



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0012413
(43) 공개일자 2024년01월29일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 33/243 (2019.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/3955 (2013.01)
A61K 33/243 (2022.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7041378
- (22) 출원일자(국제) 2022년05월24일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년11월30일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2022/064061
- (87) 국제공개번호 WO 2022/248478
국제공개일자 2022년12월01일
- (30) 우선권주장
63/192,217 2021년05월24일 미국(US)

- (71) 출원인
아스트라제네카 아베
스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제
- (72) 발명자
야르코프스키, 3세, 앤서니
미국 19850-5437 델라웨어 윌밍턴 콩코드 파이크 1800 피.오. 박스 15437 아스트라제네카 파마슈티컬스 엘피 내
데니스, 필립
미국 19850-5437 델라웨어 윌밍턴 콩코드 파이크 1800 피.오. 박스 15437 아스트라제네카 파마슈티컬스 엘피 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장덕순, 류현경

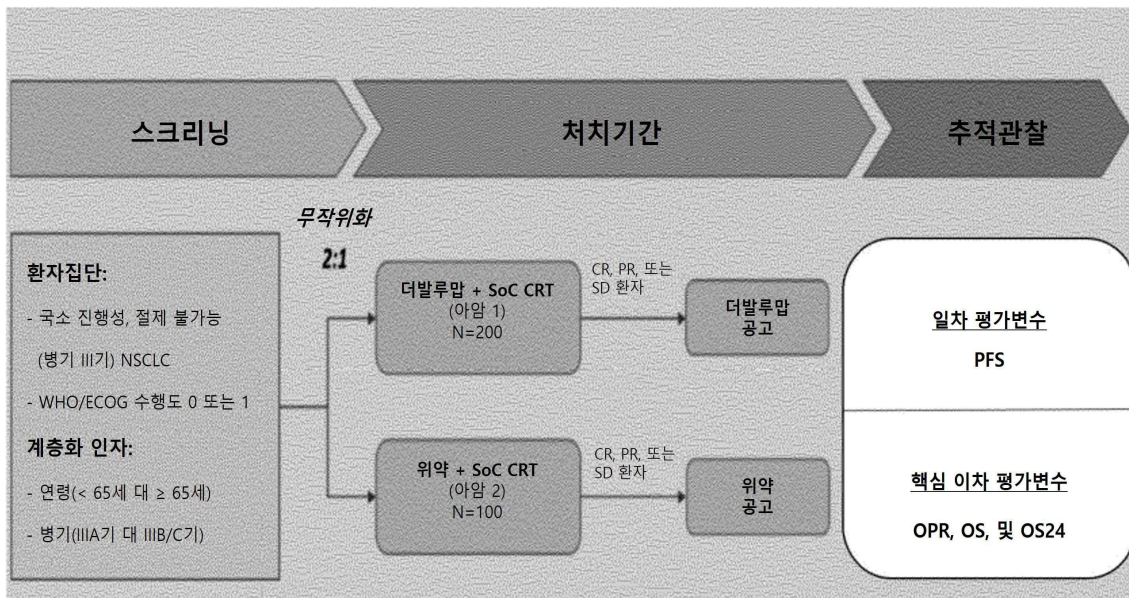
전체 청구항 수 : 총 43 항

(54) 발명의 명칭 폐암 치료를 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

PD-1/PD-L1 활성을 억제하는 항체를 화학방사선 요법과 병행하여(cCRT) 국소 진행성(병기 III기), 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)을 치료하는 방법이 개시된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/2827 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2300/00 (2023.05)
C07K 2317/56 (2013.01)

(72) 발명자

트라니, 레오

미국 19850-5437 델라웨어 윌밍턴 콩코드 파이크
1800 피.오. 박스 15437 아스트라제네카 파마슈티
컬스 엘피 내

뉴턴, 마이클

미국 19850-5437 델라웨어 윌밍턴 콩코드 파이크
1800 피.오. 박스 15437 아스트라제네카 파마슈티
컬스 엘피 내

샤이어, 노라

미국 19850-5437 델라웨어 윌밍턴 콩코드 파이크
1800 피.오. 박스 15437 아스트라제네카 파마슈티
컬스 엘피 내

명세서

청구범위

청구항 1

절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법으로서, 항-PD-L1 항체 및 화학 방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 인간 항체인, 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 화학방사선 요법은 백금 기반인, 방법.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 5

제2항 또는 제3항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는
서열번호 3의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; 및
서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및
서열번호 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및
서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; 및
서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, 방법.

청구항 6

제2항 또는 제3항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는 더발루맵, 아벨루맵, 아테졸리주맵, 또는 수게말리맵인, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체를 사용하는 치료는 4주마다(Q4W) 1500 mg의 항-PD-L1 항체를 환자에게 정맥내로 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 절제 불가능 NSCLC는 병기 III기인, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 절제 불가능 NSCLC는 국소 진행성인, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 화학방사선 요법의 1일차에 투여되는, 방법.

청구항 11

절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법으로서, 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 인간 항체인, 방법.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 화학방사선 요법은 백금 기반인, 방법.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 15

제12항 또는 제13항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는
서열번호 3의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; 및
서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및
서열번호 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및
서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; 및
서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, 방법.

청구항 16

제12항 또는 제13항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는 더발루맙, 아벨루맙, 아테졸리주맙, 또는 수게말리맙인, 방법.

청구항 17

제11항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체를 사용하는 치료는 4주마다(Q4W) 1500 mg의 항-PD-L1 항체를 환자에게 정맥내로 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 18

제11항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 절제 불가능 NSCLC는 병기 III기인, 방법.

청구항 19

제11항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 절제 불가능 NSCLC는 국소 진행성인, 방법.

청구항 20

제11항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 화학방사선 요법의 1일차에 투여되는, 방법.

청구항 21

병기 III기 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자를 치료하는 방법으로서, 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 인간 항체인, 방법.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 화학방사선 요법은 백금 기반인, 방법.

청구항 24

제22항 또는 제23항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 방법.

청구항 25

제22항 또는 제23항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는
 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; 및
 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및
 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및
 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; 및
 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
 서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, 방법.

청구항 26

제22항 또는 제23항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 더발루맙, 아벨루맙, 아테졸리주맙, 또는 수케말리맙인, 방법.

청구항 27

제21항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체를 사용하는 치료는 4주마다(Q4W) 1500 mg의 항-PD-L1 항체를 환자에게 정맥내로 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 28

제21항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 화학방사선 요법의 1일차에 투여되는, 방법.

청구항 29

절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법에 사용하기 위한 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합.

청구항 30

절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법에 사용하기 위한 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합.

청구항 31

병기 III기 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)의 치료에 사용하기 위한 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 인간 항체인, 조합.

청구항 33

제29항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 화학방사선 요법은 백금 기반인, 조합.

청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 조합.

청구항 35

제32항 또는 제33항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는
 서열번호 3의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1; 및
 서열번호 4의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2; 및
 서열번호 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3; 및
 서열번호 6의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1; 및
 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
 서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, 조합.

청구항 36

제32항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체는 더발루맙, 아벨루맙, 아테졸리주맙, 또는 수게말리맙인, 조합.

청구항 37

제31항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 항-PD-L1 항체를 사용하는 치료는 4주마다(Q4W) 1500 mg의 항-PD-L1 항체를 환자에게 정맥내로 투여하는 것을 포함하는, 조합.

청구항 38

제31항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 절제 불가능 NSCLC는 병기 III기인, 조합.

청구항 39

제31항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 절제 불가능 NSCLC는 국소 진행성인, 조합.

청구항 40

제31항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 화학방사선 요법의 1일차에 투여되는, 조합.

청구항 41

절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합의 용도.

청구항 42

절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합의 용도.

청구항 43

병기 III기 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)의 치료에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합의 용도.

