기 위한 제1 항-LAG-3 항체는 LAG-3 양성 종양의 치료를 위한 적어도 1종의 치료 항체 (예를 들어, 제2 항-LAG-3 항체, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 및/또는 항-CTLA-4 항체)와 공동-포장된다. 일부 실시양태에서, 키트는 면역요법의 효능을 예측하기 위한 바이오마커로서의 PD-L1 발현을 검정, 검출, 및/또는 정량화하기 위한 항-PD-L1 항체를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체) 및 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD1 항체 또는 항-PD-L1 항체)를 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 LAG-3 억제제 (예를 들어, 항-LAG-3 항체)를 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD1 항체 또는 항-PD-L1 항체)를 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 항-PD1 항체를 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 면역요법은 환자에게 치료 유효량의 PD-1 경로 억제제 (예를 들어, 항-PD1 항체 또는 항-PD-L1 항체) 및 면역 체크포인트 억제제를 투여하는 것을 포함한다.
- [0369] 특정 실시양태에서, 진단 키트는 LAG-3 발현을 검정, 검출, 및/또는 정량화하기 위한 항-인간 LAG-3 모노클로날 항체를 포함한다. 예를 들어, 문헌 [J. Matsuzaki, et al.; PNAS 107, 7875 (2010)]을 참조한다.
- [0370] 상기 방법에서 사용하기 위해 적합화된 치료 유효량의 항-LAG-3 항체, 예컨대 BMS-986016 및 항-PD-1 항체, 예컨대 니볼루맙, 및 제약상 허용되는 담체를 함유하는 제약 조성물을 포함하는 치료 키트가 또한 본원에 제공된다. 치료 키트의 특정 실시양태에서, 항-LAG-3 항체는 항-PD-1 항체와 함께 단위 투여 형태로 공동-포장된다. 키트는 임의로, 암 (예를 들어, 고형 종양)을 갖는 환자에게 조성물을 투여하기 위해 진료의 (예를 들어, 의사, 간호사, 또는 환자)가 내부에 함유된 조성물을 투여하도록 하는, 예를 들어 투여 스케줄을 포함하는 지침서를 또한 포함할 수 있다. 키트는 또한 시린지를 포함할 수 있다.
- [0371] 임의로, 진단 및/또는 치료 키트는 상기 제공된 방법에 따른 단일 투여를 위한 유효량의 항-LAG-3 또는 항-PD-1 항체를 각각 함유하는 단일-용량 제약 조성물의 다중 패키지를 포함한다. 제약 조성물(들)을 투여하는 데 필요한 기기 또는 장치가 또한 키트에 포함될 수 있다. 예를 들어, 키트는 소정량의 항-LAG-3 또는 항-PD-1 항체를 함유하는 1개 이상의 사전-충전된 시린지를 제공할 수 있다.
- [0372] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 예를 들어 하기를 포함한다:
- [0373] (a) 소정 용량의 항-LAG-3 항체, 예컨대 서열식별번호: 3에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 5에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것;
- [0374] (b) 소정 용량의 항-PD-1 항체, 예컨대 서열식별번호: 19에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 21에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것; 및
- [0375] (c) 본원에 기재된 방법에서 항-LAG-3 항체 및 항-PD-1 항체를 사용하는 것에 대한 지침서.
- [0376] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 예를 들어 하기를 포함한다:
- [0377] (a) 소정 용량의 항-LAG-3 항체, 예컨대 서열식별번호: 3에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 5에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것; 및
- [0378] (b) 본원에 기재된 방법에서 항-LAG-3 항체를 사용하는 것에 대한 지침서.
- [0379] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 예를 들어 하기를 포함한다:
- [0380] (a) 소정 용량의 항-PD-1 항체, 예컨대 서열식별번호: 19에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2

및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 21에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것; 및

[0381] (b) 본원에 기재된 방법에서 항-PD-1 항체를 사용하는 것에 대한 지침서.

[0382] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 예를 들어 하기를 포함한다:

[0383] (a) 소정 용량의 항-PD-L1 항체, 예컨대 BMS-936559; 및

[0384] (b) 본원에 기재된 방법에서 항-PD-L1 항체를 사용하는 것에 대한 지침서.

[0385] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 예를 들어 하기를 포함한다:

[0386] (a) 소정 용량의 항-CTLA-4 항체, 예컨대 이필리무맙 (예르보이); 및

[0387] (b) 본원에 기재된 방법에서 항-CTLA-4 항체를 사용하는 것에 대한 지침서.

[0388] 한 실시양태에서, 본 발명은 악성 종양을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 키트를 제공하며, 키트는 예를 들어 하기를 포함한다:

[0389] (a) 소정 용량의 항-LAG-3 항체, 예컨대 서열식별번호: 3에 제시된 서열을 갖는 중쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 서열식별번호: 5에 제시된 서열을 갖는 경쇄 가변 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함하는 것;

[0390] (b) 소정 용량의 면역 체크포인트 억제제; 및

[0391] (c) 본원에 기재된 방법에서 항-PD-1 항체 및 면역 체크포인트 억제제를 사용하는 것에 대한 지침서.

[0392] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성 종양이다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3/PD-L1 양성 종양이다. 일부 실시양태에서, 악성 종양은 LAG-3 양성/PD-L1 음성 종양이다.

[0393] 일부 실시양태에서, 악성 종양은 흑색종이다.

[0394] 본 발명은 하기 실시예에 의해 추가로 예시되며, 이는 추가로 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0395] 실시예

[0396] 실시예 1

[0397] DAB 발색원을 사용한 단일 염색 면역조직화학에 의한, 및 포르말린-고정, 파라핀 포매 인간 조직에서의 영상 분석에 의한 평가에 의한 LAG3 (마우스 클론 17B4)의 자동화 검출 검정의 최적화 및 검증

[0398] 본 연구의 목적은 포르말린 고정, 파라핀 포매 (FFPE) 인간 조직에 사용하기 위해, LS 바이오사이언시스(LS Biosciences)로부터 상업적으로 입수가능한 항체 (마우스 클론 17B4)를 사용하여 림프구 활성화 유전자-3 (LAG3)에 대한 면역조직화학적 검정을 검증하는 것이었다.

[0399] 면역조직화학 (IHC)은 조직 절편의 세포에서 단백질을 또는 다른 분자를 국재화시키는 과정을 지칭한다. 면역조직화학적 염색은 암 진단에 널리 사용되며, 최근에는 환자가 표적화된 화학요법에 반응할 가능성이 있는지 예측하는 것을 돕는 데 사용되었다. 많은 다른 분석 기술 예컨대 웨스턴 블롯 또는 ELISA와는 대조적으로, IHC는 조직 시편 내의 단백질 발현의 공간적 국재화를 유지한다. 이러한 기술은 세포 상황 내에서 표적에 특이적으로 결합하는 항체 (1차 항체)를 사용한 다음, 결합된 항체를 사용하여 표적의 영역 내에 염료를 침착시키는 것을 수반한다.

[0400] 시험 시스템. FFPE 검증을 잔유물, 식별방지, 또는 식명화 인간 샘플에 대해 수행하였다. 감수성 시험 및 분석에 사용된 조직은 40종의 방광 요로상피암, 41종의 위/GEJ 암, 41종의 HNSCC, 41종의 흑색종, 41종의 NSCLC, 및 43종의 RCC를 포함하였다. LAG3 IHC를 위해 선택된 양성 및 음성 대조군은 편도 조직이었다. 편도 조직은 LAG3에 대해 양성 및 음성인 세포 특색을 함유한다.

[0401] 시험 물품. LAG3 마우스 클론 17B4 항체를 LS 바이오사이언시스 (워싱턴주 시애틀)로부터 구입하고, -20℃에서 저장하였다. 마우스 IgG 이소형 대조군 항체를 비디 파밍겐(BD Pharmingen) (캘리포니아주 산호세)으로부터 구입하고, 2-8℃에서 저장하였다.



- [0402] 면역조직화학. 표준 실험실 기술에 따라 면역조직화학을 수행하였다.
- [0403] 사전-처리. LAG3 (마우스 클론 17B4)의 IHC 분석을 위한 절차는 상업적으로 입수가능한 시약을 사용하여 레이카 결합 Rx (레이카 바이오시스템즈(Leica Biosystems), 일리노이주 버팔로 그로브) 상에서 실온 (RT)에서 자동화 검출을 사용하여 수행하였다. 시편을 4-마이크로미터 두께로 절편화하고, 양으로 하전된 유리 슬라이드 상에 탑재하고, 건조시키고, 베이킹하고, 파라핀제거하고, 오프라인으로 재수화시켰다. 이어서, 조직을 자동염색기에 놓고, 100℃에서 20분 동안 에피토프 복원 용액 1 (카탈로그# AR9961, 레이카)을 사용하여 사전처리한 후, RT에서 결합 세척 완충제 (카탈로그 # AR9590, 레이카)로 행구었다.
- [0404] DAB 발색원 검정 조직을 퍼옥시드 블록 (카탈로그# DS9800, 레이카)과 함께 5분 동안 인큐베이션한 후, 결합 세척 완충제에서 3회 행구었다. 조직을 무혈청 단백질 블록 (카탈로그# X0909, 다코(Dako), 캘리포니아주 카르핀테리아)과 함께 5분 동안 인큐베이션한 후, 결합 1차 항체 희석제 (카탈로그# AR9352, 레이카) 중에서 희석된 1차 항체 또는 이소형 음성 대조군 시약과 함께 30분 동안 인큐베이션하고, 결합 세척 완충제에서 3회 행구었다. 조직을 1차 후 (결합 중합체 정밀화 검출 키트, 카탈로그# DS9800, 레이카)와 함께 8분 동안 인큐베이션한 후, 각각 결합 세척 완충제에서 2분 동안 3회 행구었다. 조직을 중합체 (결합 중합체 정밀 검출 키트)와 함께 8분 동안 인큐베이션한 후, 각각 결합 세척 완충제에서 2분 동안 3회 행구고, 증류수에서 2회 행구었다. 조직을 DAB (결합 중합체 정밀 검출 키트)와 함께 10분 동안 인큐베이션한 후, 증류수에서 4회 행구었다.
- [0405] 적색 발색원 검정 이어서, 조직을 3% 과산화수소와 함께 5분 동안 인큐베이션한 후, 결합 세척 완충제에서 3회 행구었다. 조직을 무혈청 단백질 블록과 함께 5분 동안 인큐베이션한 후, 결합 1차 항체 희석제 중에서 희석된 1차 항체 또는 이소형 음성 대조군 시약과 함께 30분 동안 인큐베이션하고, 결합 세척 완충제에서 3회 행구었다. 조직을 1차 후 AP (카탈로그# DS9390, 결합 중합체 정밀화 적색 검출 키트, 레이카)와 함께 20분 동안 인큐베이션한 후, 각각 결합 세척 완충제에서 2분 동안 3회 행구었다. 조직을 중합체 AP (결합 중합체 정밀화 적색 검출 키트)와 함께 30분 동안 인큐베이션한 후, 각각 결합 세척 완충제에서 2분 동안 3회 행구고, 증류수에서 2회 행구었다. 조직을 적색 정밀화 (결합 중합체 정밀화 적색 검출 키트)와 함께 10분 동안 인큐베이션한 후, 증류수에서 4회 행구었다.
- [0406] 사후-처리 조직을 헤마톡실린 (결합 중합체 정밀화 검출 키트)과 함께 5분 동안 인큐베이션한 후, 증류수에서 행구고, 결합 세척 완충제에서 행구었다. 커버슬립 탑재는 표준 절차에 따라 자동화 유리 커버슬립퍼 (레이카)를 사용하여 오프라인으로 발생시켰다.
- [0407] 아페리오 터보(Aperio Turbo) AT 시스템 (아페리오(Aperio), 캘리포니아주 비스타)을 사용하여 슬라이드를 스캐닝하여 전체 슬라이드 영상을 생성하였다. 각각의 염색의 20X JPEG 영상이 이 보고서에 제공된다.
- [0408] 영상 분석 DAB 발색원 또는 적색 발색원을 사용하여 LAG3 (마우스 클론 17B4)으로 염색된 조직을 아페리오로부터의 핵 v9 알고리즘을 사용한 영상 분석에 의해 평가하였다. ROI는 개재 기질을 갖는 중앙 조직의 영역을 포함한다. 분석으로부터 제외된 영역은 정상 조직, 보다 큰 기질 영역, 괴사 조직, 타르 (가능한 경우), 및 염색 인공물을 포함한다.
- [0409] 소세포, 예컨대 면역 세포에서의 과도한 세포질 염색이 종종 핵 내의 헤마톡실린을 가리기 때문에 핵 알고리즘이 선택되었다. 세포질 및 막 알고리즘은 세포를 정량화하기 위해 핵 내의 헤마톡실린의 가시화를 필요로 한다. 핵 알고리즘은 헤마톡실린이 존재하는 경우 림프구의 중앙 부분을 채우고, 이를 하나의 세포로서 기록하는 "충전 홀"이라 불리는 특색을 갖는다.
- [0410] 병리학자 시각적 면역 점수 영상 분석의 QC 동안 병리학자에 의해 동적 범위 내의 샘플의 하위세트를 점수화하였다. 병리학자 시각적 면역 점수의 목적은 공인 병리학자가 고려할 때 영상 분석 점수가 정확한 결과를 생성하지 않는 경우에 백업 결과를 제공하는 것이다. 영상 분석 실패의 이유는 1) 광 대조염색; 2) 분쇄된 조직; 3) NSCLC 조직 내의 타르의 존재; 4) 헤모시데린의 염색; 또는 5) 평가를 배제하는 멜라닌의 존재를 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다. 병리학자 시각적 면역 점수는 주석달린 영역 (알고리즘을 모방함) 내의 양성 면역 세포의 백분율이다.
- [0411] LAG3 IHC 검정 검증 - 감수성 감수성 분석을 247종의 FFPE 인간 조직 (40종의 방광 요로상피암, 41종의 위/GEJ 암, 41종의 HNSCC, 41종의 흑색종, 41종의 NSCLC, 43종의 RCC) 조직에 대해 최적화된 LAG3 (마우스 클론 17B4) IHC 검정을 사용하여 수행하여, 6종의 적응증 내에서 검정의 동적 범위를 입증하였다. 모든 시편을 1 ROI (중앙 + 개재 기질)의 영상 분석에 의해 평가하고, 조직의 하위세트 (6종의 적응증 내에 각각 10개)를 또한 병리학

자 시각적 면역 점수에 의해 평가하였다.

- [0412] 평균적으로, LAG-3 (마우스 클론 17B4) 발현은 흑색종에서 가장 높았고 (3.54%), 이어서 방광 요로상피암 (2.58%), NSCLC (1.68%), HNSCC (1.47%), 위/GEJ 암 (1.27%), 및 RCC (1.24%)였다. 양성은 0.01% 내지 25.57% 범위였고, 평균 1.95% 및 중앙 0.84%였다. 2%의 역치를 사용하여 192종의 음성 및 55종의 양성 조직 (12종의 방광 요로상피, 6종의 위/GEJ 암, 7종의 HNSCC, 18종의 흑색종, 8종의 NSCLC, 및 4종의 RCC)을 입증하였다.
- [0413] 도 1은 모노클렉스 IHC를 사용하여 종양 샘플에서 관찰된 항-LAG-3 염색 패턴을 보여준다. 관찰된 염색 패턴은 부분 막/세포질 국재화, 도트 유사 국재화, 및 완전 막/세포질 국재화를 포함하였다.
- [0414] 도 2는 모노클렉스 LAG-3 IHC에 의해 검출된 다양한 종양에 걸친 전체 종양 세포의 비로서의 LAG-3 양성 세포의 빈도 분포를 보여준다.
- [0415] 실시예 2
- [0416] 이전에 항-PD1/PD-L1 요법으로 치료된 흑색종을 갖는 환자에서 니볼루맙과 조합된 항-림프구 활성화 유전자-3 (항-LAG-3; BMS-986016)의 초기 효능
- [0417] 음성 T-세포 조절제 LAG-3 및 PD-1의 동시 차단은 T-세포 활성화를 회복시키고 항종양 면역을 증진시키기 위해 상승작용적으로 기능할 수 있다. BMS-986016 (LAG-3을 표적화하는 완전 인간 IgG4 mAb) ± 니볼루맙 (PD-1을 표적화하는 완전 인간 IgG4 mAb)의 1/2a상 연구로부터의 데이터는 조합의 내약성이 우수하였고, 선행 항-PD-1/PD-L1 요법 (NCT01968109; Ascierto et al. J Clin Oncol. 2017;35(suppl) [abstract 9520])에 불응성이거나 또는 그 동안 재발된 흑색종을 갖는 환자에서 유망한 항종양 활성을 보여준다는 것을 입증하였다. 선행 항-PD-1/PD-L1 요법 중에 진행된 진행성 흑색종을 갖는 환자에서의 효능 데이터는 하기와 같다.
- [0418] 이는 진행성 고형 종양을 갖는 환자에서 단독으로 또는 니볼루맙과 조합하여 투여되는 BMS-986016의 안전성, 내약성 및 효능을 평가하는 I/IIa상, 개방 표지, 용량 증량 및 코호트 확장 연구였다. 환자는 최대 12회의 8-주 치료 주기 동안 2주마다 1회 정맥내로 연구 요법을 받았다. 확장을 위한 조합 용량은 BMS-986016 80 mg + 니볼루맙 240 mg이었다.
- [0419] 연구 설계 및 종점은 도 3 및 17에 제시된다.
- [0420] 흑색종 선행 IO 확장 코호트 내의 환자에 대한 주요 적격성 기준이 도 3에 제시된다.
- [0421] 결과. 2017년 4월 7일 데이터 컷-오프 기준, 선행 항-PD1/PD-L1 요법 (mel 선행 IO) 중에 진행된 흑색종을 갖는 55명의 환자를 포함하여 212명의 환자가 치료되었다. 212명의 환자 중에서, 61%가 여전히 데이터 컷-오프에서 치료 중이었다. 치료를 중단한 83명의 환자 중에서, 주요 이유는 질환 진행이었다 (86%). mel 선행 IO 코호트 중에서, 환자의 67%가 뇌 전이 없이 M1C 질환을 가졌고, 15%가 락테이트 데히드로게나제 (LDH)  $\geq 2 \times$  정상 상한치 (ULN)를 가졌고, 20%가 간 전이를 가졌다. 도 4.
- [0422] mel 선행 IO 코호트 내의 환자를 아주 많이 사전치료하였다. 도 5. 55명의 환자 중에서, 76%가  $\geq 2$ 회의 선행 요법을 가졌고; 환자의 40%가 선행 항-PD1/PD-L1 요법에 대한 최상 반응으로서 진행성 질환 (PD)을 가졌다.
- [0423] 도 6은 제1 40개의 IO 유경험 흑색종 샘플의 LAG-3 발현 상태를 보여준다. 샘플의 40% (16/40)가 모노클렉스 IHC 검정에서  $\geq 1\%$  컷-오프를 사용하여 LAG-3 양성으로 점수화되었다.
- [0424] 흑색종 선행 IO 코호트에서의 효능. 모든 효능-평가가능한 환자 ( $n = 48$ ; 모두 선행 항-PD-1/PD-L1 요법 중에 진행됨)에 대한 중앙 추적 지속기간은 14주 (범위, 4.1-41주)였다. 조사자 평가에 의한 반응은 도 7에 제시된다. 전체 반응률 (ORR)은 13% 였고, 6명의 환자가 PR을 가졌다 (이들 중 2명은 선행 항-PD1/PD-L1 요법에 대한 최상 반응으로서 PD를 가짐). 15명의 환자는 기준선으로부터 종양 부담이 감소하였고; 7명의 환자에서  $> 30\%$  감소가 관찰되었다 (도 8). 도 8에 제시된 바와 같이, LAG-3 발현은 반응을 풍부화한다. 도 9는 LAG-3  $\geq 1\%$ , LAG-3  $< 1\%$ , 및 LAG-3 미지 환자의 반응의 깊이 및 지속기간을 보여준다.
- [0425] 도 10은 무진행 생존의 지속기간을 보여준다. 48명의 평가가능한 환자 중에서, 환자의 46% (22/48)가 데이터 컷오프에서 진행 없이 치료를 계속하였다.
- [0426] 도 11에 제시된 바와 같이, LAG-3 발현  $< 1\%$  (7.1%)에 비해 LAG-3 발현  $\geq 1\%$  (20%)를 갖는 환자에 대해 ORR이 거의 3배 증가하였다. PD-L1 발현은 반응을 풍부화하는 것으로 보이지 않았다.

- [0427] 임상 시험으로부터의 업데이트된 결과가 도 16-23에 제시된다. 2017년 8월 기준, 선행 항-PD1/PD-L1 요법 (mel 선행 IO) 중에 진행된 흑색종을 갖는 68명의 환자를 포함하여 262명의 환자가 치료되었다. 업데이트된 기준선 인구통계 및 질환 특징이 도 17에 제시된다. mel 선행 IO 코호트 중에서, 환자의 68%가 뇌 전이 없이 M1C 질환을 가졌고, 13%가 락테이트 데히드로게나제 (LDH)  $\geq 2 \times$  정상 상한치 (ULN)를 가졌고, 25%가 간 전이를 가졌다.
- [0428] 도 18은 mel 선행 IO 코호트의 업데이트된 선행 치료 병력을 보여준다. 68명의 환자 중에서, 77%가  $\geq 2$ 회의 선행 요법을 가졌고; 환자의 46%가 선행 항-PD1/PD-L1 요법에 대한 최상 반응으로서 진행성 질환 (PD)을 가졌다. 대부분의 환자 (57%)는 또한 선행 항-CTLA-4 요법을 받았다. 환자의 46%는 선행 항-PD-1/PD-L1 요법에 대한 최상 반응의 PD를 가졌다.
- [0429] 도 19는 mel 선행 IO 코호트에 대한 업데이트된 효능 데이터를 보여준다. ORR은 11.5% 였고, DCR은 49%였다. LAG-3 발현 ( $\geq 1\%$ )은 반응을 풍부화하는 것으로 보였다. 중앙 반응 지속기간은 도달하지 않았다 (범위, 0.1+39.3+).
- [0430] 도 20은 mel 선행 IO 코호트에서 관찰된 기준선 특징 및 LAG-3 발현에 의한 반응을 보여준다. LAG-3 발현 ( $\geq 1\%$ )은 PD-L1 발현과 관계없이 반응이 풍부화하였다.
- [0431] 도 21 및 22는 mel 선행 IO 코호트에서 관찰된, 각각 LAG-3 및 PD-L1 발현에 의한 표적 병변 크기의 최상 변화 및 LAG-3 및 PD-L1 발현에 의한 반응의 깊이 및 지속기간을 보여준다. 반응은  $\geq 1\%$ 의 LAG-3 발현을 갖는 환자에서 더 가능하였다. PD-L1 발현은 반응을 풍부화하는 것으로 보이지 않았다.
- [0432] 도 23은 무진행 생존의 지속기간을 보여준다. 61명의 평가가능한 환자 중에서, 환자의 34% (21/61)가 데이터 컷오프에서 진행되지 않았다. 33명의 평가가능한 LAG-3  $\geq 1\%$  환자 중에서, 환자의 55% (18/33)가 데이터 컷오프에서 진행되지 않았다. 20명의 평가가능한 LAG-3  $< 1\%$  환자 중에서, 환자의 5% (1/20)가 데이터 컷오프에서 진행되지 않았다.
- [0433] 실시예 3
- [0434] 항-LAG-3 및 항-PD-1 모노클로날 항체의 조합의 1/2a상 연구에서의 여러 진행성 고형 종양에 걸친 예비 효능 및 바이오마커 풍부화
- [0435] LAG-3은 T-세포 활성화를 음성 조절하는 막횡단 수용체이다. LAG-3, 및 프로그램화된 사멸-1 (PD-1)을 포함한 다른 T-세포 억제 수용체를 통한 신호전달은 T-세포 소진을 야기할 수 있고, 이는 종양에 대한 면역 회피 메커니즘이다. LAG-3 및 PD-1의 동시 차단은 T-세포 활성화를 회복시키고 항종양 면역을 증진시키기 위해 상승작용적으로 기능할 수 있다. 1/2a상 연구에서, BMS-986016 (LAG-3을 표적화하는 IgG4 mAb)  $\pm$  니볼루맙 (PD-1을 표적화하는 IgG4 mAb)은 내약성, 말초 T-세포 활성화, 및 예비 임상 활성을 입증하였다 (NCT01968109; Lipson et al. J Immunother Cancer. 2016;4(suppl):173 [abstract P232]). 여러 진행성 고형 종양 확장 코호트에 걸친 BMS-986016 + 니볼루맙의 효능을 모든-신청자 및 바이오마커-풍부화된 집단 둘 다에서 평가하였다.
- [0436] 모든 환자 (2017년 4월 7일 기준 n = 204)를 질환 진행, 확인된 완전 반응, 12 주기의 완료, 또는 금지되는 독성까지 56-일 주기로 BMS-986016 80 mg + 니볼루맙 240 mg Q2W로 치료하였다. 대부분의 코호트는 적어도 1종의 다른 선행 요법 중/후에 진행을 갖는 면역-항암제-나이브 환자에 초점을 맞추었고, 진행성 위/위식도 접합부암, 두경부 편평 세포암, 간세포암, 신세포암 및 NSCLC를 갖는 환자를 포함하였다. 하나의 다른 코호트는 그의 가장 최근의 요법으로서 선행 항-PD-1/PD-L1 중/후에 진행된 NSCLC를 갖는 환자를 포함하였다. 바이오마커-규정된 환자 하위세트는 종양 생검에서 PD-L1 및 LAG-3 면역조직화학 점수화에 기초하여 기재되었다.
- [0437] 도 12는 면역-항암제-나이브 위 종양 샘플의 LAG-3 발현 상태를 보여준다. 샘플의 48% (10/21)가 모노플렉스 IHC 검정에서  $\geq 1\%$  컷-오프를 사용하여 LAG-3 양성으로 점수화되었다.
- [0438] 도 13은 항-LAG-3 및 항-PD-1 항체의 조합을 사용한 치료에 반응한 면역-항암제-나이브 위암 환자에서의 표적 병변 크기의 변화를 보여준다. 치료에 반응성인 환자들 중에서 LAG-3 양성 종양이 풍부하였다. 종양 반응은 RECIST에 따라 결정하였다. 제시된 환자의 군은 이전에 항-PD-1/PD-L1 치료에 노출되지 않았다.
- [0439] 도 14는 모노플렉스 IHC 검정에 의해 결정된 면역-항암제-나이브 SCCHN, 신암종, HCC, 및 NSCLC 종양 샘플의 LAG-3 발현 상태를 보여준다.
- [0440] 실시예 4

- [0441] LAG-3의 다중종양 프로파일링 및 면역 세포 표현형과의 연관성
- [0442] LAG-3은 T-세포 활성화를 음성 조절한다. Sierro S et al. Expert Opin Ther Targets. 15:91-101 (2011); Grosso JF et al. J Clin Invest. 117:3383-3392 (2007). LAG-3 및 프로그램화된 사멸-1 (PD-1) 수용체는 종양-침윤 림프구 (TIL) 상에서 과다발현 및 공동-발현된다. Goding SR et al. J Immunol. 190:4899-4909 (2013). LAG-3 및 PD-1 과다발현은 항-PD-1 요법에 대한 치료 반응을 제한할 수 있고, 종양 진행을 야기할 수 있다. Ascierto P et al. Poster 9520 presented at the 53rd Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; June 2-6, 2017; Chicago, IL; Wherry, Nat Immunol. 12(6):492-9 (2011); Woo SR et al. Cancer Res. 72:917-927 (2012); Huang CT et al. Immunity. 21:503-513 (2004). BMS-986016은 LAG-3을 표적화하여 그의 리간드인 주요 조직적합성 복합체 부류 II (MHC II)에 대한 결합을 차단하는 완전 인간 IgG4 항체이다 (도 24). Huard B et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 94:5744-5749 (1997). 니볼루맵 (항-PD-1)과 조합된 BMS-986016은 항-PD-1 단독요법 중에 질환이 진행된 환자에서 T-세포 활성화 및 종양 반응을 회복시킬 수 있다. Ascierto P et al. Poster 9520 presented at the 53rd Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; June 2-6, 2017; Chicago, IL. 이러한 이중 억제제는 또한 이전에 항-PD-1 요법으로 치료되지 않은 환자에서 반응의 지속성을 증진시킬 수 있다. 각각 BMS-986016 및 니볼루맵에 의한 LAG-3 및 PD-1의 동시 차단은 말초 T-세포 활성화를 일으켰고, 진행성 고형 종양을 갖는 환자에서 임상 활성 및 관리가능한 안전성을 보여주었다. Ascierto P et al. Poster 9520 presented at the 53rd Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology; June 2-6, 2017; Chicago, IL; Lipson E et al. J Immunother Cancer. 4(suppl 1):173 (2016). LAG-3과 종양에 대한 저항성 마커 사이의 연관성을 추가로 이해하기 위해, 염증 바이오마커와 관련하여 LAG-3 및 MHC II의 발현을 조사 및 특정화하기 위한 상업적으로 공급된 종양 시편의 포괄적인 프로파일링을 수행하였다.
- [0443] 방법
- [0444] 정량적 면역조직화학 (IHC) 고형 종양 시편을 신세포 암종 (RCC), 위 암종, 비소세포 폐 암종 (NSCLC), 흑색종, 두경부 편평 세포 암종 (SCCHN), 및 요로상피 암종을 갖는 환자로부터 프로파일링하였다. 슬라이드 절편을 레이크라 결합 Rx 또는 다코 링크 48 플랫폼을 사용하여 LAG-3, CD8, FOXP3, CD68, CD163, PD-L1 및 MHC II에 대해 IHC에 의해 염색하였다. 면역 세포 마커 (LAG-3, CD8, FOXP3, CD68, CD163)에 대해, 아페리오 영상 분석 소프트웨어를 사용하여 종양 미세환경에서 바이오마커를 발현하는 총 유핵 세포의 비율을 규정함으로써 퍼센트 양성을 결정하였다. 종양 세포 상의 IHC에 의한 MHC II 및 PD-L1 발현을 수동으로 점수화하였다. IHC 데이터에 대해 무감독 클러스터링 (워드(Ward) 방법)을 수행하여 LAG-3과 다른 면역 바이오마커 사이의 연관성을 확인하였다. MHC II+ 및 LAG-3+ 공동국제화를 결정하기 위해, MHC II-고 (>70% MHC II+) 또는 MHC II-저 (<10% MHC II+) 종양 세포 영역을 LAG-3 염색된 세포의 수에 대해 평가하였다 (양성 및 음성 영역에 대해 각각 평균 3개의 20× 영상 영역).
- [0445] mRNA 분석 RCC 및 흑색종을 갖는 환자에서, LAG-3 mRNA 수준의 변화를 스크리닝 및 면역요법 개시 후 2-4주에 수집한 종양 생검 샘플로부터의 아피메트릭스 (RCC) 또는 RNA-서열분석 (흑색종) 데이터의 차등 유전자 발현 분석에 의해 결정하였다.
- [0446] 통계적 분석 LAG-3 발현과 다른 면역 바이오마커 사이의 상관관계를 스피어만 상관 계수,  $r$ 에 의해 평가하였다. 만-휘트니 검정을 수행하여 통계적 차이를 평가하였다. 차등 유전자 발현 분석은 치료군 및 시간을 인자로서 포함하는 일반화된 선형 모델을 사용하여 수행하였다.
- [0447] 결과
- [0448] 종양에서의 LAG-3 발현. 6종의 상이한 고형 종양 유형 ( $n = 245$ : RCC, 43; 위, 41; NSCLC, 41; 흑색종, 40; SCCHN, 40; 요로상피, 40)에 걸쳐 분석된 종양 시편에 대해, 낮은 내지 높은 LAG-3 발현 범위가 관찰되었다 (총 유핵 세포의 0.01% 내지 33%). IHC 염색에 의해 제시된 바와 같이, LAG-3 발현은 림프구의 핵주위, 막, 또는 세포질 영역에 국제화될 수 있다 (도 25).
- [0449] 면역 및 염증 바이오마커와의 LAG-3 연관성. LAG-3 발현과 CD8, FOXP3, CD163 및 CD68의 적당한 상관관계 ( $n = 237$ : RCC, 43; 위, 39; NSCLC, 39; 흑색종, 39; SCCHN, 40; 요로상피, 37)가 관찰되었다 (도 26A-D,  $r = 0.49-0.65$ ); LAG-3과 PD-L1 및 MHC II 종양 발현의 상관관계는 관찰되지 않았다 (도 26E 및 26F,  $r = 0.28-0.30$ ). 종양 세포에서의 MHC II 발현 ( $\geq 1\%$ )은 55%의 낮은 (흑색종) 내지 82%의 높은 (위 암종) 범위로 빈번하게 관찰되었다.