발명의 설명

기술분야

배경기술

폐암은 수십 년간 전 세계적으로 가장 많이 발생하는 암이었으며, 2012년까지 약 180만 건의 신규 발병 사례가 추정되며 이는 총 신규 발병 암의 12.9%를 차지한다. 또한, 폐암은 암으로 인한 가장 흔한 사망 원인이기도 하

[0001]

며, 159만 명(전체 중 19.4%)이 사망하였다. 비소세포폐암(NSCLC)은 전체 폐암 중 약 80% 내지 85%를 차지하며 병기 III기 질환 환자의 30%를 차지한다. 수행도(PS)가 양호한 절제 불가능 병기 III기 NSCLC 환자에 대한 표준 치료는 치료 목적으로 병행하여 투여되는 백금 기반 이중 화학요법 및 방사선요법(cCRT)이었다. 병행 대 순차 CRT의 메타분석에서는 병행 치료가 더 나은 결과를 나타내었지만, cCRT를 사용하더라도 5년 전체 생존기간(OS) 범위는 15% 내지 32%이다. 이와 같이, cCRT를 넘어선 환자 생존을 신장시키기 위한 신규한 치료적 접근법에 대한 유의하면서도 미충족된 요구가 남아있다.

[0002] 종양 미세 환경에서 종양 및 글수 세포 상의 예정 세포사 리간드-1(PD-L1)는 활성화된 T세포 상의 면역 관문 단백질 PD-1에 결합하여 이들의 활성을 억제한다. 더발루맵은 PD-1 및 CD80에 대한 PD-L1의 결합을 차단하여 T세포가 종양 세포를 인식 및 살해하도록 하는 선택적 고친화도 인간 IgG1 단클론성 항체이다. 더발루맵은 다발성 진행성 고형 종양에 대한 초기 단계의 임상 연구에서 고무적인 항종양 활성을 나타냈으며, 백금치료후 국소 진행성 또는 전이성 요로 상피세포 암종에 대해 승인되었다.

[0003] 국소 진행성 암의 임상 관리를 위한 개선된 방법의 필요성을 해결하기 위해, 본 개시내용은 말기, 국소 진행성, 절제 불가능 NSCLC 환자에게 화학방사선 요법과 병행하여(cCRT) 더발루맵을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

발명의 내용

[0004] 본 개시내용은 전반적으로 PD-1/PD-L1 활성을 억제하는 항체를 화학방사선 요법과 병행하여(cCRT) 국소 진행성(병기 III기), 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0005] 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법으로서, 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0006] 또한, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법으로서, 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다. 또한, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법에 사용하기 위한 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합이 본원에 제공된다.

[0007] 또한, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법에 사용하기 위한 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합이 본원에 제공된다.

[0008] 또한, 병기 III기의 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)의 치료에 사용하기 위한 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합이 본원에 제공된다.

[0009] 또한, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 인간 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합의 용도가 제공된다.

[0010] 또한, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 인간 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합의 용도가 제공된다.

[0011] 또한, 병기 III기 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)의 치료에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 인간 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 포함하는 조합의 용도가 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본원에 개시된 방법에 대한 일반적인 연구 설계를 나타낸 것이다.

도 2a는 치료 일정 및 정의된 평가변수를 보여주는 도식이다. 각 그룹에는 6마리의 마우스가 포함되었다. 방사선요법(RT)은 종양 크기가 대략 100~200 mm³이고 분석 시점이 지시된 바와 같을 때 시행되었다. 도 2b는 종단 경로 분석 버블 다이어그램을 나타낸 것이다(표 4 참조). 경로는 Y축에, 시점은 X에 나열되어 있다. 버블의 크기는 각 경로의 절대 배수 변화 발현 값을 나타낸 것이다. 도 2c는 절제 시점의 종양 부피를 나타낸 것이다. 데이터는 평균 ± SEM으로 표시된다. 각 그룹에는 6마리의 마우스가 포함되었다. * P < 0.05, 만-휘트니 시험.

도 3a 내지 도 3c는 각 시점에서의 NT와 RT 종양 간 차등 조절되는 유전자 및 상류 조절자를 보여주는 네트워크 맵을 나타낸 것이다. 유전자 및 상류 조절자는 RT로 처리 후 1일차(도 3a), 3일차(도 3b), 7일차(도 3c)에 세포구획으로 분리된다. 도 3d는 종단 경로 분석 버블 다이어그램을 나타낸 것이다(표 3의 데이터 참조). 경로는 Y

측에, 시점은 X에 나열되어 있다. 버블의 색상은 유전자 조절 방향을 가리키는 것이다. 버블의 크기는 이 경로의 절대 배수 변화 발현 값을 나타낸 것이다. 경로 약어: 수지상 세포(DC)와 자연 살해(NK) 세포 사이의 누화; 박테리아 및 바이러스 인식 - 박테리아 및 바이러스 인식에서 패턴 인식 수용체의 역할; 선천면역계 및 적응면역계 - 선천 면역 세포와 적응 면역 세포 사이의 교신.

도 4a 내지 도 4f는 RT가 종양 침윤 골수 세포 집단의 변화를 유발함을 나타낸 것이다. RT(또는 시간 정합 NT 대조군) 후 1일차, 3일차, 또는 7일차에 비처리(NT)(검은색 막대) 또는 RT처리(7 Gy)(회색 막대) 종양으로부터 세포를 단리하였다. 도 4a는 F4/80⁺ 세포의 존재에 대해 유세포 분석으로 분석한 종양 샘플을 나타낸 것이다. 도 4b 및 도 4c는 F4/80⁺ 세포에서의 CD86 및 CD206의 발현(MFI)을 나타낸 것이다. 대표적인 히스토그램은 이소형 대조군(검은색 선), NT(검은색으로 채워짐), 및 RT(회색 선)가 있는 해당 막대 차트 위쪽에 제공되어 있다. 도 4d는 F4/80⁺인 CD86⁺ 및 CD206⁺ 세포의 백분율을 나타낸 것으로, 박스-위스커 플롯은 NT(검은색) 또는 RT처리(회색) 종양에 대한 CD86⁺/CD206⁺ 비율을 나타낸 것이다. 도 4e 및 도 4f는 종양 조직에서 CD11b⁺Gr1^{lo} 및 CD11b⁺Gr1^{hi} 세포의 빈도를 나타낸 것이다. 평균 ± SEM이 나타나 있다. 각 그룹에는 6마리의 마우스가 포함되었다. **P*<0.05 및 ** *P*<0.01(조사된 그룹과 NT를 비교한 경우).

도 5a 내지 도 5f는 RT가 종양 침윤 림프구의 빈도와 표현형에 영향을 미쳤다는 것을 나타낸 것이다. RT(또는 시간 정합 NT 대조군) 후 1일차, 3일차, 또는 7일차에 비처리(NT)(검은색 막대) 또는 RT처리(7 Gy)(회색 막대) 종양으로부터 세포를 단리하였다. 도 5a 및 도 5b는 CD4⁺ 및 CD8⁺ 종양 침윤 T세포의 빈도를 나타낸 것이다. 도 5c 및 도 5d는 CD4⁺ 및 CD8⁺ T세포에서의 CD69 발현을 나타낸 것이다. 도 5e는 CD4⁺ 집단의 백분율로 나타낸 종양 침윤 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺(T_{reg}) 세포를 나타낸 것이다. 도 5f는 T_{reg} 세포에 대한 CD8⁺의 비율을 나타낸 것이다. 평균 ± SEM이 나타나 있다. 각 그룹에는 6마리의 마우스가 포함되었다. **P*<0.05 및 ** *P*<0.01(조사된 그룹과 NT를 비교한 경우).