- [0450] 종양 세포에서  $\geq 1\%$  MHC II 발현을 갖는 종양은 LAG-3+ TIL의 빈도의 유의한 증가를 보여주었다 (도 27, n = 241: RCC, 43; 위, 40; NSCLC, 40; 흑색종, 38; SCCHN, 40; 요로상피, 40).
- [0451] 종양 유형에 의한 샘플의 무감독 클러스터링은 분석된 6종의 종양 유형에서 낮은 내지 높은 범위의 염증을 갖는 종양의 클러스터를 밝혀내었다 (도 28A의 예, 요로상피 암종, n = 37; 및 28B, 위 암종, n = 39).
- [0452] 증가된 MHC II 종양 발현은 염증 높은 종양에서 빈번하게 관찰되었지만, 또한 더 낮은 수준의 염증을 갖는 종양에서도 관찰되었다 (도 28A의 예, 요로상피 암종). 종양-세포 MHC II 발현에 대해 양성으로 염색된 시편들 중에서, MHC II 발현의 수준은 일부 종양 유형에서 LAG-3+ TIL의 수준과 상관관계가 있었다 (도 28A 및 298의 실, 요로상피 및 위 암종). 높은 MHC II 발현을 갖는 종양의 대부분은 낮은 PD-L1 발현을 가졌다 (도 28C, n = 229: RCC, 43; 위, 39; NSCLC, 38; 흑색종, 33; SCCHN, 39; 요로상피, 37).
- [0453] 이중 MHC II 종양 세포 발현 및 LAG-3+ TIL. 시험된 종양 시편 (n = 6)의 하위세트에서, 낮은 (<10%) 내지 높은 (>70%) 범위의 이중 MHC II 종양 세포 발현이 관찰되었다 (도 29A, 요로상피 암종, n = 4; 위 암종, n = 2). 이 하위세트에서, 낮은 MHC II 발현에 비해 높은 MHC II 발현을 갖는 종양 영역에서 LAG-3+ TIL의 수의 유의한 증가가 관찰되었다 (도 29A-C).
- [0454] 항-PD-1 단독요법 동안 LAG-3 mRNA 수준의 변화. 전이성 흑색종 (NCT01621490/체크메이트 038) 또는 전이성 RCC (NCT01358721/체크메이트 009)를 갖는 환자로부터의 조직 샘플의 분석에서, 스크리닝과 니볼루맙 치료의 제 2-4주의 LAG-3 mRNA 수준의 유의한 증가가 관찰되었다 (도 30).
- [0455] IHC에 의해 제시된 바와 같이, LAG-3 발현은 종양 미세환경에서 세포 염증과 연관되었다. MHC II 종양 세포 발현은 분석된 6종의 종양 유형에 걸쳐 빈번하게 관찰되었고; 면역 세포에서의 LAG-3 발현은 종양 세포에서 MHC II의 발현을 갖는 종양에서 풍부하였다. 개별 종양 시편 내에서 MHC II 저/음성 종양 영역에 비해 MHC II 고/양성 종양 영역에서 LAG-3+ TIL의 보다 높은 빈도가 관찰되었고, 이는 종양 세포에서의 LAG-3 및 MHC II 발현의 공동-국제화가 특정 종양에서 LAG-3 체크포인트 활성화의 메카니즘으로서의 역할을 할 수 있을 확률을 높인다. 이러한 발견, 및 니볼루맙이 LAG-3 발현을 유도할 수 있다는 관찰은, 항-PD-1 요법을 사용한 치료 후 질환이 진행된 환자에서 BMS-986016 요법에 대한 예측 바이오마커로서 LAG-3의 사용을 지지한다.

## 서열

SEQ ID NO:1 중쇄 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKLEWIGEINHRGSTNSNP SLKS  
RVTLSLDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDWPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP  
LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS  
LGTKYITCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT  
CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSN  
KGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN  
YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO:2 경쇄 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGS  
GSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA  
SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE  
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:3 중쇄 가변 영역 (VH) 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSDYYWNWIRQPPGKLEWIGEINHRGSTN  
SNPSLKSRVTLSDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCAFGYSDYEYNWFDWPWGQGLV  
TVSS

SEQ ID NO:4 중쇄 가변 영역 (VH) 뉴클레오티드 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

cagggtgcagctacagcagtggtggcgaggactgttgaagccttcggagaccctgtccctcacctg  
cgctgtctatggtgggtccttcagtgattactactggaactggatccgccagccccaggggaagg  
ggctggagtggtattggggaaatcaatcatcggtggaagcaccaactccaacccgtccctcaagagt  
cgagtcaccctatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgaggtctgtgaccgc  
cgcgacacggctgtgtattactgtgcgtttggatatagtgactacgagtacaactggttcgacc  
cctggggccaggaaccctgggtcacggtctcctca

SEQ ID NO:5 경쇄 가변 영역 (VL) 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGS  
GSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTNLEIK

SEQ ID NO:6 경쇄 가변 영역 (VL) 뉴클레오티드 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

gaaattgtgttgacacagtcctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctc  
ctgcagggccagtcagagtattagcagctacttagcctggtaccaacagaaacctggccaggctc  
ccaggctcctcatctatgatgcacccaacagggccactggcatcccagccaggttcagtggcagt  
gggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagttatta  
ctgtcagcagcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacctggagatcaaa

[0456]

SEQ ID NO:7 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

DYYWN

SEQ ID NO:8 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

EINHRGSTNSNP SLKS

SEQ ID NO:9 중쇄 CDR3 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

GYSDYEYNWFDP

SEQ ID NO:10 경쇄 CDR1 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

RASQSISSYLA

SEQ ID NO:11 경쇄 CDR2 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

DASNRAT

SEQ ID NO:12 경쇄 CDR3 아미노산 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

QQRSNWPLT

SEQ ID NO:13 인간 LAG-3 아미노산 서열

MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAEPVWVWAQEGAPQLPCSPTIPLQDLSLLRRAGVTWQH  
QPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRYTVLSVGGGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQRG  
DFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPD  
RPASVHWFRNRGQGRVPVRESPPHHLAESFLFLPQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLTVL  
GLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSF LTAKWTPPGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSQ  
AQAGTYTCHIHLEQQQLNATVTLAIITVTPKSFSGPSLGKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQ  
RSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLYQGERLLGAAVYFTELSSPGAQRSGRAPGALPAGHLLLFLT  
LGVLSLLLLVTGAFGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPEPEPEPEPE  
EPEQL

SEQ ID NO:14 LAG-3 에피토프

PGHPLAPG

SEQ ID NO:15 LAG-3 에피토프

HPAAPSSW

SEQ ID NO:16 LAG-3 에피토프

PAAPSSWG

SEQ ID NO:17 중쇄 아미노산 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

[0457]

QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVK  
GRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS  
TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYT  
CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS  
QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV  
LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO:18 경쇄 아미노산 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGS  
GSGTDFTLTIISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTA  
SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLLSKADYEKHKVYACEV  
THQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:19 중쇄 가변 영역 (VH) 아미노산 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVK  
GRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO:20 중쇄 가변 영역 (VH) 뉴클레오티드 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

caggtgcagctggtggagctctgggggagggcggtccagcctgggaggtccctgagactcgactg  
taaagcgtctggaatcaccttcagtaactctggcatgactgggtccgccagggtccaggcaagg  
ggctggagtggtggcagttatgttggtatgtaggaagtaaaagatactatgcagactccgtgaag  
ggccgattcacctctccagagacaattccaagaacacgctgtttctgcaaataaacagcctgag  
agccgaggacacggctgtgtattactgtgcgacaaacgacgactactggggccagggaaccctgg  
tcaccgtctcctca

SEQ ID NO:21 경쇄 가변 영역 (VL) 아미노산 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGS  
GSGTDFTLTIISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRFTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO:22 경쇄 가변 영역 (VL) 뉴클레오티드 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

gaaattgtgttgacacagctctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctc  
ctgcagggccagtcagagtgtagtagttacttagcctggtaccaacagaaacctggccaggctc  
ccaggctcctcatctatgatgcacccaacagggccactggcatcccagccagggttcagtgccagt  
gggtctgggacagacttactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgagtttatta  
ctgtcagcagagtagcaactggcctcgagcgttcggccaagggaaggtggaaatcaaa

SEQ ID NO:23 중쇄 CDR1 아미노산 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

NSGMH

SEQ ID NO:24 중쇄 CDR2 아미노산 서열; 항-PD-1 mAb (BMS936558)

VIWYDGSKRYYADSVKG

[0458]





ggccagcaggcacctgagtggtgggacaaggatcccccttcctgtggttctattatattata  
attataattaaatatgagagcatgct

SEQ ID NO:30 중쇄 뉴클레오티드 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

caggtgcagctacagcagtggtggcgaggactgttgaagccttcggagaccctgtccctcacctg  
cgctgtctatgggtgggtccttcagtgttactacttggaactggatccgccagccccaggggaagg  
ggctggagtggtgattggggaaatcaatcatcgtggaagcaccaactccaaccgtccctcaagagt  
cgagtcacccatcactagacacgtccaagaaccagttctccctgaagctgaggtctgtgaccgc  
cgcgacacggctgtgtattactgtgctgttgatatagtgactacgagtacaactggttcgacc  
cctggggccagggaaaccctggtcaccgtctcctcagctagcacaagggccatccgtcttcccc  
ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccgcccctgggtgctggtcaaggacta  
cttccccgaaccgggtgacggtgtgctggaactcaggcgccctgaccagcggtgcacaccttcc  
cggtgtctctacagtcctcaggactctactccctcagcagcggtggtgaccgtgccctccagcagc  
ttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagag  
agttgagtcctaaatattggtcccccattgccaccatgccagcacctgagttcctggggggaccat  
cagttcttctgttccccccaaacccaaggacactctcatgatctcccgaccctgaggtcacg  
tgctgtggtggtgagctgagccaggaagaccccaggtccagttcaactggtacgtggtggcgt  
ggaggtgcataatgccaagacaaagccgaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtca  
gcgtcctcacgctcctgcaccaggactggtgaacggcaaggagtacaagtgaaggtctccaac  
aaaggcctcccgctcctccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccaca  
ggtgtacacctgcccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctgg  
tcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagacaac  
tacaagaccacgcctcccgctgctggactccgacggctccttcttctctacagcaggctaaccgt  
ggacaagagcaggtggcaggagggaatgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcaca  
accactacacacagaagagcctctccctgtctctggttaaatga

SEQ ID NO:31 경쇄 뉴클레오티드 서열; 항-LAG-3 mAb (BMS-986016)

gaaattgtgttgacacagctctccagccaccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctc  
ctgcagggccagtcagagtattagcagctacttagcctggtaccaacagaaacctggccaggtc  
ccaggtcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatccagccaggttcagtggcagt  
gggtctgggacagacttactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgagtttatta  
ctgtcagcagcgtagcaactggcctctcacttttggccaggggaccaacctggagatcaaacgta  
cggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcc  
tctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataa  
cgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctaca  
gcctcagcagcacccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaa  
gtcaccatcagggcctgagctcgccgctcacaagagcttcaacaggggagagtggttag

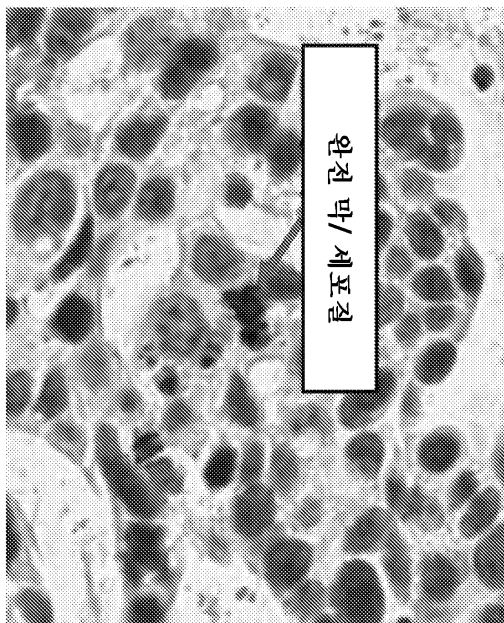
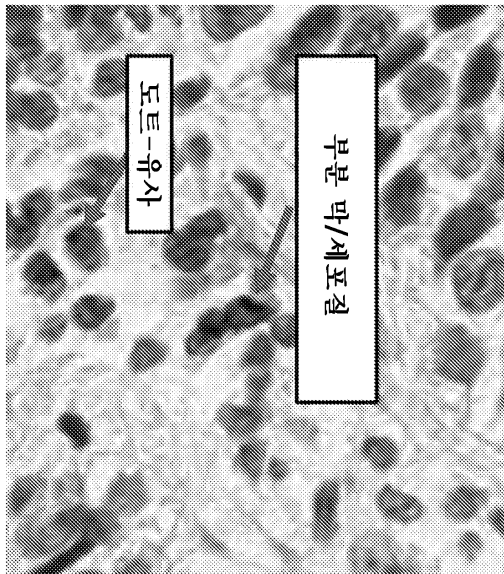
SEQ ID NO:32 모터프

MYPPPY

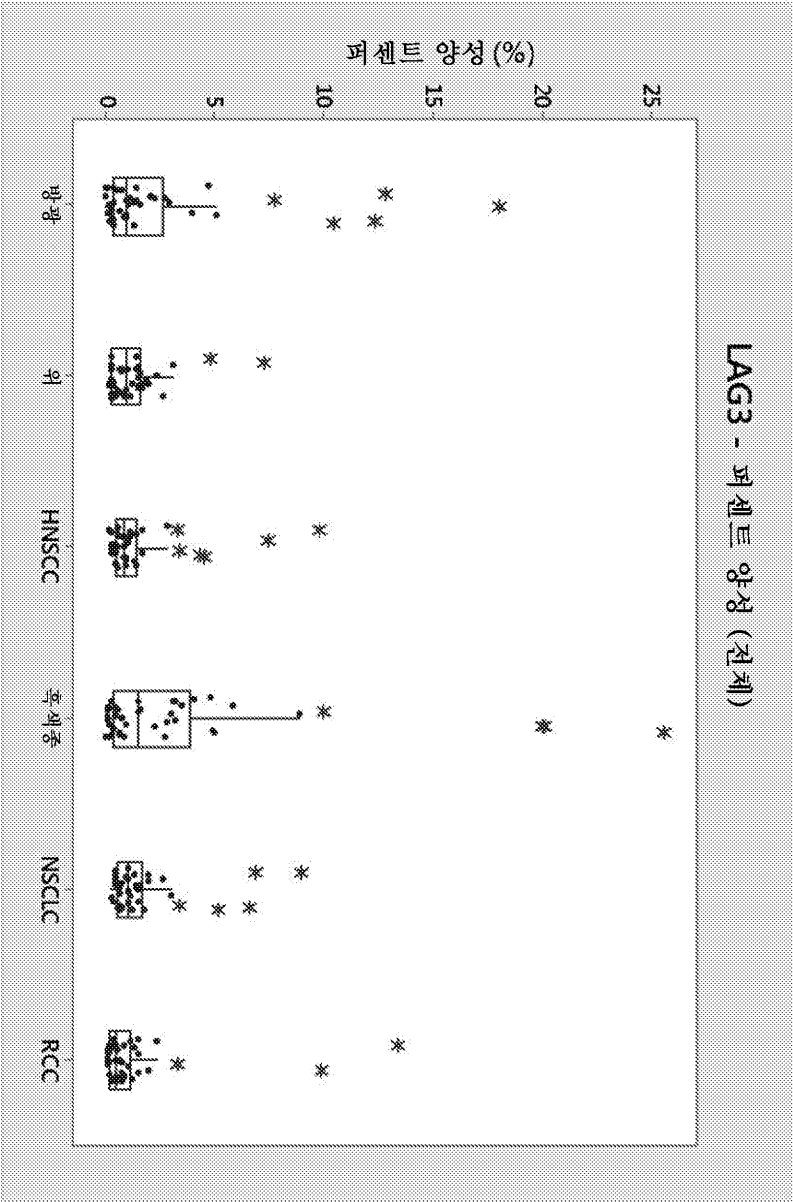
[0460]

도면

도면1

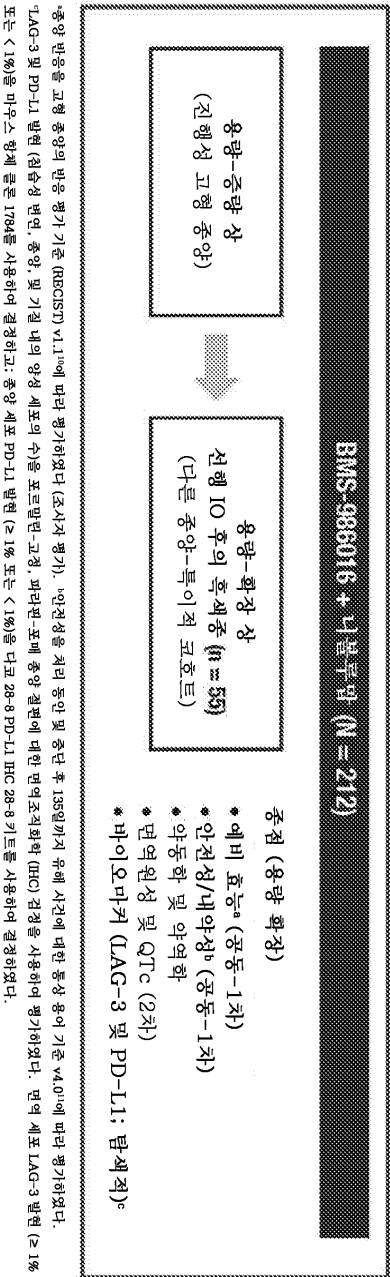


도면2





도면3a



도면3b

항-CTLA-4 및 항-PD-1/PD-L1 항체 조합의 IO 효과에 대한 주요 적격성 기준

표준	적격성 기준
적어도 18세 및 ECOG PS ≤ 1	항-CTLA-4 및/또는 항-PD-1/PD-L1 항체 조합 이외의 IO (예를 들어 항-PD-L2, 항-KIR, 항-CD137, 및 항-OX40)에 대한 진행률
진행성 (전이성 및/또는 절제불가능성) 흑색종	표도마 흑색종
≥ 1% 및 ≤ 3회의 진행률 표준 요법 상의 전이성	비제어된 뇌 전이
요구되는 항-PD-1/PD-L1 (± 항-CTLA-4 ± BRAF ± MEK 억제제)을 사용한 진행률 치료	활성 자가면역 질환
허용되는 시트카인 (IL-2 또는 IFN) 또는 항-CTLA-4 항체를 사용한 진행률 표준 또는 신보조 요법	
RECIST v1.1 <sup>19</sup> 에 따른 적어도 1개의 측정가능한 병변	

CD137, 분화 클러스터 137; CTLA-4, 세포독성 T 림프구 항원-4; ECOG PS, 동부 협동 종양학 그룹 수행 상태; IFN, 인터페론; IL-2, 인터루킨-2; KIR, 항-킬러-세포 이뮤노글로불린-유사 수용체.