도 6a 내지 도 6g는 RT가 종양에서 PD-1 및 PD-L1 둘 모두의 발현 증가를 초래하여 치료 효능을 약화시켰음을 나타낸 것이다. RT(또는 시간 정합 NT 대조군) 후 1일차, 3일차, 또는 7일차에 비처리(NT)(검은색 막대) 또는 RT처리(7 Gy)(회색 막대) 종양으로부터 세포를 단리하였다. 도 6a 및 도 6b는 CD4⁺ 및 CD8⁺ T세포에서의 PD-1 발현을 나타낸 것이다. 도 6c 및 도 6d는 CD4⁺ 및 CD8⁺ T세포에서의 PD-L1 발현을 나타낸 것이다. 도 6e는 CD45⁻ 종양 세포에서의 PD-L1 발현을 나타낸 것이다. 평균 ± SEM이 나타나 있다. **P*<0.05 및 ** *P*<0.01(조사된 그룹과 NT를 비교한 경우). 도 6f 및 도 6g는 7 Gy RT 단독 또는 10 mg/kg(3qw)로 1주 동안 투여한 αPD-L1 mAb와 조합하여 처치한 후, 정작 종양이 있는 마우스의 종양 성장 곡선 및 카플란-마이어 곡선을 나타낸 것이다. 실험 그룹은 적어도 6 마리의 마우스를 포함하였고, 2회의 독립 실험을 보여준다. 7 Gy RT 단독 대비 ^{††} *P*<0.01. NT 대조군 대비 ** *P*<0.01 및 *** *P*<0.001.

도 7a 및 도 7b는 7 Gy RT 후 1일차, 3일차, 7일차에 제거된 조사된 종양 조직의 계통(도 7a) 및 표현형(도 7b) 마커의 배수 변화를 시간 정합 비처리 대조군 종양의 백분율로 보여주는 히트맵을 나타낸 것이다. 굵게 표시된 상자 안의 값은 시간 정합 비처리 샘플 대비 통계적으로 유의미한 값이다. 각 그룹에는 6마리의 마우스가 포함되었다. (만-휘트니 U, *P*<0.05).

도 8a 내지 도 8d는 종양 세포 집단의 분석에 사용되는 게이팅 전략을 나타낸 것이다. 도 8a는 백혈구 게이트를 작성하는 데 사용되는 비장에서 단리된 살아있는 백혈구에 대한 게이팅을 나타낸 것이다. 도 8b는 종양 조직 내 CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ 세포를 나타낸 것이다. 도 8c는 비장 및 종양 조직 내 CD11b⁺Gr1^{lo} 및 ^{hi} 집단을 나타낸 것이다. 도 8d는 CD45⁻ 종양 세포를 나타낸 것이다.

도 9는 NT(검은색) 또는 7 Gy(회색) RT 후 1일차, 3일차, 또는 7일차에 단리된 종양 조직의 CD45⁺ 세포의 백분율을 나타낸 것이다. *P*<0.01, 만-휘트니 U. 각 그룹에는 6마리의 마우스가 포함되었다. ** *P*<0.01, 만-휘트니 시험.

도 10a 및 도 10b는 NT 및 RT 처리된 종양 조직의 CD4⁺ 및 CD8⁺ 세포 내 CD69(도 10a) 및 PD-1(도 10b) 발현의 대표적인 히스토그램을 나타낸 것이다. 도 10a에서 비워진 히스토그램은 이소형 대조군이다. 도 10b에서 패턴화

된 히스토그램은 이소형 대조군이고, 검은색 선은 NT이고, 회색 선은 7Gy RT이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 갖는다. 다음의 참고문헌은 본 개시에서 사용되는 용어 중 다수에 대한 일반적인 정의를 당업자에게 제공한다: 문헌[Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994)]; 문헌[The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988)]; 문헌[The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991)]; 및 문헌[Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)]. 본원에서 사용되는 바와 같이, 하기 용어들은 달리 명시되지 않는 한, 아래에서 그 용어들에 부여된 의미를 갖는다.
- [0014] 본 발명의 개시에서, "포함하다", "포함하는", "함유하는" 및 "갖는" 등은 미국 특허법에서 이들에 부여된 의미를 가질 수 있고, "포함하다", "포함하는" 등을 의미할 수 있으며; "본질적으로 ~으로 구성되는" 또는 "본질적으로 구성된다" 등은 마찬가지로 미국 특허법에서 부여된 의미를 가지며, 상기 용어는 인용된 것의 기본적 또는 신규한 특징이 인용된 것 이상의 존재에 의해 변화되지 않는 한 인용된 것 이상의 존재를 허용하나 종래 기술의 양태를 배제하는 개방형이다.
- [0015] 구체적으로 언급되거나 문맥상 명확하지 않다면, 본원에서 사용되는 용어 "또는"은 포괄적인 것으로 이해된다. 구체적으로 언급되거나 문맥상 명확하지 않다면, 본원에서 사용되는 용어 단수형("a", "an", 및 "the")은 단수형 또는 복수형으로 이해된다.
- [0016] 구체적으로 언급되거나 문맥상 명확하지 않다면, 본원에서 사용되는 "약"은 당업계의 통상의 허용 범위 내, 예를 들어 평균의 2 표준 편차 이내로 이해된다. "약"은 언급되는 값의 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, 또는 0.01% 이내인 것으로 이해될 수 있다. 문맥상 달리 자명하지 않다면, 본원에 제공되는 모든 수치는 "약"이란 용어로 수식된다.
- [0017] 본원에 제공되는 임의의 조성물 또는 방법은 본원에 제공되는 기타 조성물 또는 방법 중 하나 이상의 임의의 것과 조합될 수 있다.
- [0018] 본원에 제공되는 범위는 이 범위 내의 모든 값에 대한 약칭인 것으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 50의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50으로 이루어진 군으로부터의 임의의 수, 수의 조합 또는 하위 범위를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0019] 본원에서 사용되는 바와 같이, "항-PD-L1 항체"는 PD-L1 폴리펩티드와 선택적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 의미한다. 예시적인 항-PD-L1 항체는, 예를 들어 본원에서 참고로 포함되는 미국 특허 8,779,108호 및 9,493,565호에 기술되어 있다.
- [0020] 본원에서 사용되는 용어 "더발루맵"은 전체가 본원에서 참고로 포함되는 미국 특허 제9,493,565호에 개시된 바와 같이, PD-L1에 선택적으로 결합하여 PD-1 및 CD80 수용체에 대한 PD-L1의 결합을 차단하는 항체(여기서, 더발루맵은 "2.14H9OPT"로 지칭됨)를 지칭한다. 더발루맵의 결정성 단편(fragment crystallizable: Fc) 도메인은 항체 의존적 세포 매개 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC)의 매개를 초래하는 보체 성분 C1q 및 Fc γ 수용체에 대한 결합을 감소시키는 IgG1 중쇄의 불변 도메인에서 삼중 돌연변이를 함유한다. 더발루맵은 시험관 내에서 인간 T세포 활성화의 PD-L1 매개 억제를 완화시킬 수 있으며, T세포 의존성 기작을 통해 이종이식 모델에서 종양 성장을 억제한다.
- [0021] "완전 반응"(CR)은 측정 가능 여부와 무관한 모든 병변의 소실 및 새로운 병변이 없음을 지칭한다. 이는 최초 문서 작성일로부터 4주 이상 반복적인 연속 평가를 통해 확인될 수 있다. 새롭고 측정 불가능한 병변에는 CR이 배제된다.
- [0022] "부분 반응"(PR)은 기준선 대비 50% 이상의 종양 부하(tumor burden)에서의 감소를 지칭한다. 이는 최초 문서 작성일로부터 적어도 4주의 연속적인 반복 평가를 통해 확인될 수 있다.
- [0023] "진행성 질환"(PD)은 기록된 최소치(최저점(nadir)) 대비 25% 이상의 종양 부하에서의 증가를 지칭한다. 이는 최초 문서 작성일로부터 적어도 4주의 연속적인 반복 평가를 통해 확인될 수 있다. 새롭고 측정 불가능한 병변에 의해 PD가 한정되지 않는다.