도면4

표 1. 기준선 인구통계 및 질환 특징

Mean (range) (n = 55)	
중앙 연령 (범위), 세	59 (25-80)
< 65 세, n (%)	36 (65)
남성, n (%)	29 (71)
인종, n (%)	
백인	52 (95)
흑인	1 (1.8)
아시아인	1 (1.8)
기타	1 (1.8)
EDHS PS, n (%)	
3	28 (68)
4	17 (31)
연구 진입에서의 M 평가, n (%)	
M0	7 (13)
M1A	6 (11)
M1B	4 (7.3)
M1C, 뇌 전이 있음	1 (1.8)
M1C, 뇌 전이 없음	37 (67)
LDH, n (%)	
정상	25 (45)
정상 범위 < 2 × ULN	13 (24)
≥ 2 × ULN	8 (15)
미지	9 (16)
간 전이, n (%)	
있음	11 (20)
없음	44 (80)
BRCA 상태, n (%)	
돌연변이 없음	21 (38)
돌연변이 있음	31 (56)
미지	3 (5.5)

M, 전이.

도면5

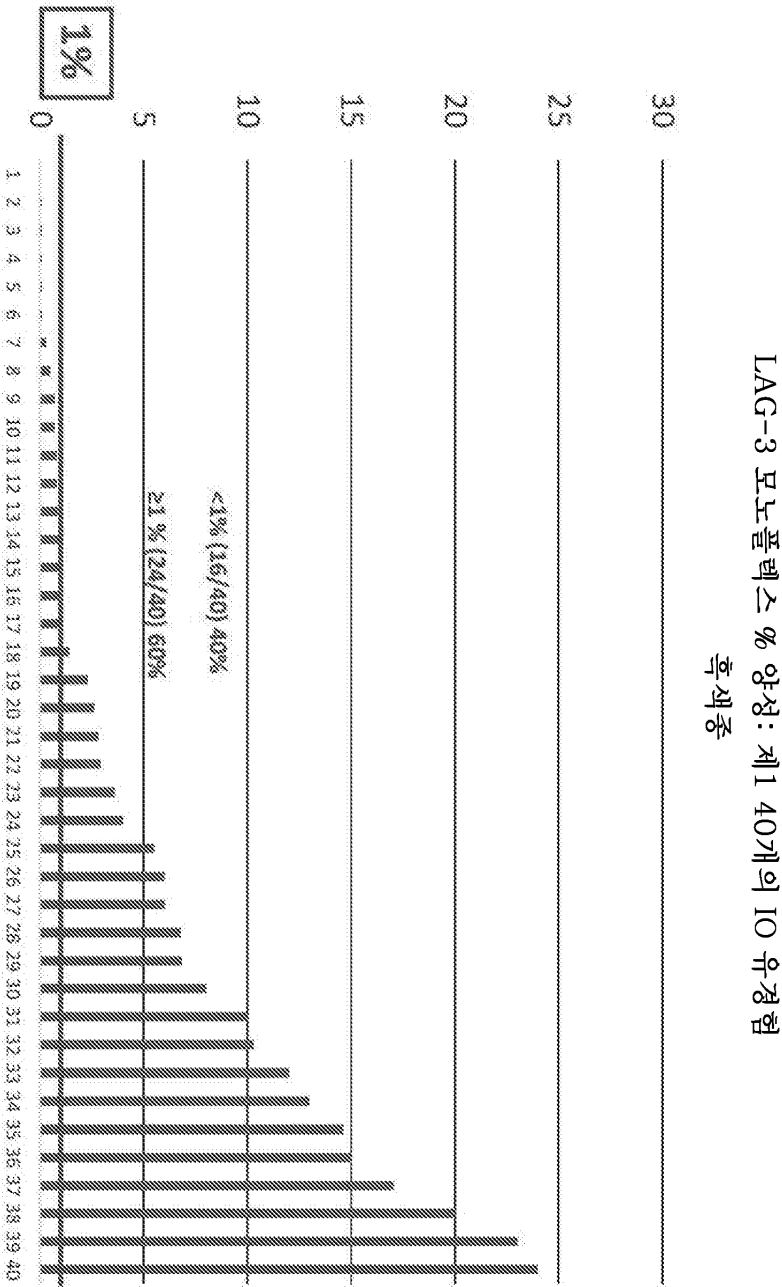
표 2. 실험 요법

연구자 (n)		Med. 실험 (n=55)
실험 방사선 요법		16 (29)
실험 전신 요법		54 (98)
대조 요법		54 (98)
항-CTLA-4		32 (58)
항-PD-1/PD-L1		52 (95)
실험 항-PD-1/PD-L1에 대한 적상 반응		
CR		1 (1.8)
PR		12 (22)
SD		16 (29)
PD		22 (40)
실험 적상		16 (29)
CR		11 (20)
전신 요법의 수		
1		12 (22)
2		17 (31)
3		25 (45)
중양 (범위)		2 (1-5)

CR, 완전 반응; PR, 부분 반응; SD, 안정한 질환; 2명의 환자가 항-PD-1/PD-L1 + 항-CTLA-4를 받았고, 5명의 환자가 항-PD-1/PD-L1 후에 항-CTLA-4를 받았고, 29명의 환자가 항-PD-1/PD-L1 전에 항-CTLA-4를 받았으며, 4명의 환자에서는 선별 항-CTLA-4 요법이 보고되지 않았다. 26명의 환자가 폐보충을 받았고, 25명의 환자가 폐보충을 받았고, 25명의 환자가 다른 요법을 받았고, 2명의 환자가 실험 항-PD-1/PD-L1을 받지 않았으며, 1명의 환자에서는 선별 항-PD-1/PD-L1이 알려지지 않았다. 1명의 환자에서 반응이 격음가능하지 않은 것으로 보고되었다.



도면6



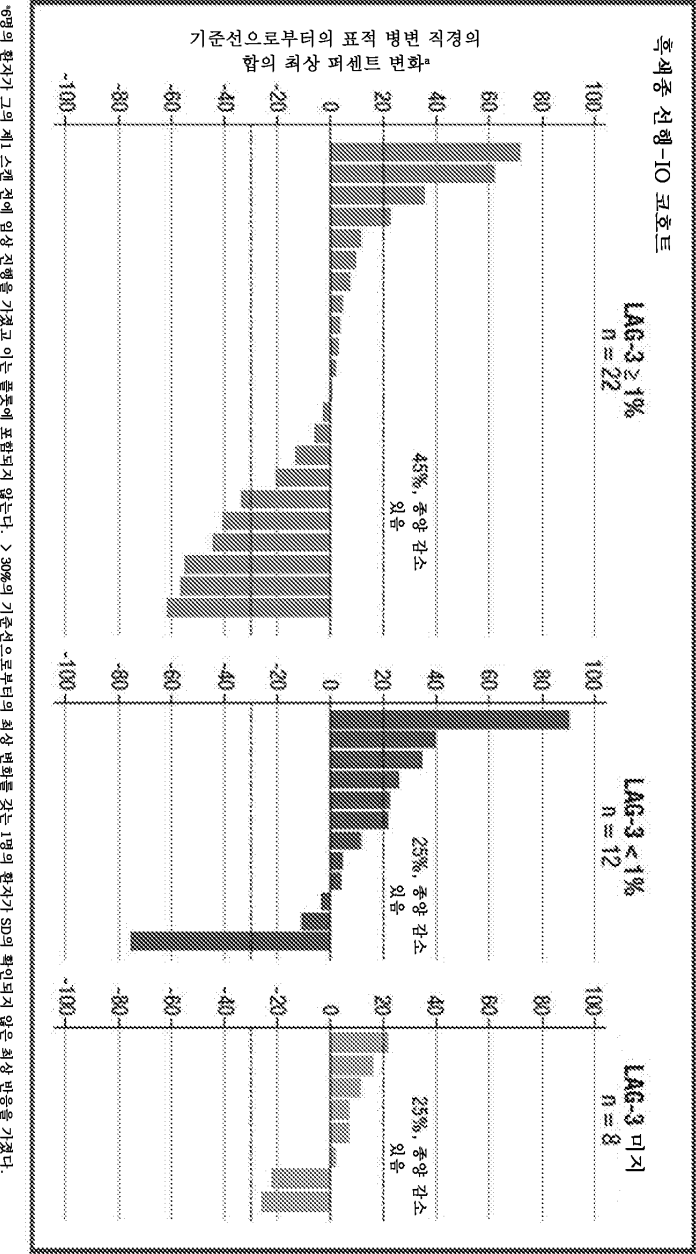
도면7

표 3. 항중양 활성의 예비 증거

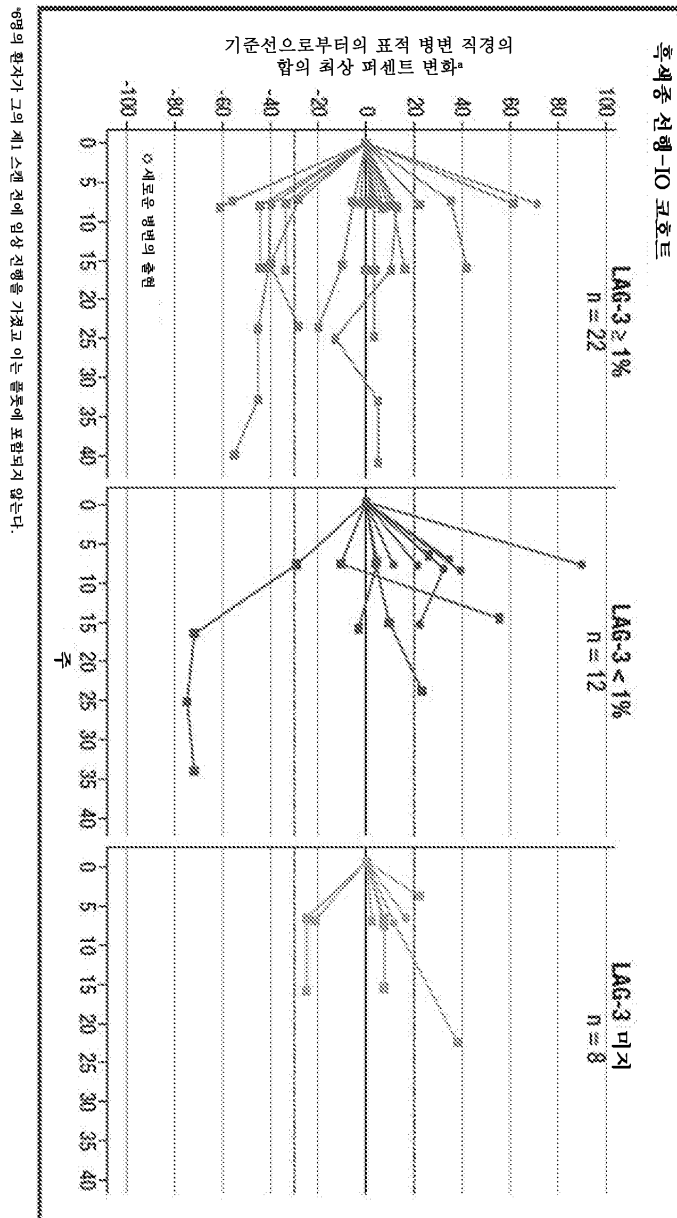
항구 1 (%)	Med 선택 10 (n = 48)
BOR	
CR	0
PR <sup>a</sup>	6 (12)
SD	20 (42)
PD	16 (33)
임상 진행	6 (12)
ORR, 95% CI <sup>b</sup>	8 (12), 4.7, 25
LAG-3 ≥ 1% (n = 25)	5 (20), 6.8, 41
LAG-3 < 1% (n = 14)	1 (7.1), 0.2, 34
DCR (CR + PR + SD) <sup>c</sup>	26 (54)
LAG-3 ≥ 1% (n = 25)	16 (64)
LAG-3 < 1% (n = 14)	5 (36)

BOR, 최종 전체 반응; DCR, 질병 제어율. 모든 반응-평가가능한 환자; 모두 선행 항-PD-1/PD-L1 요법 상태에서 진행되었다. <sup>a</sup>2회의 반응이 확인되지 않았다. <sup>b</sup>제1 방사선촬영 스캔 전에 발생하였다.

도면8



도면9





도면10

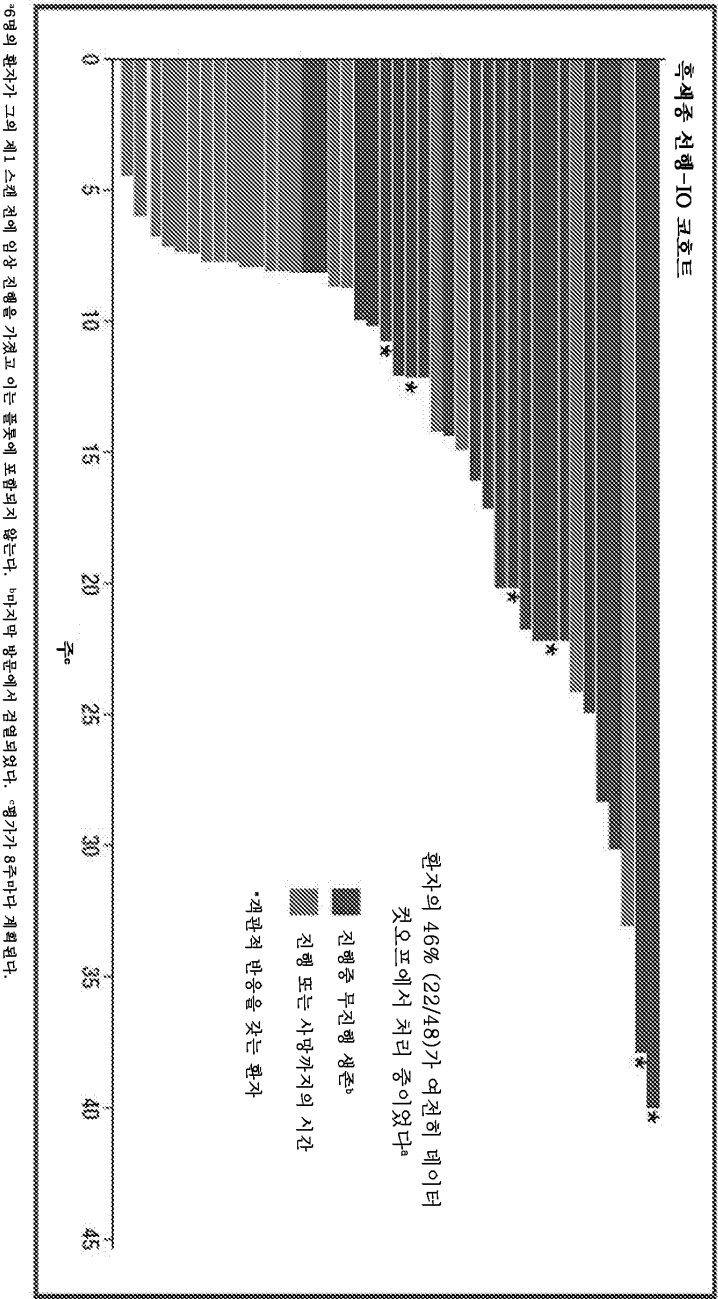
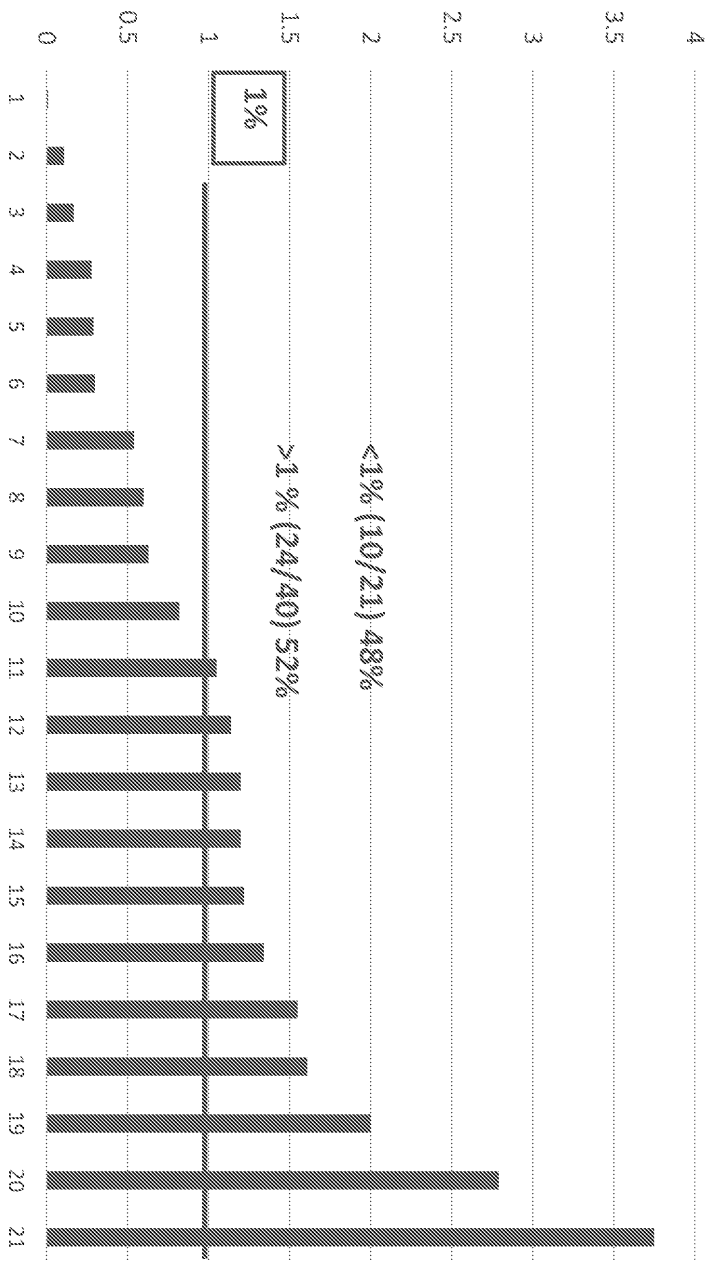


표 4. 기준선 특징에 의한 반응 (조사자 평가됨)

	Med. 전체 IO (n = 409)		
	ORR		
	n	n (%)	95% CI
LAG-3 발현 ≥ 1% < 1%	25 14	5 (20) 1 (1.7)	6.8, 41 0.2, 24
PD-L1 발현 ≥ 1% < 1%	16 19	2 (13) 4 (21)	1.6, 38 6.1, 46
항-PD-1/PD-L1 단독에 대한 선행 BOR에 기초한 반응 CR PR SD CR + PR + SD PD	1 12 14 27 20	0 2 (17) 1 (7.1) 3 (11) 2 (10)	- - - 2.4, 29 1.2, 32
연구 전임에서의 M 병기 M1A M1B M1C, 뇌 전이 있음 M1C, 뇌 전이 없음	8 3 1 32	1 (17) 0 0 4 (13)	0.4, 64 0.71 0.97, 5 3.5, 29
간 전이 있음 없음	11 37	1 (9.1) 5 (14)	0.2, 41 4.5, 29
BRCA 상태 돌연변이 돌연변이 없음	19 28	0 6 (21)	0.18 8.3, 41

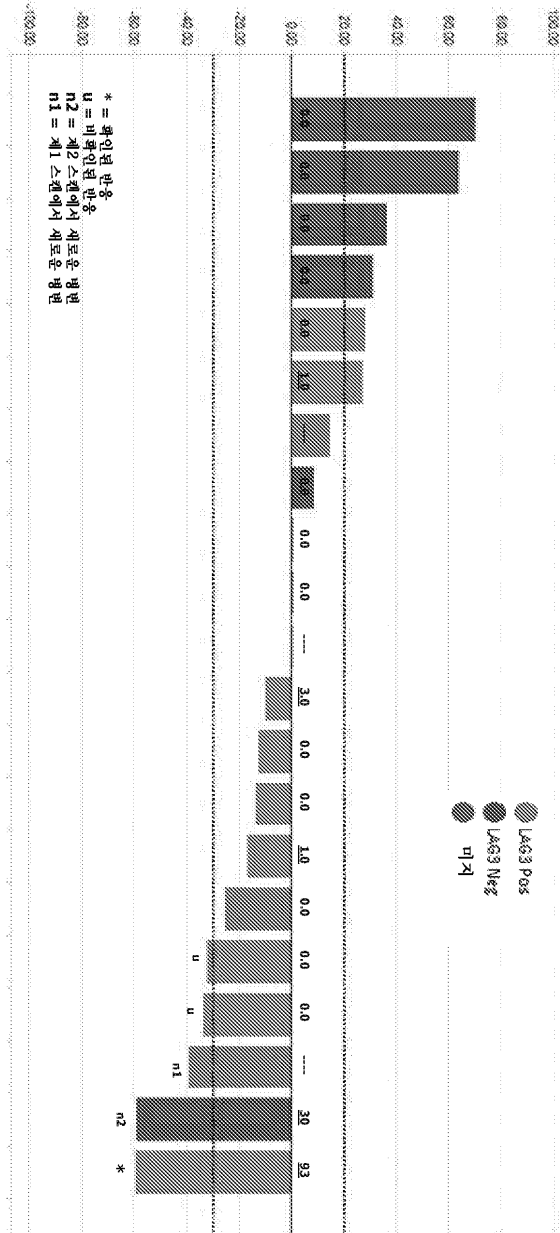
- 모든 반응 평가 가능한 환자: 모두 선행 항-PD-1/PD-L1 요법 상태에서 진행되었다.

## 위 LAG3 염색 제1 21명의 대상체



도면12

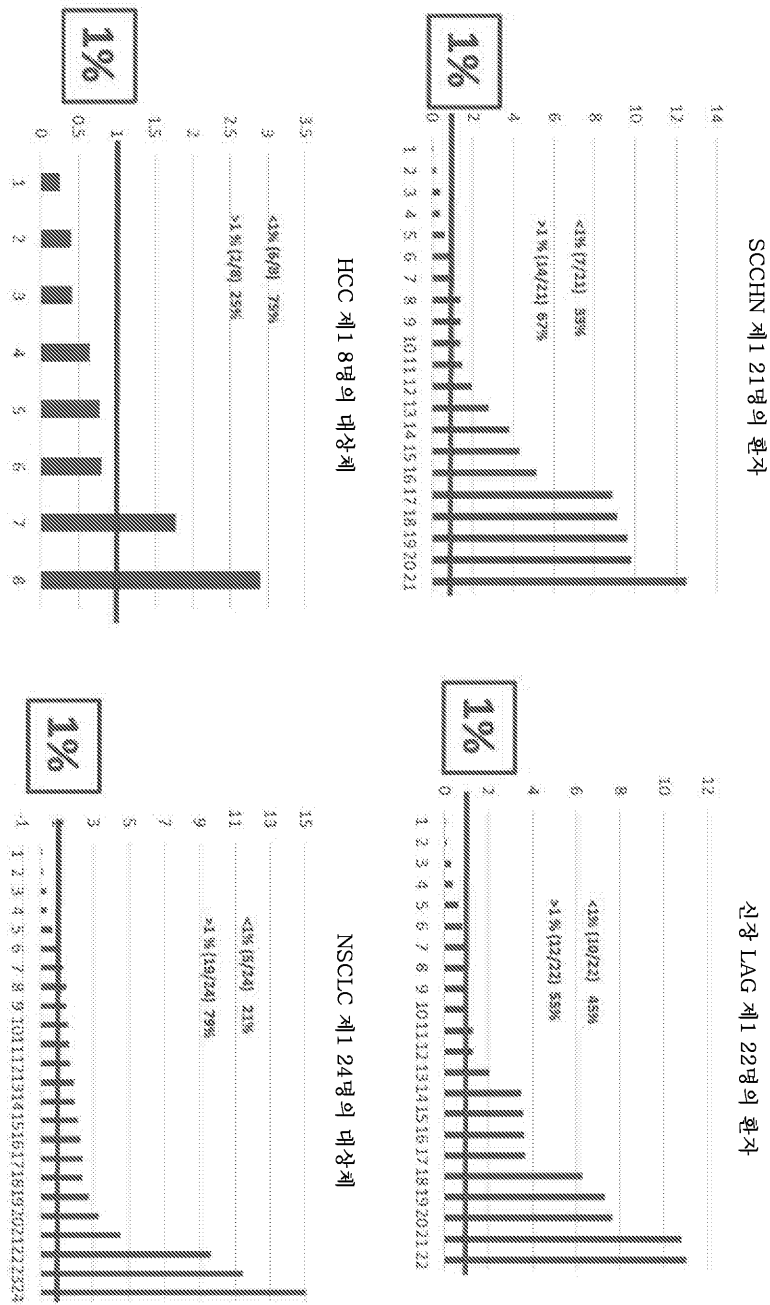
도면 13



IO 나이브 위 환자에서의  
LAG-3 + nivolumab의 임상 활성  
LAG+ 환자에서 풍부화됨

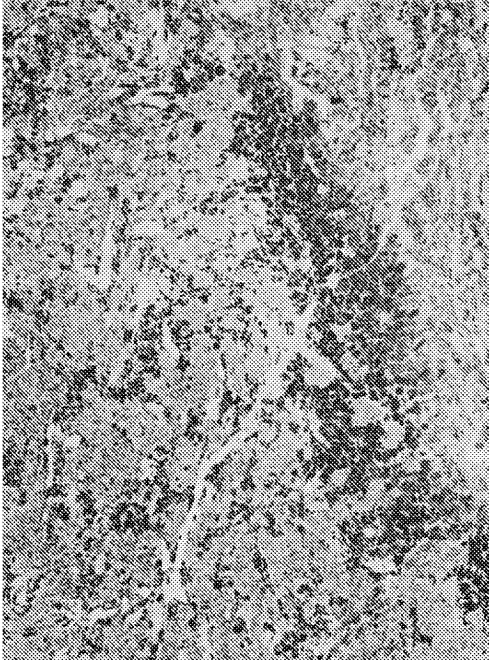


도면14



도면15a

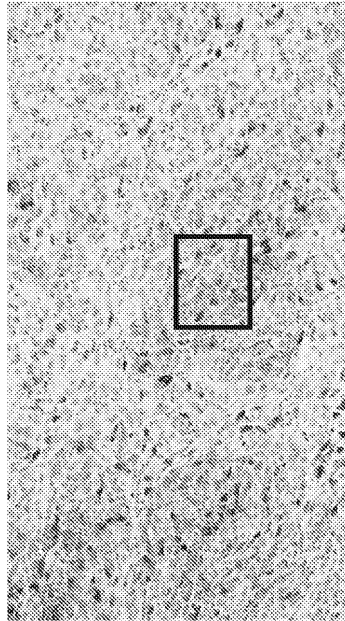
표백 없는 색소성 흑색종  
(혈을 헤마톡실린으로 대조염색함)



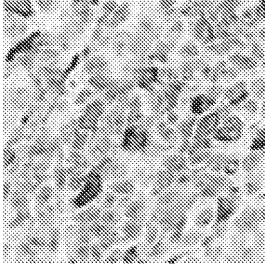
표백 후의 색소성 흑색종  
(혈을 헤마톡실린으로 대조염색함)



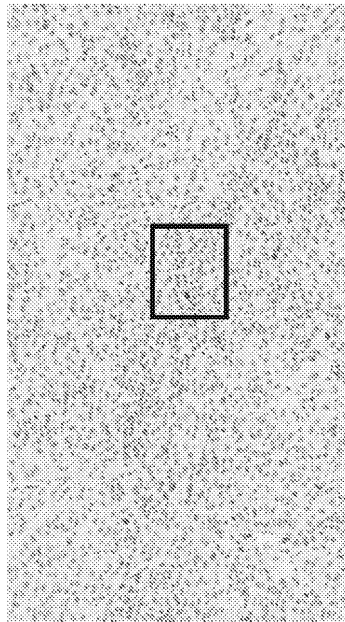
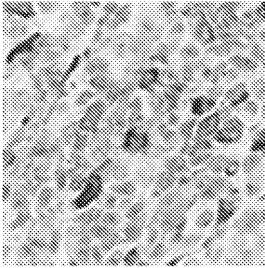
도면15b



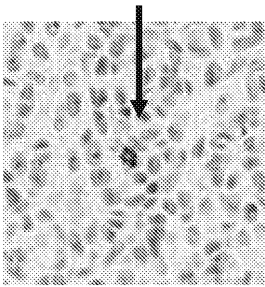
색소성 흑색종 - 표백 없이  
IHC에 의한 LAG-3  
(핵을 헤마톡실린으로 대조염색함)



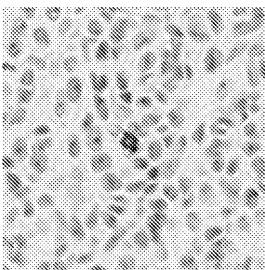
멜라닌으로부터 구별 불가능한 LAG-3 IHC



색소성 흑색종 - 표백 후의  
IHC에 의한 LAG3  
(핵을 헤마톡실린으로 대조염색함)

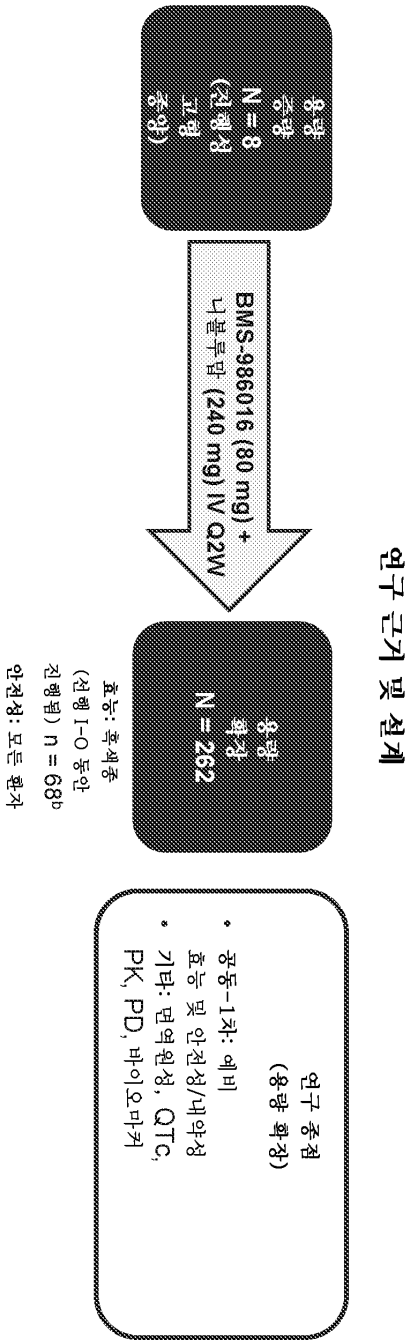


표백 후의 LAG-3 IHC



도면16

<sup>b</sup>61 명의 환자가 반응-평가가 가능하였다.