- [0024] "안정한 질환"(SD)은 CR, PR, 또는 PD의 기준을 충족시키지 않음을 지칭한다. SD는 기준선 대비 50%의 종양 부하에서의 감소가 확립될 수 없으며, 최저점과 비교하여 25%의 증가가 확립될 수 없음을 나타낸다.
- [0025] 비소세포폐암(NSCLC)은 NSCLC의 세 가지 주요 하위 유형인 편평세포 암종, 선암종, 및 대세포(미분화) 암종 중의 어떤 것을 의미할 수 있다. 기타 하위 유형으로는 선편평세포 암종 및 육종양 암종을 들 수 있다.
- [0026] 본원에서 사용되는 바와 같이, "PD-L1"은 PD-L1 서열과 적어도 약 85%, 95%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열 또는 이의 단편을 지칭할 수 있다. PD-L1은 또한 당업계에서 B7-H1로도 지칭된다. 일부 구현예에서, PD-L1 폴리펩티드 또는 이의 단편은 NCBI 수탁번호 NP_001254635와 적어도 약 85%, 95%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖고, PD-1 및 CD80 결합 활성을 갖는다.
- [0027] **PD-L1 폴리펩티드 서열**
- [0028] NCBI 수탁번호: NP_001254635
- ```

1 mrifavfifm tywhllnapy nkinqrilvv dpvtsehelt cqaegyppkae viwtssdhqv
61 lsgkttttns kreeklnvt stlrinnttn eifyctfrrl dpeenhtael vipelplahp
121 pnerthlvil gaillclgva ltfifrlrkg rmmdvkkcgi qdtnskkqsd thleet

```
- [0029]
- [0030] 일부 구현예에서, "PD-L1 핵산 분자"는 PD-L1 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 예시적인 PD-L1 핵산 분자 서열은 NCBI 수탁번호 NM\_001267706으로 제공된다.
- [0031] **PD-L1 핵산 서열**

[0032] NCBI 수탁번호: NM\_001267706 mRNA

```

1 ggcgcaacgc tgagcagctg gcgcgccccg cgcggcccca gttctgcgca gcttcccag
61 gctccgcacc agccgcgctt ctgtccgcct gcagggcatt ccagaaagat gaggatattt
121 gctgtcttta tattcatgac ctactggcat ttgctgaacg ccccatatac caaaatcaac
181 caaagaatth tggttgtgga tccagtcacc tctgaacatg aactgacatg tcaggctgag
241 ggctaccccc aggccgaagt catctggaca agcagtgacc atcaagtcct gagtggtaag
301 accaccacca ccaattccaa gagagaggag aagcttttca atgtgaccag cacactgaga
361 atcaacacaa caactaatga gattttctac tgcactttta ggagattaga tcctgaggaa
421 aaccatacag ctgaattggt catcccagaa ctacctctgy cacatcctcc aaatgaaagg
481 actcacttgg taattctggg agccatctta ttatgccttg gtgtagcact gacattcatc
541 ttccgtttaa gaaaaggagg aatgatggat gtgaaaaaat gtggcatcca agatacaaac
601 tcaaagaagc aaagtgatac acatttggag gagacgtaat ccagcattgg aacttctgat
661 cttcaagcag ggattctcaa cctgtggttt aggggttcat cggggctgag cgtgacaaga
721 ggaaggaatg ggcocgtggg atgcaggcaa tgtgggactt aaaaggccca agcactgaaa
781 atggaacctg gcgaaagcag aggaggagaa tgaagaaaga tggagtcaa cagggagcct
841 ggaggagacg cttgataact tcaaatgcct gaggggctca tcgacgcctg tgacagggag
901 aaagataact tctgaacaag gagcctccaa gcaaatcatc cattgctcat cctaggaaga
961 cgggttgaga atccctaatt tgagggtcag ttctctcaga agtgcctttt gcctccactc
1021 aatgcctcaa tttgttttct gcatgactga gagtctcagt gttggaacgg gacagtattt
1081 atgtatgagt ttttctattt tattttgagt ctgtgaggtc ttcttctcat gtgagtgtgg
1141 ttgtgaatga tttcttttga agatatattg tagtagatgt tacaattttg tcgcccactc
1201 aaacttctg cttaatgatt tgctcacatc tagtaaaaca tggagtattt gtaaggtgct
1261 tggctctctc tataactaca agtatacatt ggaagcataa agatcaaacc gttgggtgca
1321 taggatgtca cttttattta accattaat actctggttg acctaatctt attctcagac
1381 ctcaagtgtc tgtgcagtat ctgttccatt taaatatcag ctttacaatt atgtggtagc
1441 ctacacacat aatctcattt catcgctgta accaccctgt tgtgataacc actattattt
1501 taccatcgtg acagctgagg aagcaaacag attaagtaac ttgcccctca cagtaaatag
1561 cagacctcag actgccaccc actgtccttt tataatacaa tttacagcta tattttactt
1621 taagcaatc ttttattcaa aaaccattta ttaagtgcc ttgcaatata aatcgctgtg
1681 ccaggcattg aatctacaga tgtgagcaag acaaagtacc tgtcctcaag gagctcatag
1741 tataatgagg agattaacaa gaaaatgtat tattacaatt tagtccagtg tcatagcata
1801 aggatgatgc gaggggaaaa ccogagcagt gttgccaaga ggagaaaata ggccaatgtg
1861 gtctgggagc gttggatata cttaaacatc ttaataatca gtagtaattt catttcaaaa
1921 gagaggtcgg tacttaaaat aaccctgaaa aataacactg gaattccttt tctagcatta
1981 tttttattcc tgatttgcct ttgccatata atctaagctt tgtttatata gtgtctggta
2041 ttgtttaaca gttctgtcct ttctatttaa atgccactaa attttaaatt catacctttc
2101 catgattcaa aattcaaaag atcccatggg agatggttgg aaaatctcca cttcatcctc
2161 caagccattc aagtttcctt tcagaagca actgctactg cctttcattc atatgttctt

```

[0033]

```

2221 ctaaagatag tctacatttg gaaatgtatg ttaaaagcac gtatttttaa aatttttttc
2281 ctaaagatga acacattgta tgtctgctgt gtactttgct atttttattt attttagtgt
2341 ttcttatata gcagatggaa tgaatttgaa gttcccaggg ctgaggatcc atgccttctt
2401 tgtttctaag ttatctttcc catagctttt cattatcttt catatgatcc agtatatggt
2461 aaatatgtcc tacatataca tttagacaac caccatttgt taagtatttg ctctaggaca
2521 gagtttggat ttgtttatgt ttgctcaaaa ggagaccatc gggctctcca ggggtgactg
2581 agtcaatcta gtcctaaaaa gcaatcttat tattaactct gtatgacaga atcatgtctg
2641 gaacttttgt tttctgcttt ctgtcaagta taaacttcac tttgatgtg tacttgcaaa
2701 atcacatttt ctttctggaa attccggcag tgtaccttga ctgctagcta ccctgtgcca
2761 gaaaagcctc attcgttgtg cttgaaccct tgaatgccac cagctgtcat cactacacag
2821 ccctcctaag aggcttcctg gaggtttcga gattcagatg ccctgggaga tcccagagtt
2881 tcctttccct cttggccata ttctggtgtc aatgacaagg agtaccttgg ctttgccaca
2941 tgtcaaggct gaagaaacag tgtctccaac agagctcctt gtgttatctg tttgtacatg
3001 tgcatttgtg cagtaattgg tgtgacagtg ttctttgtgt gaattacagg caagaattgt
3061 ggctgagcaa ggcacatagt ctactcagtc tattcctaag tcctaactcc tccttgtggt
3121 gttggatttg taaggcaact tatccctttt gtctcatggt tcatcgtaaa tggcataggc
3181 agagatgata cctaattctg cttttgattg tcactttttg tacctgcatt aatttaataa
3241 aatattctta tttattttgt tacttggtac accagcatgt ccattttctt gtttattttg
3301 tgtttaataa aatgttcagt ttaacatccc agtggagaaa gttaaaaaa