기준선 인구통계 및 질환 특징

	Me1 선행 PD-(L)1 n = 68	Me1 선행 PD-(L)1 n = 68
중앙 연령 (범위), 세	60 (25-81)	
< 65 세, n (%)	44 (65)	
남성, n (%)	46 (68)	
인종, n (%)		
백인	65 (96)	
기타	3 (4.4)	
ECOG PS, n (%)		
0	44 (65)	
1	24 (35)	
연구 진입에서의 M 병기, n (%)		
M0	6 (8.8)	
M1A	7 (10)	
M1B	8 (12)	
M1C, 뇌 전이 있음	1 (1.5)	
M1C, 뇌 전이 없음	46 (68)	

	Me1 선행 PD-(L)1 n = 68	Me1 선행 PD-(L)1 n = 68
LDH, n (%)		
정상	35 (51)	
정상 내지 < 2 × ULN	15 (22)	
≥ 2 × ULN	9 (13)	
미지	9 (13)	
간 전이, n (%)		
없음	51 (75)	
있음	17 (25)	
BRAF 상태, n (%)		
돌연변이 없음	43 (63)	
돌연변이	23 (34)	
미지	2 (2.9)	

ECOG PS, 동부 협동 종양학 그룹 수행 상태; LDH, 락테이트 탈하이드로게나제; M, 전이; Me1 선행 PD-(L)1, 선행 항-PD-1/PD-L1 요법 동안 진행된 흑색종을 갖는 환자; ULN, 정상 상한치.

선행 요법

		선행 PD-(L)1 n = 53
선행 방사선요법, n (%)		19 (28)
선행 전신 요법, n (%)		68 (100)
면역요법		68 (100)
항-CTLA-4 <sup>a</sup>		39 (57)
항-PD-1/PD-L1 <sup>b</sup>		68 (100)
선행 항-PD-1/PD-L1에 대한 최상 반응 <sup>c</sup>		
CR		1 (1.5)
PR		12 (18)
SD		20 (29)
PD		31 (46)
BRAF 억제제		19 (28)
MEK 억제제		13 (19)
전신 요법의 수		
1		16 (24)
2		21 (31)
≥ 3		31 (46)
증양 (범위)		2 (1-5)

CR, 완전 반응; CTLA-4, 세포독성 T 림프구 항원-4;  
PD, 진행성 질환; PR, 부분 반응; SD, 안정한 질환.  
<sup>a</sup>4명의 환자가 항-PD-1/PD-L1 + 항-CTLA-4를 받았고, 8명의 환자가 항-PD-1/PD-L1 후에 항-CTLA-4를 받았고, 33명의 환자가 항-PD-1/PD-L1 전에 항-CTLA-4를 받았으며; 2명의 환자에서는 선행 항-CTLA-4 요법이 보고되지 않았다. <sup>b</sup>33명의 환자가 나볼투맙을 받았고, 33명의 환자가 펌브롤리주맙을 받았고, 2명의 환자가 다른 요법을 받았다. <sup>c</sup>1명의 환자에서 반응이 적용가능하지 않은 것으로 보고되었다.

BMS-986016 + 나블루팜의 항종양 활성

	Met 선행 PD-(L)1 <sup>a</sup>	
	전체 n = 64	LAG-3 ≥ 1% <sup>c</sup> n = 33
ORR, <sup>c</sup> n (%) 95% CI	7 (11.5) <sup>d</sup> 4.7, 22	6 (18) <sup>d</sup> 7, 36
BOR, <sup>c</sup> n (%)		
CR	1 (1.6)	1 (3.0)
PR	6 (9.8) <sup>d</sup>	5 (15) <sup>d</sup>
SD	23 (38)	15 (45)
PD	25 (41)	8 (24)
임상 진행 <sup>e</sup>	6 (9.8)	4 (12)
DCR (CR + PR + SD), <sup>c</sup> n (%) 95% CI	30 (49) 36, 62	21 (64) 45, 80

BOR, 최상 전체 반응.  
<sup>a</sup>반응-평가가능한 환자: 모두 선행 항-PD-1/PD-L1 요법 동안 진행되었다. <sup>b</sup>면역-세포 사멸 LAG-3 발현 (침습성 변연, 종양, 및 기질 내의 양성 세포의 퍼센트)을 항체-결합 17B4를 사용하여 종양 절편에서 IHC에 의해 평가하였다. <sup>c</sup>종양 반응을 고품종 종양의 반응 평가 기준 v1.1에 따라 조사자에 의해 평가하였다. <sup>d</sup>1회의 반응이 확인되지 않았다. <sup>e</sup>제1 병사진행성 스캔 전에 발생하였다.

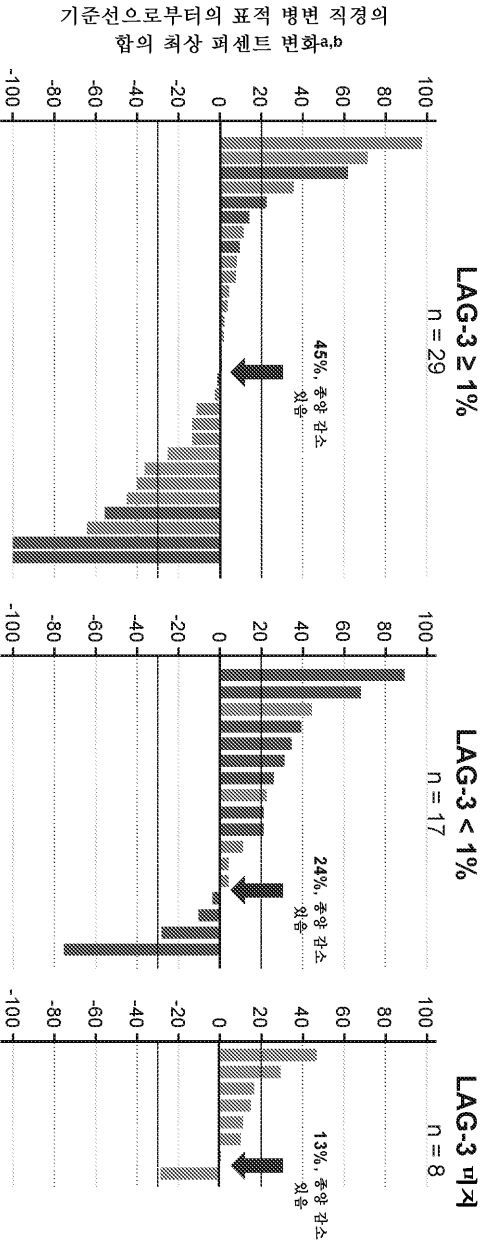
기준선 특징 및 LAG-3 발현에 의한 반응

	Met/선행 PD-L1 <sup>a</sup>			
	LAG-3 발현 (N = 53)			
	LAG-3 ≥ 1%		LAG-3 < 1%	
	N	ORR, n (%)	N	ORR, n (%)
PD-L1 발현 <sup>b</sup> (N = 44)				
≥ 1%	16	1 (6.3)	4	0
< 1%	11	3 (27)	13	1 (7.7)
BRCA 상태 (N = 52)				
불연변이 있음	21	5 (24)	11	1 (9.1)
불연변이 없음	11	1 (9.1)	9	0
선행 항-CTLA-4 (N = 53)				
없음	12	1 (8.3)	7	1 (14)
있음	21	5 (24)	13	0

<sup>a</sup>반응-평가가능한 환자; 모두 선행 항-PD-L1/PD-L1 요법 동안 진행되었다. <sup>b</sup>종양-세포 PD-L1 발현 (침습성 변연, 종양, 및 기질 내의 양성 세포의 퍼센트)을 주로 PD-L1 IHC 28-8 키트를 사용하여 중앙 절편에서 IHC에 의해 평가하였다.



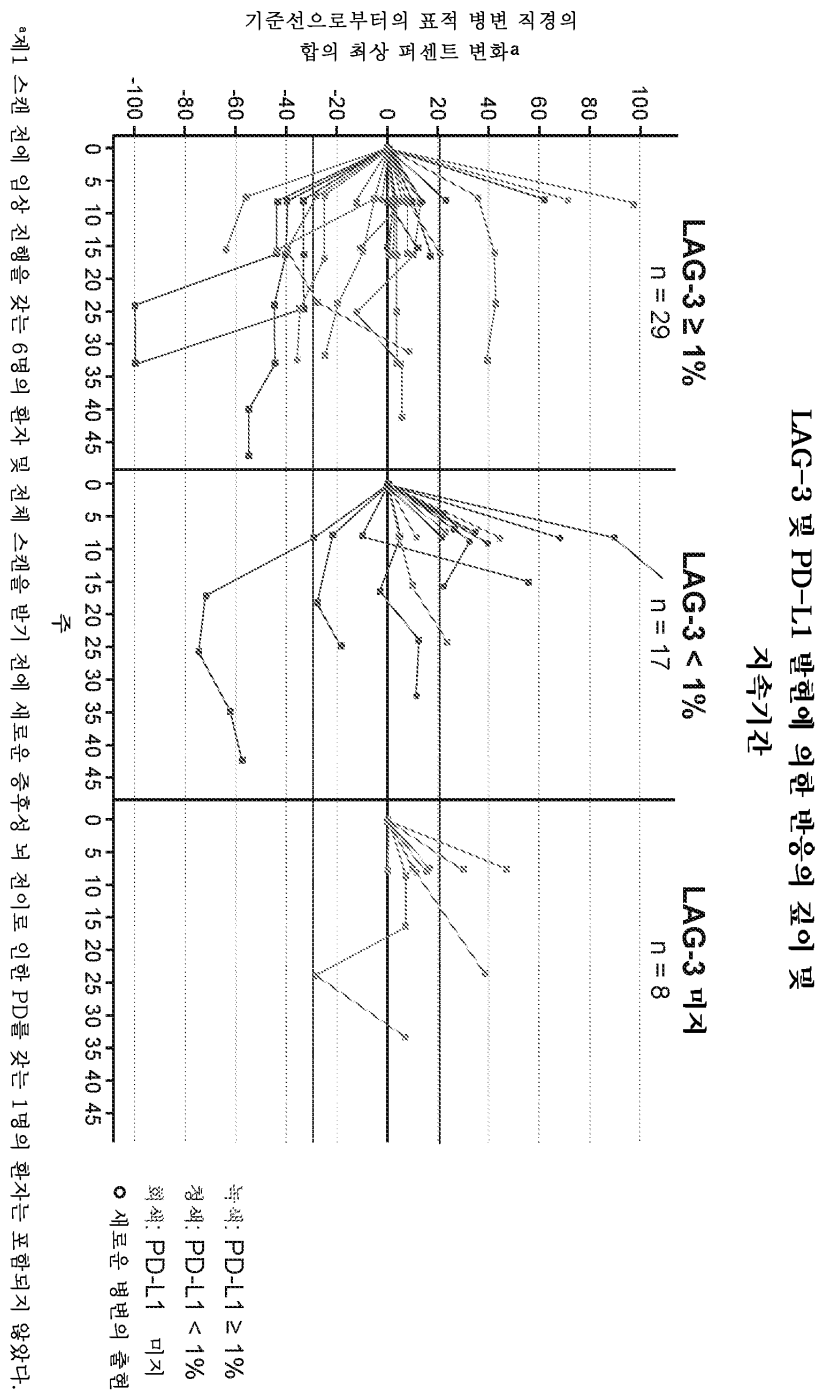
LAG-3 및 PD-L1 발현에 의한  
표적 병변 크기의 최상 변화



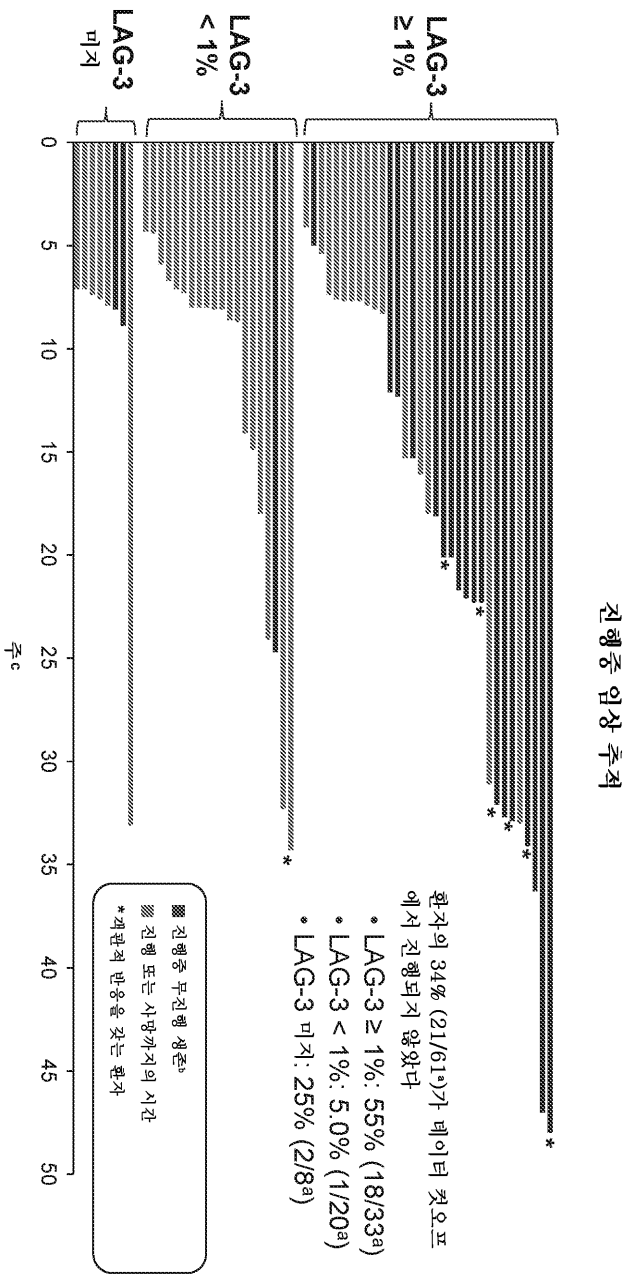
도면21

\*제1 스캔 전에 임상 진행을 갖는 6명의 환자 및 전체 스캔을 받기 전에 영상화된 새로운 증후성 뇌 전이로 인한 PD를 갖는 1명의 환자는 포함되지 않았다.  
→ 30%의 기준선으로부터의 최상 변화를 갖는 1명의 환자가 SD의 최상 반응을 가졌다.