```

[0034]

- [0035] 예정 세포사-1("PD-1")은 T세포 조절인자의 확장된 CD28/CTLA4 패밀리의 대략 31 kD의 I형 막 단백질 구성원이 다(문헌[Ishida *et al.*, "Induced Expression of PD-1, A Novel Member of the Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death," *EMBO J.* 11: 3887-95 (1992)] 참조).
- [0036] PD-1은 활성화된 T세포, B세포, 및 단핵구에서 발현되며(문헌[Agata *et al.*, "Expression of the PD-1 Antigen on the Surface of Stimulated Mouse T and B Lymphocytes," *Int. Immunol.* 8(5): 765-72 (1996); Yamazaki *et al.*, "Expression of Programmed Death 1 Ligands by Murine T Cells and APC," *J. Immunol.* 169: 5538-45 (2002)]), 자연 살해(NK) T세포에서는 낮은 수준으로 발현된다(문헌[Nishimura *et al.*, "Facilitation of Beta Selection and Modification of Positive Selection in the Thymus of PD-1-Deficient Mice," *J. Exp. Med.* 191: 891-98 (2000); Martin-Orozco *et al.*, "Inhibitory Costimulation and Anti-Tumor Immunity," *Semin. Cancer Biol.* 17(4): 288-98 (2007)]). PD-1은 PDL-1 또는 PDL-2의 결합에 의한 활성화 후 면역계의 하향 조절을 담당하는 수용체이고(문헌[Martin-Orozco *et al.* (2007)]), 세포 사멸 유도인자로서 작용한다(문헌[Ishida *et al.* (1992); Subudhi *et al.*, "The Balance of Immune Responses: Costimulation Versus Coinhibition," *J. Molec. Med.* 83: 193-202 (2005); Lazar-Molnar *et al.*, "Crystal Structure of the Complex Between Programmed Death-1 (PD-1) and Its Ligand PD-L2," *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105(30): 10483-88 (2008)]). 면역 반응의 억제로 이어지는 PD-L1의 과발현을 통해 많은 종양에서 이러한 과정이 개발된다.
- [0037] PD-1은 종양학에서 면역 매개 요법에 대해 잘 검증된 표적으로, 특히 흑색종 및 비소세포 폐암(NSCLC) 치료에서 긍정적인 임상 시험 결과가 도출된 바 있다. PD-1/PDL-1 상호작용의 길항적 억제로 인해 T세포 활성화가 증가하여, 숙주 면역 시스템에 의한 종양 세포의 인식 및 제거를 향상시킨다. 감염 및 종양을 치료하고 적응성 면역 반응을 상향 조절하기 위해 항-PD-1 항체를 사용하는 것이 제안되었다.
- [0038] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 면역글로불린 또는 이의 단편 또는 유도체를 지칭하고, 항체가 시험관 내에서 생성되는 또는 생체 내에서 생성되는 항원 결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩티드를 포함한다. 상기 용어로는 다클론성, 단클론성, 단일 특이적, 다중 특이적, 비특이적, 인간화, 인간 단일쇄, 키메라, 합성, 재조합, 하이브리드, 돌연변이, 및 이식 항체를 들 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. "온전한 항체"에서와 같이 "온전한"이란 용어에 의해 달리 수식되지 않는 한, 본 개시내용의 목적상 "항체"란 용어는 또한 Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, Fd, dAb, 및 항원 결합 기능, 즉, PD-L1과 특이적으로 결합하는 능력을 보유한 기타 항체 단편과 같은 항체 단편을 포함한다. 일반적으로, 이러한 단편은 항원 결합 도메인을 포함할 것이다.
- [0039] 용어 "인간 항체"는, 본원에서 사용되는 바와 같이, 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 실질적으로 상응하는 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함한다.
- [0040] 본원에서 사용되는 바와 같이, "항원 결합 도메인", "항원 결합 단편", 및 "결합 단편"이란 용어는 항체와 항원 사이의 특이적 결합에 관여하는 아미노산을 포함하는 항체 분자의 일부를 지칭한다. 일부 경우에, 항원이 큰 경우, 항원 결합 도메인은 항원의 일부에만 결합할 수 있다. 항원 결합 도메인과의 특이적 상호작용을 담당하는 항원 분자의 일부는 "에피토프" 또는 "항원 결정기"로 지칭된다. 항원 결합 도메인은 일반적으로 항체 경쇄 가변 영역(V<sub>L</sub>) 및 항체 중쇄 가변 영역(V<sub>H</sub>)을 포함하지만, 반드시 둘 모두를 포함해야 하는 것은 아니다. 예를 들어, 소위 Fd 항체 단편은 V<sub>H</sub> 도메인만으로 구성되지만, 무손상 항체의 일부 항원 결합 기능을 여전히 보유한다.
- [0041] 항체의 결합 단편은 재조합 DNA 기술, 또는 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성된다. 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 및 단일쇄 항체를 포함한다. "이중특이적" 또는 "이기능성" 항체 이외의 항체는 각각의 결합 부위가 동일한 항체로 이해된다. 효소인 파파인으로의 항체의 소화는 "Fab" 단편으로도 알려진 2개의 동일한 항원 결합 단편 및 항원 결합 활성이 없지만 결정화 능력이 있는 "Fc" 단편을 생성한다. 효소인 펩신으로의 항체의 소화는 항체 분자의 2개의 아암(arm)이 연결되어 유지되고, 2개의 항원 결합 부위를 포함하는 F(ab')<sub>2</sub> 단편을 생성한다. F(ab')<sub>2</sub> 단편은 항원을 가교하는 능력을 갖는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "Fv"는 항원 인식 부위 및 항원 결합 부위 둘 다를 보유하는 항체의 최소 단편을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "Fab"는 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 CH1 도메인을 포함하는 항체의 단편을 지칭한다.
- [0042] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "mAb"는 단클론 항체를 나타낸다. 본 개시내용의 항체는 전체 천연 항체, 이중 특이적 항체, 키메라 항체, Fab, Fab', 단일쇄 V 영역 단편(scFv), 융합 폴리펩티드, 및 비정상적인 항체를 제한 없이 포함한다.
- [0043] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단리된", "정제된", 또는 "생물학적으로 순수한"은 천연 상태에서 발견되

는 바와 같이 통상적으로 수반되는 성분이 다양한 정도로 존재하지 않는 물질을 지칭한다. "단리"는 본래의 출처 또는 주변으로부터의 분리의 정도를 의미한다. "정제"는 단리보다 높은 분리의 정도를 의미한다. "정제된" 또는 "생물학적으로 순수한" 단백질에는 임의의 불순물이 단백질의 생물학적 특성에 실질적으로 영향을 미치지거나 다른 유해 결과를 유도하지 않도록 다른 물질이 충분히 존재하지 않는다.

[0044] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "특이적으로 결합하는"은 샘플, 예를 들어 실질적으로는 생물학적 샘플 내의 어떤 분자(예를 들어, 폴리펩티드)를 인식하고 결합하지만 기타 분자를 인식하여 결합하지 않는 화합물(예를 들어, 항체)을 의미한다. 예를 들어, 특이적으로 결합하는 2개의 분자는 생리적 조건 하에 상대적으로 안정적인 복합체를 형성한다. 특이적 결합은 보통 중간 수준의 용량 내지 높은 용량과 함께 낮은 친화도를 갖는 비특이적 결합과는 구분이 되는 바와 같이 높은 친화도 및 낮은 용량 내지 보통 수준의 용량을 특징으로 한다. 통상적으로, 결합은 친화도 상수  $K_A$ 가  $10^6 M^{-1}$ 보다 높거나, 보다 바람직하게는  $10^8 M^{-1}$ 보다 높을 때 특이적인 것으로 간주된다. 필요한 경우, 비특이적 결합은 결합 조건을 변경함으로써 실질적으로 특이적 결합에 영향을 미치지 않으면서 감소될 수 있다. 적절한 결합 조건, 예를 들어, 항체의 농도, 용액의 이온 강도, 온도, 결합을 허용하는 시간, 차단제(예를 들어, 혈청 알부민, 밀크 카제인)의 농도는 일상적인 기술을 사용하여 당업자에 의해 최적화될 수 있다.

[0045] 본원에서 일반적으로 사용되는 바와 같이, "치료하다", "치료하는", "치료" 등의 용어는 장애 또는 질환 및/또는 장애 또는 질환과 연관된 증상의 진행을 감소, 완화 또는 감속시키는 것을 지칭한다. 배제되지는 않지만, 장애, 질환, 또는 병태를 치료한다는 것은 장애, 질환, 또는 병태 또는 이와 연관된 증상의 완전 제거를 요구하지는 않는 것으로 인지될 것이다. NSCLC와 관련된 특정 구현예에서, "치료하다", "치료하는", "치료"는 1차 또는 2차 임상 종점 중 임의의 하나 또는 이들의 조합을 달성하는 것을 지칭할 수 있다.

[0046] 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법으로서, 인간 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0047] 또한, 절제 불가능 NSCLC 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법으로서, 인간 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0048] 또한, 병기 III기 절제 불가능 NSCLC 환자를 치료하는 방법으로서, 인간 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 제공된다.

[0049] 일부 구현예에서, 인간 항-PD-L1 항체는 더발루맙, 아벨루맙, 아테졸리주맙, 또는 수게말리맙이다. 일부 구현예에서, 인간 항-PD-L1 항체는 더발루맙, 아벨루맙, 또는 아테졸리주맙이다. 일부 구현예에서, 인간 항-PD-L1 항체는 더발루맙이다.

[0050] 본원에 제공되는 방법에서 사용하기 위한 더발루맙 및 이의 항원 결합 단편은 중쇄 및 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 더발루맙 경쇄 가변영역의 아미노산 서열은 서열번호 1에 제공되고, 더발루맙 중쇄 가변영역의 아미노산 서열은 서열번호 2에 제공된다. 더발루맙 중쇄 가변 영역 상보성 결정 영역(CDR)의 아미노산 서열은 서열번호 3(CDR1), 서열번호 4(CDR2), 및 서열번호 5(CDR3)에 제공되고, 더발루맙 경쇄 가변 영역 CDR의 아미노산 서열은 서열번호 6(CDR1), 서열번호 7(CDR2), 및 서열번호 8(CDR3)에 제공된다.

[0051] 일부 구현예에서, 본원에 제공되는 방법에서 사용하기 위한 더발루맙 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 제공되는 방법에서 사용하기 위한 더발루맙 또는 이의 항원 결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 이때 중쇄 가변 영역은 Kabat 정의된 서열번호 3 내지 5의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 Kabat 정의된 서열번호 6 내지 8의 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함한다. 당업자라면 Chothia 정의된 CDR 정의, Abm 정의된 CDR 정의, 또는 당업자에게 알려진 기타 CDR 정의를 용이하게 식별할 수 있을 것이다. 일부 구현예에서, 본원에 제공되는 방법에서 사용하기 위한 더발루맙 또는 이의 항원 결합 단편은 전체가 본원에서 참조로 포함되는 미국 특허 8,779,108호 및 9,493,565호에 개시된 바와 같은 2.14H90PT 항체의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 CDR 서열을 포함한다.

[0052] 더발루맙 또는 이의 항원 결합 단편은 환자에게 유익을 제공하면서 4주마다 1회 투여될 수 있다. 추가 구현예에서, 환자에게 추가적인 후속(follow-on) 용량이 투여된다. 후속 용량은 환자의 연령, 체중, 임상 평가, 중앙 부하, 및/또는 담당의의 판단을 비롯한 기타 인자에 따라 다양한 시간 간격으로 투여될 수 있다.

[0053] 일부 구현예에서, 더발루맙 또는 이의 항원 결합 단편은 환자에게 다중 복용량으로 투여된다. 일부 구현예에서,

적어도 3회 복용량, 적어도 4회 복용량, 적어도 5회 복용량, 적어도 6회 복용량, 적어도 7회 복용량, 적어도 8회 복용량, 적어도 9회 복용량, 적어도 10회 복용량, 적어도 15회 복용량, 적어도 26회 복용량, 또는 적어도 20회 초과회 복용량이 환자에게 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편은 2주마다, 2주간에 걸쳐, 4주간의 치료 기간에 걸쳐, 6주간의 치료 기간에 걸쳐, 8주간의 치료 기간에 걸쳐, 12주간의 치료 기간에 걸쳐, 24주간의 치료 기간에 걸쳐, 1년간의 치료 기간에 걸쳐, 또는 1년을 초과하는 치료 기간에 걸쳐 투여된다.

- [0054] 일부 구현예에서, 투약 간격은 3주일 수 있다. 일부 구현예에서, 투약 간격은 4주(Q4W)일 수 있다. 일부 구현예에서, 투약 간격은 2개월일 수 있다(예를 들어, 유지기(maintenance phase) 동안).
- [0055] 일부 구현예에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 항-PD-L1 또는 이의 항원 결합 단편이 투여되며, 용량은 1500 mg의 고정 용량이다. 일부 구현예에서, 환자에게 4주마다 1500 mg의 인간 항-PD-L1이 투여된다. 일부 구현예에서, 환자에게 항-PD-L1를 1회 이상의 용량으로 투여하며, 용량은 약 20 mg/kg이다. 일부 구현예에서, 환자에게 4주마다(Q4W) 정맥내로 1500 mg의 인간 항-PD-L1 항체가 투여된다.
- [0056] 일부 구현예에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편이 투여되며, 용량은 1500 mg의 고정 용량이다. 일부 구현예에서, 환자에게 4주마다 1500 mg의 더발루맵이 투여된다. 일부 구현예에서, 환자에게 더발루맵을 1회 이상의 용량으로 투여하며, 용량은 약 20 mg/kg이다.
- [0057] 환자에게 투여될 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편의 양은 조절될 수 있으며, 환자의 연령, 체중, 임상 평가, 종양 부하, 및/또는 담당의의 판단을 비롯한 기타 인자와 같은 다양한 매개변수에 따라 다를 수 있다. 일부 구현예에서, 용량은 고정 용량이다.
- [0058] 일부 구현예에서, 본원에 제공되는 방법에 따른 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편의 투여는 비경구 투여를 통해 이루어진다. 예를 들어, 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편은 정맥내 주입 또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 투여는 정맥내 주입에 의한 것이다.
- [0059] 일부 구현예에서, 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편은 화학방사선 요법과 병행하여 투여된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "병행하여"는 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편의 투여와 화학방사선 요법의 투여를 서로 약 3일 이내에 투여하는 것을 의미한다. 일부 구현예에서, 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편은 화학방사선 요법의 약 2일 이내에 투여된다. 일부 구현예에서, 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편은 화학방사선 요법의 약 1일 이내에 투여된다. 일부 구현예에서, 더발루맵 또는 이의 항원 결합 단편은 화학방사선 요법의 1주기 1일차에 투여된다.
- [0060] 일부 구현예에서, 항-PD-L1 항체는 화학방사선 요법의 1일차에 투여된다.
- [0061] 일부 구현예에서, 화학방사선 요법은 백금 기반 치료제를 포함한다.
- [0062] 일부 구현예에서, 병행 화학방사선 요법은 진행성 NSCLC를 앓고 있는 환자에 대해 용인된 임의의 표준 1차 치료(standard first-line treatment)를 포함한다. 일부 구현예에서, 표준 1차 치료는 화학요법, 방사선요법, 또는 둘 모두(화학방사선 요법)를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 요법은 하나 이상의 백금 기반 화학 치료제를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 화학방사선 요법은 백금 기반이다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 백금 기반 화학 치료제는 카보플라틴, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 또는 이들의 조합으로부터 선택될 수 있다. 본원에 기술되어 있는 바와 같이, 백금 기반 요법은 단일 또는 이중 용법, 예를 들어 파클리탁셀(paclitaxel), 도세탁셀(docetaxel), 에토포시드(etoposide), 겐시타빈(gemcitabine), 비노렐빈(vinorelbine) 등과 같은 다른 항암제와 함께 시스플라틴 또는 카보플라틴의 투여를 포함할 수 있다.
- [0063] 본 개시내용은 절제 불가능 국소 진행성 비소세포 폐암(NSCLC)이 있는 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로, 환자에게 인간 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 투여하는 단계를 포함한다. 개시된 치료 방법은 환자의 무진행 생존기간(PFS), 전체 반응률(ORR), 전체 생존율(OS), 및 무작위화로부터 24개월째 생존한 환자의 비율(OS24)에 대한 실질적 개선을 제공할 수 있다.
- [0064] 일부 구현예에서, 방법은 위약 대비 PFS의 증가를 제공한다. 일부 구현예에서, 방법은 위약 대비 ORR의 증가를 제공한다. 일부 구현예에서, 방법은 위약 대비 OS의 증가를 제공한다.
- [0065] 일부 구현예에서, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법에 사용하기 위한 인간 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합이 제공된다. 일부 구현예에서, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법에 사용하기 위한 인간 항-PD-L1 항체 및 병행 화