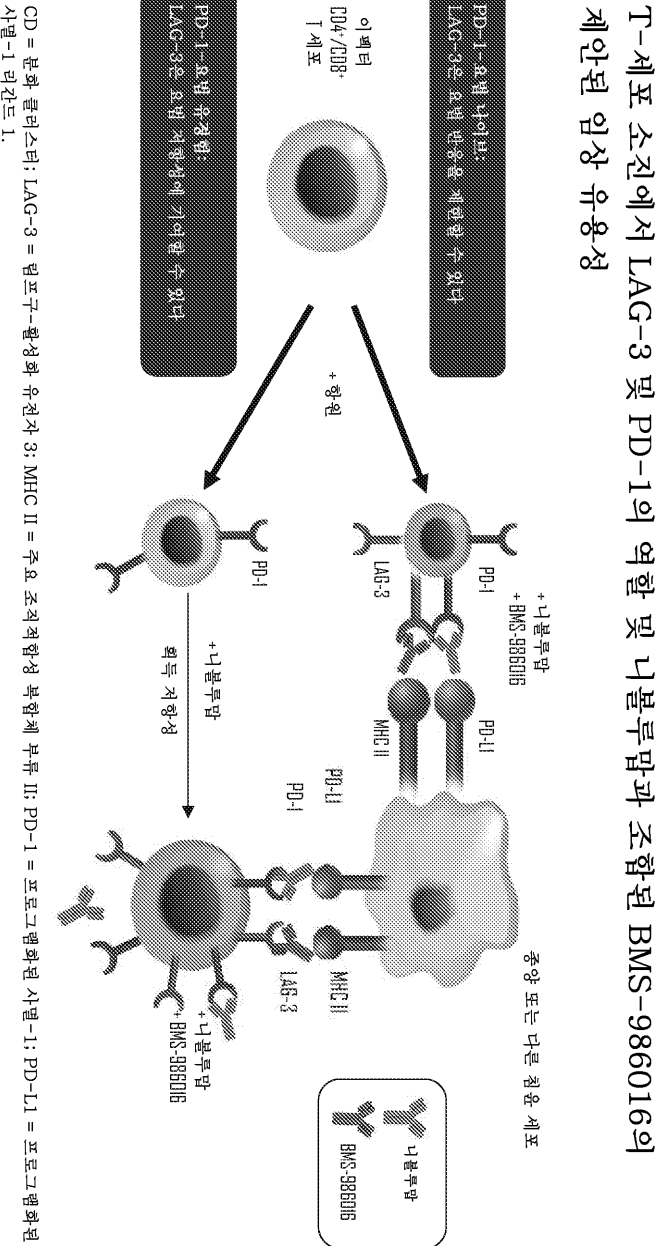
도면22



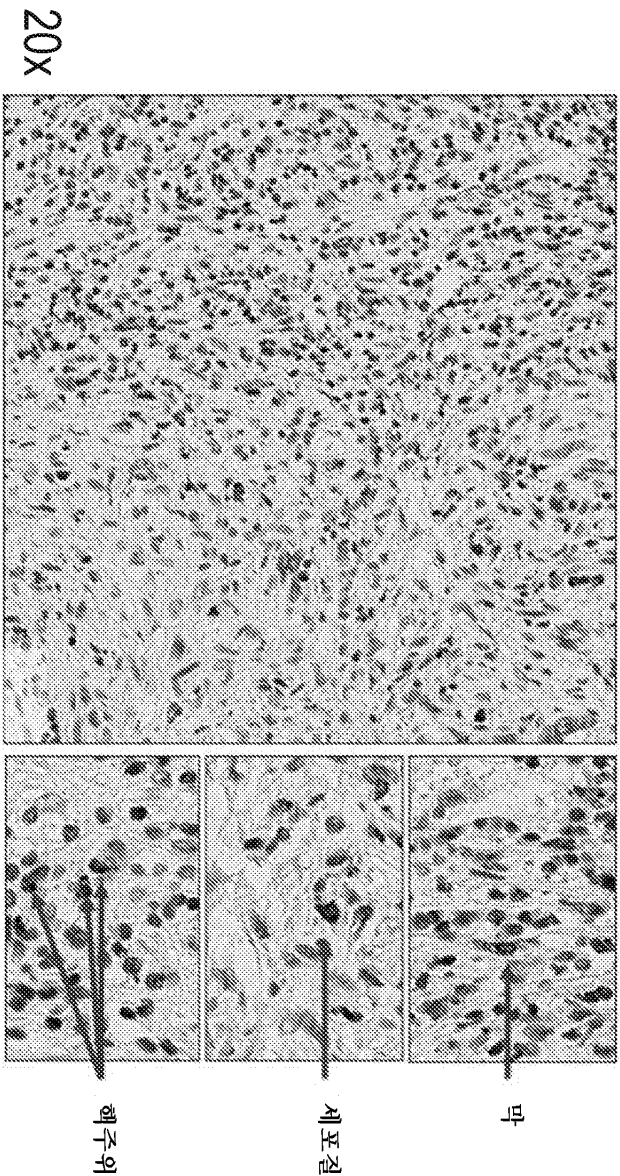
도면23



<sup>a</sup>반응-평가가 가능한 환자: 모두 선행 항-PD-L1/PD-L1 요법 동안 진행되었다. <sup>b</sup>마지막 방문에서 검열되었다.  
<sup>c</sup>평가가 8주마다 계획된다.



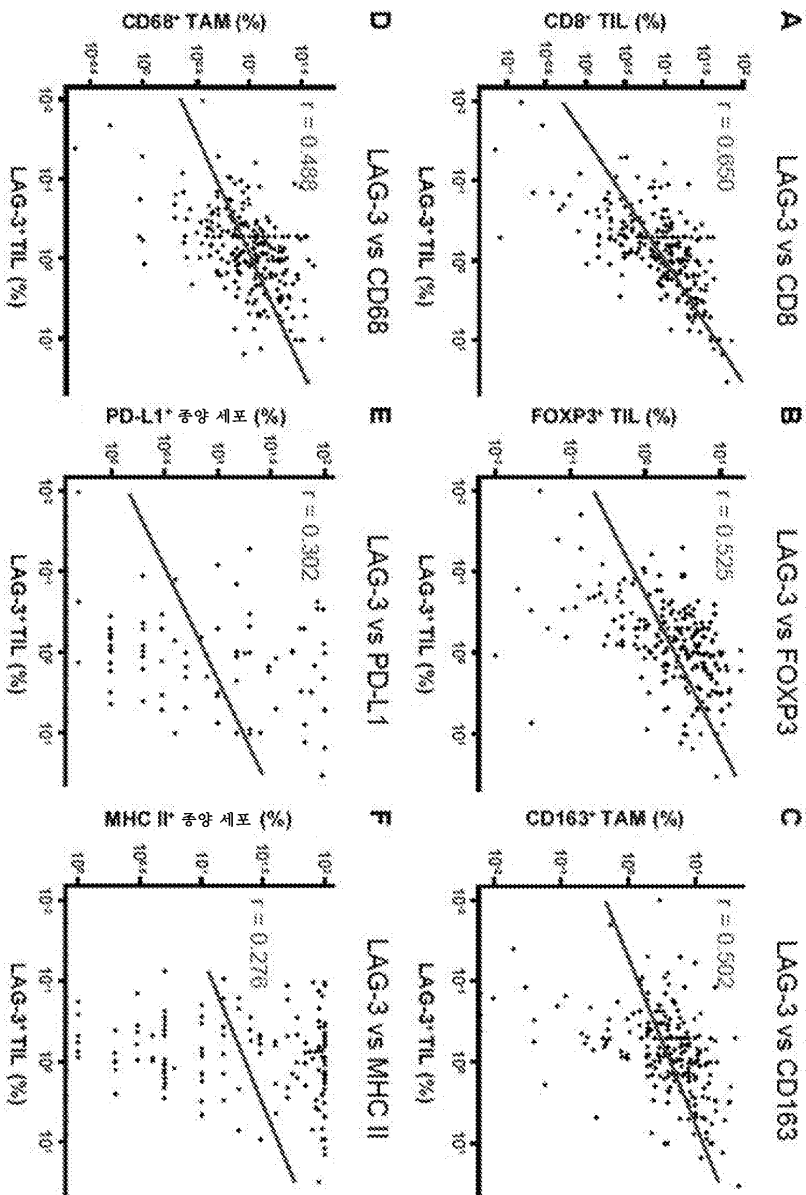
흑색종 종양 시편에서의 총 유핵 세포의 IHC 염색에 의한 LAG-3 발현 패턴



IHC = 면역조직화학; LAG-3 = 림프구-활성화 유전자 3.

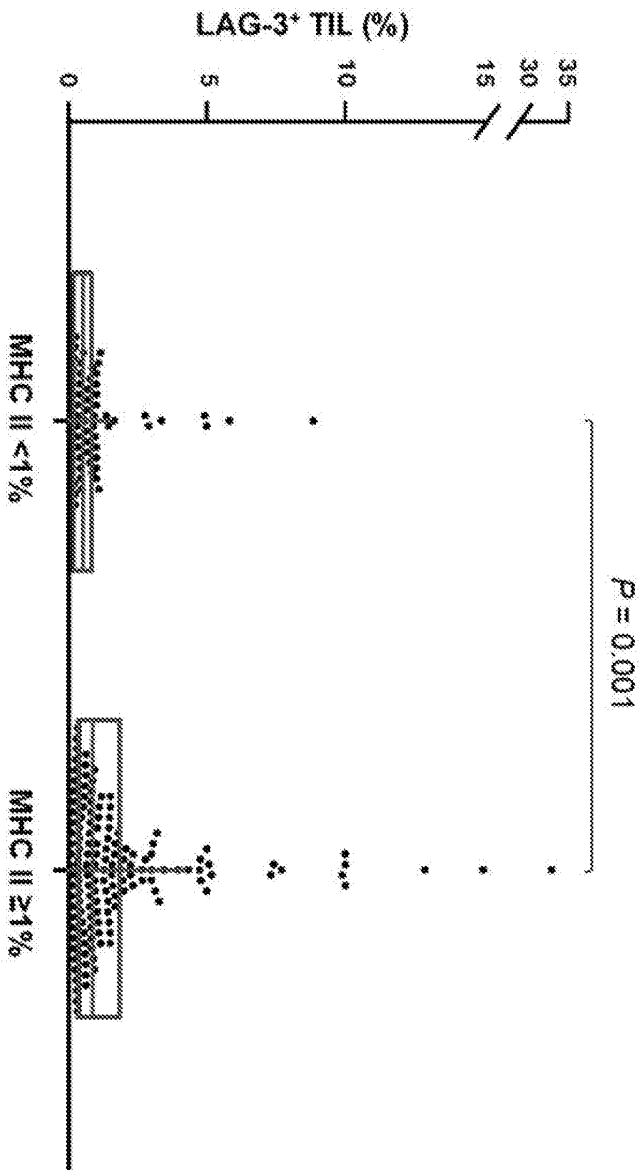


## LAG-3과 면역 및 염증 바이오마커의 회합



n = 237. LAG-3, CD8, FOXP3, CD163, CD68은 면역 세포에 대해 정량화하고, PD-L1 및 MHC II를 종양 세포에 대해 정량화하였다. CD = 분화 클러스터; FOXP3 = 포크헤드 박스 P3; LAG-3 = 림프구-활성화 유전자 3; MHC II = 주요 조직적합성 복합체 부류 II; PD-L1 = 프로그램화된 사멸-1 리간드 1; TAM = 종양-연관 대식세포; TIL = 종양-침윤 림프구.

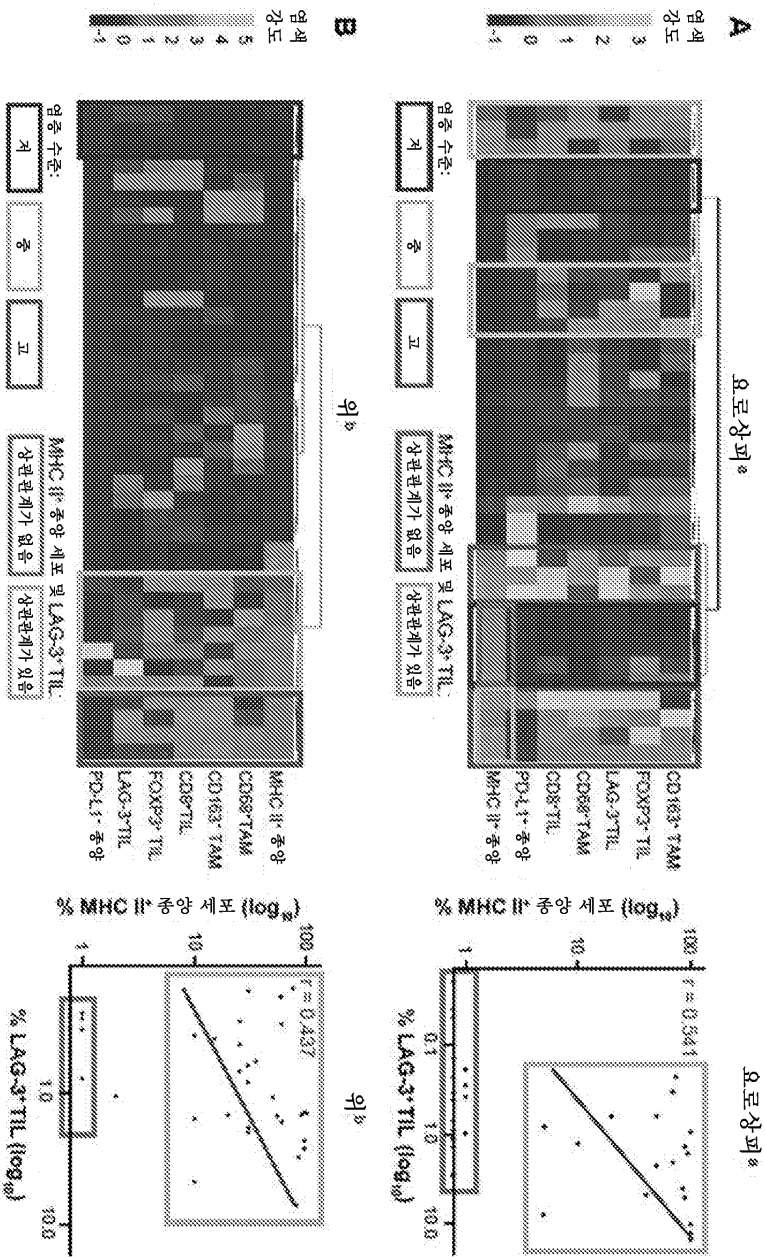
# MHC II 중양 세포 발현에 의한 LAG-3<sup>+</sup> TIL



n = 241. 수직 막대는 사분위간 범위를 나타낸다. LAG-3 = 림프구-활성화 유전자 3; MHC II = 주요 조직복합성 복합체 부류 II; TIL = 종양-침윤 림프구.

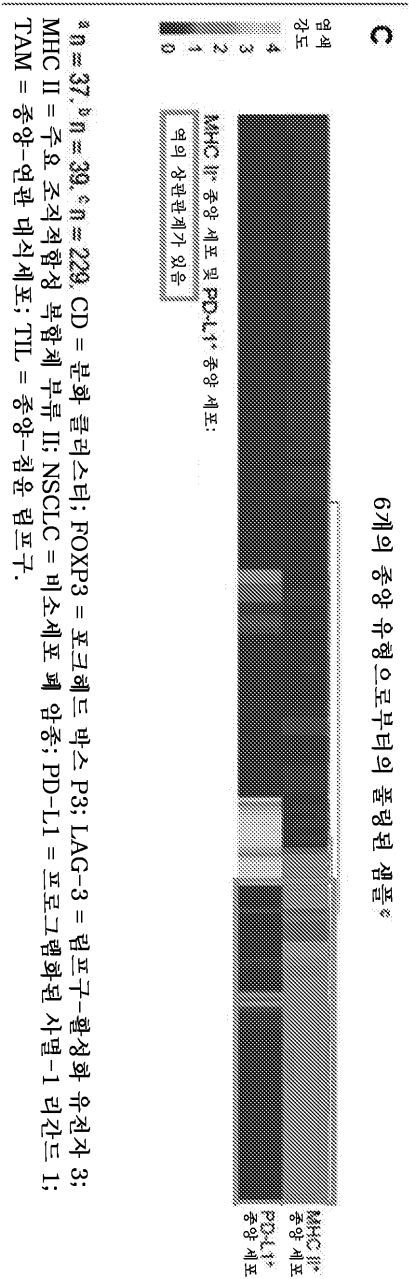
도면27

염증 클러스터와 바이오마커 발현 사이의 관계



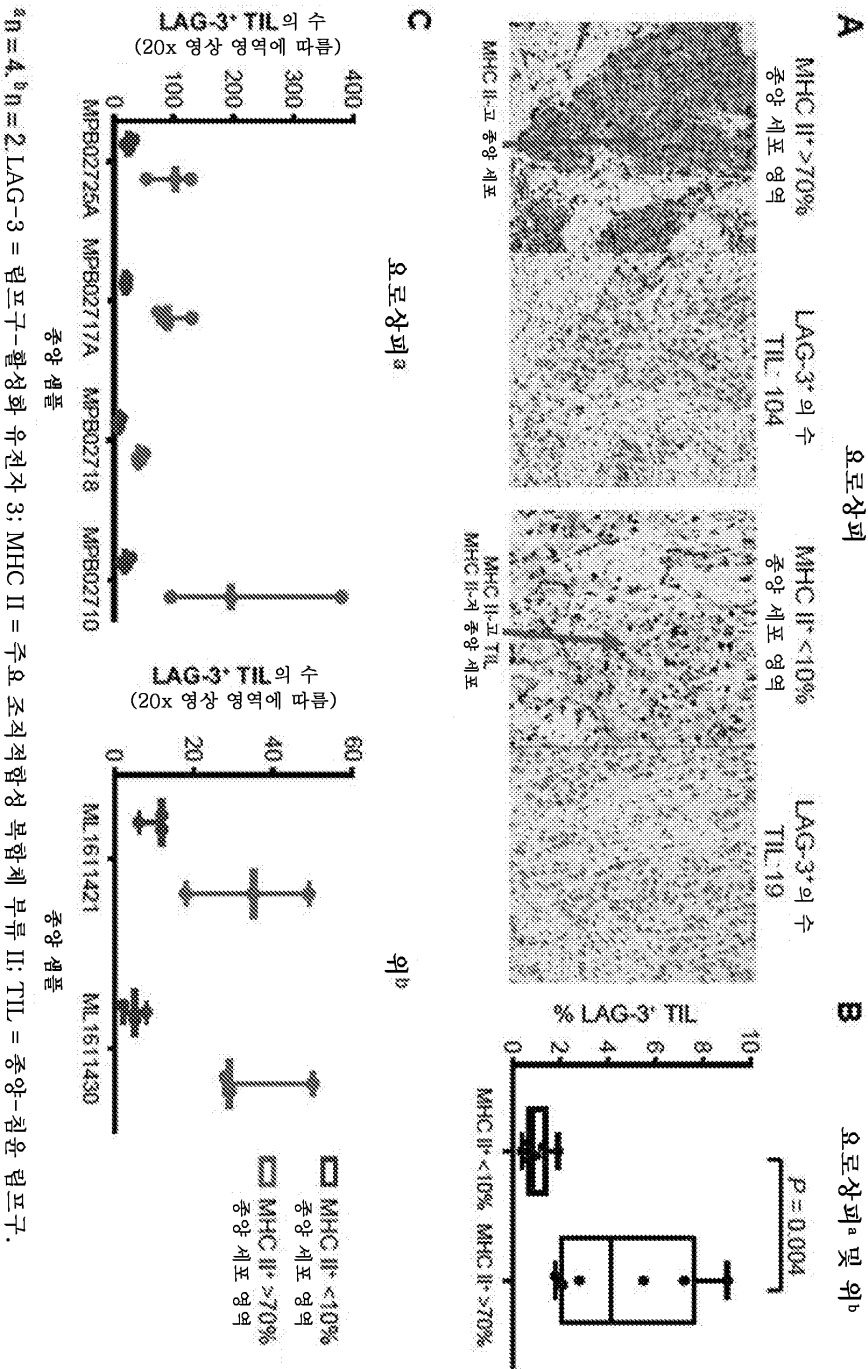
\*n = 37, %n = 39, %n = 229, CD = 분화 클러스터; FOXP3 = 포크헤드 박스 P3; LAG-3 = 림프구-활성화 유전자 3; MHC II = 주요 조직적합성 복합체 부류 II; NSCLC = 비소세포 폐암; PD-L1 = 프로그램화될 사멸-1 리간드 1; TAM = 종양-연관 대식세포; TIL = 종양-침윤 림프구.