학방사선 요법을 포함하는 조합이 제공된다. 일부 구현예에서, 병기 III기 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)의 치료에 사용하기 위한 인간 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합이 제공된다.

[0066] 일부 구현예에서, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 무진행 생존기간(PFS)을 연장하는 방법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 인간 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합의 용도가 제공된다. 일부 구현예에서, 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC) 환자의 전체 반응률(ORR)을 높이는 방법에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 인간 항-PD-L1 항체 및 병행 화학방사선 요법을 포함하는 조합의 용도가 제공된다. 일부 구현예에서, 병기 III기 절제 불가능 비소세포폐암(NSCLC)의 치료에 사용하기 위한 의약의 제조에 있어서 인간 항-PD-L1 항체 및 화학방사선 요법을 병행하여 포함하는 조합의 용도가 제공된다.

[0067] 전체 생존기간(OS)은 치료일에 시작하여 임의의 원인으로 인한 사망까지의 기간에 관한 것이다. OS는 소정의 기간, 예를 들어 12개월, 18개월, 24개월 등과 같은 기간 내에서의 전체 생존기간을 지칭할 수 있다. 이 같은 기간은, 예를 들어 24개월에 전체 생존의 카플란-마이어 추정치에 대한 치료 개시 후 24개월에 생존 중인 환자의 수(%)를 지칭하는 "OS24"로서 식별될 수 있다.

[0068] 무진행 생존기간(PFS)은 치료일에 시작하여 객관적인 질환의 진행일(RECIST 1.1) 또는 사망일(진행 부재 하의 임의의 원인에 의한 사망)까지의 기간에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 본 개시내용의 방법은 PFS의 증가를 제공한다. 일부 구현예에서, 본 방법은 적어도 9개월 내지 적어도 약 24개월(예를 들어, 적어도 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 13개월, 14개월, 15개월, 16개월, 17개월, 18개월, 19개월, 20개월, 21개월, 22개월, 23개월, 24개월 또는 그 이상, 및 최대 약 5년)의 PFS를 제공한다.

[0069] 객관적 반응률(ORR)은 RECIST 1.1에 대해 완전 반응(CR) 또는 부분 반응(PR) 중 적어도 1회 방문 반응을 한 환자의 수(%)를 지칭한다.

[0070] 본원에 기술되고 실시예에 예시되어 있는 바와 같이, 본 방법은 국소 진행성 절제 불가능 NSCLC의 치료를 제공한다. 일부 구현예에서, 절제 불가능 암은 몇몇 의학적 이유 중 적어도 하나로 인해 수술로 완전히 제거될 수 없는 암을 포함한다. 암이 절제 불가능할 수 있는 이유로는, 예를 들어 종양의 크기(예를 들어, 너무 커서 필수 장기의 일부를 안전하게 제거할 수 없고/없거나, 이의 광범위한 제거를 필요로 할 수 있음), 종양의 위치(예를 들어, 필수 구조, 예를 들어 혈관 또는 신경과 물리적으로 뒤얽혀 있는 종양), 종양의 제거가 모든 암, 또는 수술 위험성을 허용 불가능한 수준까지 높이는 기타 의학적 병태(예를 들어, 심장 질환, 폐 질환, 당뇨병)를 제어 하는데 효과적이지 않는 종양 전이를 들 수 있다. 또한, 절제 불가능 NSCLC는 가능한 수술적 절제를 허용하는 정도로 종양의 크기를 감소시키는데 효과적일 수 있는 적극적 치료 이후에 영구적으로 절제 불가능하지 않을 수 있다. 절제 불가능 NSCLC는 또한 수술로 완전한 제거는 이루어지지 않을 것이지만, 하나 이상의 수술 처치에 의해 부분적으로 제거될 수 있는 NSCLC(또는 원격전이)를 지칭할 수 있다. 예로는 용적 축소 수술(debulking surgery) 및 폐암의 일부뿐만 아니라 전이성 병변의 일부를 제거하는 수술을 들 수 있다.

[0071] 특정 구현예에서, 본원에 개시된 방법은 절제 가능 암에 대해 사용될 수 있다.

[0072] 본원에 기재되고 예시된 바와 같이, 본 개시내용의 방법은 말기(예를 들어, 병기 III기) 국소 진행성 절제 불가능 NSCLC 환자의 치료에 사용될 수 있다. 암 병기화(cancer staging)는 당업계에서 일반적으로 알려져 있고 용인된 임의의 시험을 통해 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 암 병기화는 미국 암연합회(AJCC)의 TNM 시스템을 포함할 수 있다. 일반적으로, TNM 시스템은 원발성 종양(종양, T)의 크기 및 위치; 암이 림프절까지 확산하였는지 여부 및 만약 확산하였다면 감염된 림프절(결절, N)의 위치 및 개수; 및 암이 신체의 기타 부분까지 확산하였는지 여부 및 만약 확산하였다면 원발성 암(전이, M)의 정도 및 위치를 결정하기 위해 다양한 시험 및 스캔으로부터 얻어진 결과를 제공한다. 각각의 유형의 암이 그 자신의 특정 시스템을 가질 수 있을지라도 TNM 병기화 결정 시스템은 일반적으로 각각의 문자에 대한 등급별 병기(scaled scoring)를 이용한다.

[0073] 일부 구현예에서, 절제 불가능 NSCLC는 병기 III기이다. 일부 구현예에서, 절제 불가능 NSCLC는 국소 진행성이다. 일부 구현예에서, 절제 불가능 NSCLC는 병기 III기이고 국소 진행성이다.

[0074] 종양에 있어서, "T"는 일반적인 종양의 크기, 위치 및 종양이 주변 조직에 침투하였는지 여부를 설명하기 위한 숫자(예를 들어, 0 내지 4)와 연관이 있다. 보다 크고 보다 많은 침윤성 종양에는 보다 높은 숫자가 주어지며, 암에 따라 "a", "b", 또는 "m"(복수의 경우)과 같은 소문자가 부가되어 보다 많은 세부사항을 제공할 수 있다.