도면28ii



염증 클러스터와 바이오마커 발현 사이의 관계

이중 MHC II 종양 세포 발현 및 LAG-3<sup>+</sup> TIL

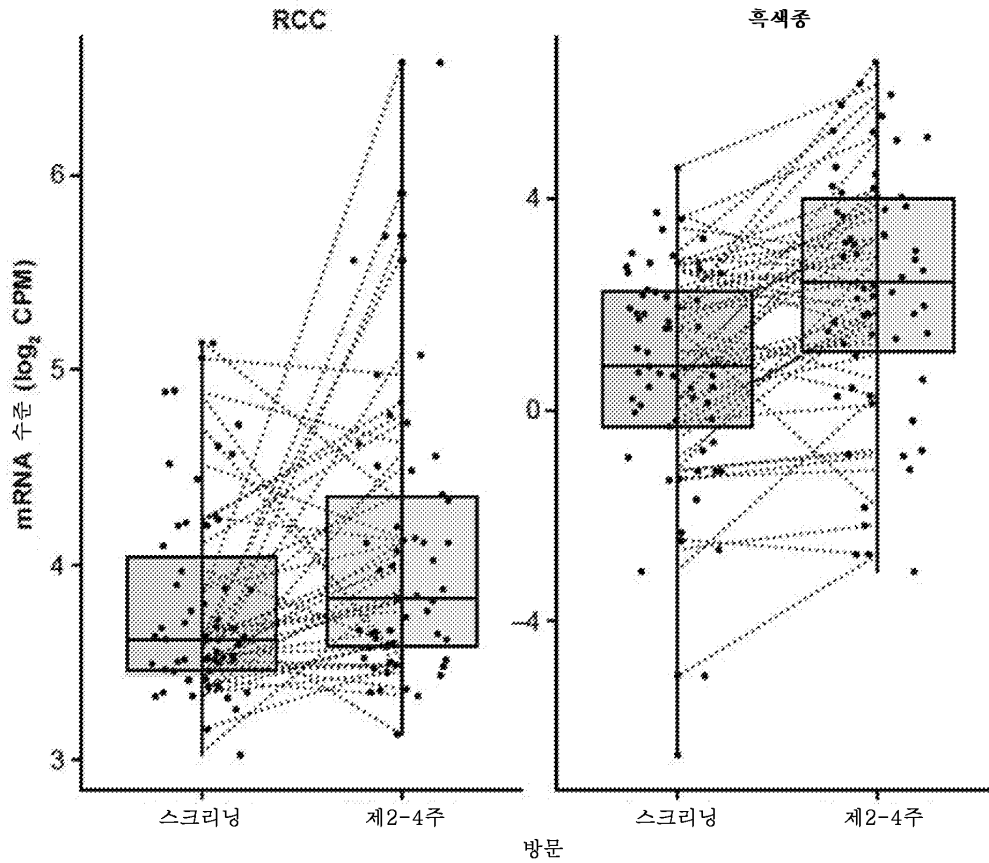


도면29



도면30a

스크리닝에서의 및 니볼루맙 단독요법의 제2-4주에서의  
LAG-3 mRNA 수준



도면30b

스크리닝에서의 및 니블루맙 단독요법의 제2-4주에서의  
LAG-3 mRNA 수준

LAG-3 mRNA 수준의 변화		RCC	흑색종
n 처리전, 처리후		59, 55	61, 62
p 값		0.0479	0.00002
처리전 기준선으로부터의 평균 배수 증가		1.2	3.1

파선은 동일한 환자로부터의 샘플을 나타낸다. CPM = 백만당 카운트; LAG-3 = 림프구-활성화 유전자 3; RCC = 신세포 암종.

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY  
NOVOTNY, JAMES JR.  
LONGBERG, NILS  
HEDVAT, CYRUS  
CLYNES, RAPHAEL

LOCKE, DARREN

COGSWELL, JOHN P.

JACKSON, JEFFREY

HARBISON, CHRISTOPHER

EDWARDS, ROBIN

<120> TREATMENT OF LAG-3 POSITIVE TUMORS

<130> 3338.070PC04/ELE/PAC/E-H

<150> 62/512,648

<151> 2017-05-30

<150> 62/513,813

<151> 2017-06-01

<150> 62/555,176

<151> 2017-09-07

<150> 62/582,178

<151> 2017-11-06

<160> 32

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Arg Gly Ser Thr Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

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

65                                70                                75                                80  
 Lys Leu Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
    85                                90                                95  
 Phe Gly Tyr Ser Asp Tyr Glu Tyr Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln  
  
    100                                105                                110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
    115                                120                                125  
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala  
    130                                135                                140  
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145                                150                                155                                160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
  
    165                                170                                175  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
    180                                185                                190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys  
    195                                200                                205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro  
    210                                215                                220  
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val  
  
 225                                230                                235                                240  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
    245                                250                                255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu  
    260                                265                                270  
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
    275                                280                                285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
  
    290                                295                                300  
 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> 2

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 2

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45  
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80



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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Asn Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 3

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Variable Region (VH) Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3

mAb (BMS-986016)

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 4  
 <211> 360  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Heavy Chain Variable Region (VH) Nucleotide Sequence; Anti-LAG-3  
 mAb (BMS-986016)

<400> 4  
 caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcgagac cctgtccctc 60  
 acctgcgctg tctatggtag gtccttcagt gattactact ggaactggat ccgccagccc 120  
 ccaggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcatc gtggaagcac caactccaac 180

ccgtccctca agagtcgagt caccctatca ctagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240  
 aagctgaggt ctgtgaccgc cgcgacacg gctgtgtatt actgtgcgtt tggatatagt 300  
 gactacgagt acaactggtt cgaccctgg gccaggga cctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 5  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Light Chain Variable Region (VL) Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3  
 mAb (BMS-986016)

<400> 5  
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Asn Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 6

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Region (VL) Nucleotide Sequence; Anti-LAG-3  
 mAb (BMS-986016)

<400> 6

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtattagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggcctctcac ttttgccag 300

gggaccaacc tggagatcaa a 321

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR1 Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb  
 (BMS-986016)

<400> 7

Asp Tyr Tyr Trp Asn

1 5

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR2 Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 8

Glu Ile Asn His Arg Gly Ser Thr Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 9

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR3 Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 9

Gly Tyr Ser Asp Tyr Glu Tyr Asn Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR1 Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 10

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR2 Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 11

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR3 Amino Acid Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 12

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 13

<211> 525

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human LAG-3 Amino Acid Sequence

<400> 13

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln

50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly

100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

115 120 125

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

130 135 140



Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys  
145 150 155 160

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro  
165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser  
180 185 190

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln  
195 200 205

Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser  
210 215 220

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly  
225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn  
245 250 255

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala  
260 265 270

Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val  
275 280 285

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly  
290 295 300

Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu  
305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His  
325 330 335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr  
340 345 350

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu  
355 360 365

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser  
370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

385                      390                      395                      400  
 Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln  
                          405                      410                      415

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

Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln  
                          485                      490                      495  
 Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro  
                          500                      505                      510  
 Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln Leu  
                          515                      520                      525

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LAG-3 Epitope

<400> 14

Pro Gly His Pro Leu Ala Pro Gly

1                      5

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LAG-3 Epitope

<400> 15

His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp

1 5

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LAG-3 Epitope

<400> 16

Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly

1 5

<210> 17

<211> 440

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130                      135                      140  
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
 145                      150                      155                      160  
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
                          165                      170                      175  
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys  
                          180                      185                      190  
  
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
                          195                      200                      205  
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
                          210                      215                      220  
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 225                      230                      235                      240  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
                          245                      250                      255  
  
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val  
                          260                      265                      270  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
                          275                      280                      285  
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
                          290                      295                      300  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly  
 305                      310                      315                      320  
  
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
                          325                      330                      335  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr  
                          340                      345                      350  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
                          355                      360                      365  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
                          370                      375                      380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 385 390 395 400  
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe  
 405 410 415  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 420 425 430  
 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440

<210> 18

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 18

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110  
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125  
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140



Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160  
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

180 185 190  
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe  
 195 200 205  
 Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 19

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Variable Region (VH) Amino Acid Sequence; Anti-PD-1  
 mAb (BMS936558)

<400> 19

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 100 105 110  
 Ser

<210> 20

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Variable Region (VH) Nucleotide Sequence; Anti-PD-1  
mAb (BMS936558)

<400> 20

caggtgcagc tggctggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

gactgtaaag cgctcgaat caccttcagt aactctggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atttggatg atggaagtaa aagatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gacaaacgac 300

gactactggg gccaggaac cctggtcacc gtctcctca 339

<210> 21

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Region (VL) Amino Acid Sequence; Anti-PD-1

mAb (BMS936558)

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 22

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Region (VL) Nucleotide Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 22

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc gagtgtagt agttacttag cctggtacca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag agtagcaact ggcctcggac gticggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR1 Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 23

Asn Ser Gly Met His

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR2 Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 24

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

1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain CDR3 Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 25

Asn Asp Asp Tyr

1

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR1 Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 26

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1

5

10

<210> 27

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR2 Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 27

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1

5

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain CDR3 Amino Acid Sequence; Anti-PD-1 mAb (BMS936558)

<400> 28

Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg Thr

1

5

<210> 29

<211> 2106

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Complete Homo sapiens PD-1 sequence

<400> 29

```

agttttccctt ccgctcacct ccgcctgagc agtggagaag gcggcactct ggtggggctg      60
ctccaggcat gcagatccca caggcgcctt ggccagtcgt ctgggcggtg ctacaactgg      120

gtggcgggcc aggatggttc ttagactccc cagacaggcc ctggaacccc cccacattct      180
tcccagccct gctcgtggtg accgaagggg acaacgccac cttcacctgc agctttctcca      240
acacatcgga gagcttcgtg ctaaactggt accgcatgag cccagcaac cagacggaca      300
agctggccgc ctccccgag gaccgcagcc agcccggcca ggactgccgc ttccgtgtca      360
cacaactgcc caacgggctg gacttcaca tgagcgtggt cagggccccg cgcaatgaca      420
gcggcaccta cctctgtggg gccatctccc tggcccccaa ggcgagatc aaagagagcc      480
tgcgggcaga gtcagggtg acagagagaa gggcagaagt gcccacagcc caccacagcc      540

cctcaccag gccagccggc cagttccaaa ccctgggtgt tggtgtcgtg ggcggcctgc      600
tgggcagcct ggtgctgcta gtctgggtcc tggccgtcat ctgctcccgg gccgcacgag      660
ggacaatagg agccaggcgc accggccagc ccctgaagga ggaccctca gccgtgcctg      720
tgtttctctg ggactatggg gagctggatt tccagtggcg agagaagacc ccggagcccc      780
ccgtgccctg gtgccctgag cagacggagt atgccacat tgtctttcct agcggaatgg      840
gcacctcatc ccccgccgc aggggctcag ccgacggccc tcggagtgcc cagccactga      900
ggcctgagga tggacactgc tcttgcccc tctgaccggc ttccttgccc accagtgttc      960

tgcagaccct ccacatgag cccgggtcag cgcatttctt caggagaagc aggcagggtg      1020
caggccattg caggccgtcc aggggctgag ctgcctgggg gcgaccgggg ctccagcctg      1080
cacctgcacc aggcacagcc ccaccacagg actcatgtct caatgccac agtgagccca      1140
ggcagcaggt gtcaccgtcc cctacaggga gggccagatg cagtactgc ttcaggtcct      1200
gccagcacag agctgcctgc gtccagctcc ctgaatctct gctgctgctg ctgctgctgc      1260
tgctgctgcc tgcggccccg ggctgaagc gccgtggccc tgctgacgc cccggagcct      1320
cctgcctgaa cttaggggct ggttggagat ggccttggag cagccaaggt gcccctggca      1380

gtggcatccc gaaacgcctt ggacgcaggg cccaagactg ggcacaggag tgggaggtac      1440
atggggctgg ggactcccca ggagttatct gctccctgca ggcctagaga agtttcaggg      1500

```



aaggtcagaa gagctcctgg ctgtggtggg cagggcagga aacccctccc acctttacac 1560  
atgccaggc agcacctcag gccctttgtg gggcaggga gctgaggcag taagcgggca 1620  
ggcagagctg gaggcctttc aggccagcca gcactctggc ctctgccgc cgcattccac 1680  
cccagcccct cacaccactc gggagaggga catcctacgg tccaaggtc aggagggcag 1740  
ggctggggtt gactcaggcc cctcccagct gtggccacct gggtgttggg agggcagaag 1800

tgcaggcacc tagggccccc catgtgcca cctgggagc tctccttga accattcct 1860  
gaaattattt aaaggggttg gccgggctcc caccagggcc tgggtgggaa ggtacaggcg 1920  
ttccccggg gcctagtacc cccgcgtggc ctatccactc ctcacatcca cacactgcac 1980  
ccccactcct ggggcagggc caccagcatc caggcgcca gcaggcacct gagtggctgg 2040  
gacaaggat ccccttccc tgtgttcta ttatattata attataatta aatatgagag 2100  
catgct 2106

<210> 30

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Nucleotide Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 30

caggtgcagc tacagcagt gggcgagga ctgttgaagc cttcgagac cctgtccctc 60  
acctgcgtg tctatggtg gtccttcagt gattactact ggaactggat ccgccagccc 120  
ccagggaagg ggctggagt gattgggga atcaatcatc gtggaagcac caactccaac 180  
ccgtccctca agagtcagt caccctatca ctgacacgt ccaagaacca gtctcctcgt 240  
aagctgaggt ctgtaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgtt tggatatagt 300  
gactacgagt acaactggtt cgaccctgg ggcaggga cctgggtcac cgtctcctca 360

gctagacca agggcccatc cgtcttccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 420  
agcacagccg cctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480  
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtctca 540  
ggactctact cctcagcag cgtgtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 600  
tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtc 660  
aaatatggtc cccatgccc accatgcca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc 720  
ttctgttcc cccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780

tgcgtggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 900  
 cgtgtgtgta gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960  
 tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgctc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020  
 gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 1080  
 aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 1140  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccggt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 1260  
 aatgtcttct catgtccgt gatgatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 1320  
 ctctccctgt ctctgggtaa atga 1344

<210> 31

<211> 645

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Nucleotide Sequence; Anti-LAG-3 mAb (BMS-986016)

<400> 31

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtc gagtattagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatgat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag cctagagcct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaact ggctctcac ttttggccag 300  
 gggaccaacc tggagatcaa acgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Motif

<400> 32

Met Tyr Pro Pro Pro Tyr

1 5