[0075] 마찬가지로, 결절의 경우에도, "N"은 암이 림프절에서 발견되었는지 여부를 설명하기 위한 숫자(예를 들어, 0 내지 3)와 연관이 있으며, 또한 암이 함유된 림프절의 개수를 나타낼 수 있다. 보다 많은 림프절이 암과 관련이

있는 경우에 보다 높은 숫자가 배정될 수 있다.

- [0076] 전이의 경우, "M"은 암이 신체의 다른 부분으로 확산되었는지 여부를 나타내며, 확산이 없는 경우에 M0로, 또는 암이 확산되어 있는 경우에 M1로 표시된다.
- [0077] T, N, 및 M 결과는 암의 병기, 전형적으로 4개의 병기, 즉 병기 I기(1기) 내지 병기 IV기(4기) 중 하나를 결정하기 위해 조합될 수 있다. 또한 일부 암은 병기 0기가 있다. 병기 0기는 원 위치에 있는 암을 설명한 것으로, 주변 조직으로의 임의의 확산 없이 초기 조직에 국한되어 남아 있다. 이러한 암의 병기는 통상 수술에 의해 전체 종양을 제거함으로써 종종 치료 가능성이 높다. 병기 I기 또는 초기 병기의 암은 일반적으로 주변 조직 내로 깊숙이 성장하지 않고 림프절 또는 인체의 기타 부분까지 확산하지 않은 작은 암 또는 종양을 설명하기 위해 사용된다. 병기 II기 및 병기 III기는 주변 조직 내로 보다 깊숙이 성장하였고 또한 림프절까지 확산했을 수 있지만 기타 조직으로 전이되지 않은 보다 큰 암 또는 종양을 설명한다. 병기 IV기는 인체의 기타 장기 또는 부분까지 확산되었으며 종종 진행성 또는 전이성 암으로서 식별되는 암을 설명한다.
- [0078] 병기화는 회복 가능성 및 추천 요법을 제공하기 위한 예후 인자의 선택적 분석을 포함할 수 있다. 예후 인자는 암 세포의 외관; 종양 마커 발현의 분석; 및 종양 유전학의 분석에 기초하여 암을 등급화(grading)하는 것을 포함할 수 있다.
- [0079] 암은 치료 효능을 확인하거나 재발성 암에 관한 보다 많은 정보를 획득하기 위해 동일한 초기 시스템을 이용하여 재병기화할 수 있다.
- [0080] NSCLC의 병기화: NSCLC에는 5개의 병기가 있다: 병기 0기(0) 및 병기 I기 내지 IV기(1 내지 4). 병기 0기 NSCLC는 암이 주변 조직 내로 성장하지 않았거나 폐 밖으로 확산되지 않았다는 것을 나타낸다.
- [0081] 병기 I기 NSCLC는 암이 임의의 림프절까지 확산되지 않은 작은 종양인 것을 나타낸다. 병기 I기는 종양의 크기에 기반하여 2개의 하위 병기로 세분된다: 병기 IA기 종양은 너비가 3 센티미터(cm) 미만이고, 병기 IB기 종양은 너비가 3 cm 초과 5 cm 미만이다. 병기 I기 NSCLC는 암의 완전한 수술적 제거를 허용할 수 있다.
- [0082] 병기 II기는 2개의 하위 병기(IIA기 및 IIB기)로 세분된다. 병기 IIA기는 주변 림프절까지 확산되지 않은, 너비가 5 cm 초과 7 cm 미만인 종양이거나, 주변 림프절까지 확산된, 너비가 5 cm 미만인 작은 종양일 수 있다. 병기 IIB기는 림프절까지 확산된, 너비가 5 cm 초과 7 cm 미만인 종양, 또는 폐 내의 주변 구조 내로 성장할 수 있거나/없지만 림프절까지 확산되지 않은, 너비가 7 cm 초과인 종양을 기술할 수 있다. 병기 II기 NSCLC는 수술적 치료를 허용할지라도 흔히 이러한 병기의 NSCLC를 치료하기 위해 기타 요법이 요구된다.
- [0083] 병기 III기는 하위 병기 IIIA기 또는 IIIB기를 포함한다. 많은 병기 IIIA기 암 및 거의 모든 병기 IIIB기 암에서 수술은 어렵거나 불가능한데, 이는 암이 림프절까지 확산되었거나 폐 내의 주변 구조 내로 성장했기 때문이다. 어떤 경우이든, 수술은 일반적으로 암의 부분적 제거가 요구된다.
- [0084] 병기 IV기 NSCLC는 다른 폐 내의 하나 초과 영역, 폐 또는 심장 주변의 유체까지의 확산, 또는 신체 내의 원격전이와 연관이 있다. NSCLC는 뇌, 뼈, 간, 및 부신으로 확산될 가능성이 높다. 병기 IV기 NSCLC는 하위 병기 IVA기(흉부 내부까지 확산됨) 및 IVB기(흉부 밖으로 확산됨)를 포함한다. 대부분 병기 III기 또는 병기 IV기 NSCLC의 경우에 수술은 성공할 확률이 적으며, 쇄골 상부의 림프절 또는 흉부 내부의 필수 구조(예를 들어, 심장, 큰 혈관, 또는 주요 폐 구조)까지 확산된 경우는 제거가 불가능할 수 있다. 특정 구현예에서, 본원에 개시된 환자는 병기 IV기 NSCLC 환자이다.
- [0085] 재발성 NSCLC는 치료 과정 이후에 검출된다.
- [0086] 본원에 개시되어 있는 방법의 실시는, 달리 언급하지 않는 한, 충분히 당업자의 범위 내에 있는 분자 생물학(재조합 기법을 포함함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학, 및 면역학의 통상적인 기법이 사용된다. 이러한 기법은 문헌, 예컨대 ["Molecular Cloning: A Laboratory Manual", second edition (Sambrook, 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (Gait, 1984); "Animal Cell Culture" (Freshney, 1987); "Methods in Enzymology"; "Handbook of Experimental Immunology" (Weir, 1996); "Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells" (Miller and Calos, 1987); "Current Protocols in Molecular Biology" (Ausubel, 1987); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis, 1994); 및 "Current Protocols in Immunology" (Coligan, 1991)]에 자세히 설명되어 있다.
- [0087] **실시예**

[0088] 실시예 1: 국소 진행성 절제 불가능 비소세포폐암(병기 III기) 환자에서 백금 기반 화학방사선 요법과 조합된 더발루맵의 효능

[0089] 이는 국소 진행성 절제 불가능 NSCLC(병기 III기) 환자에서, 백금 기반 화학방사선 요법(CRT)과 병행하여 제공되는 더발루맵(더발루맵 + 표준 치료[SoC] CRT)의 효능 및 안전성을 평가하는 제3상, 무작위화, 이중맹검, 위약 대조, 다기관, 국제 연구이다.

[0090] 국소 진행성 절제 불가능 NSCLC(병기 III기) 환자 약 390명이 모집되며, 300명의 환자는 2:1 비율로 더발루맵 + SoC CRT 또는 위약 + SoC CRT로 무작위화된다. 환자는 연령(< 65세 대 ≥ 65세) 및 병기(IIIA기 대 IIIB/C기)에 따라 계층화된다.

[0091] 본 연구의 대상체로는 조직학적 또는 세포학적으로 기록된 NSCLC가 있고 국소 진행성 절제 불가능(병기 III기) 질환이 있는 18세 이상의 성인 대상체가 포함된다. 모든 대상체는 적절한 기관 및 골수 기능이 요구되었다.

[0092] NSCLC에 대해 과거 또는 현재에 치료(방사선 요법, 임상시험용 제제, 화학요법, 및 mAb를 포함하되 이에 한정되지 않음)를 받은 경우 대상체는 연구 참여에서 제외되었다.

[0093] 모든 환자는 방사선 요법 외에 다음과 같은 백금 기반 SoC 화학요법 옵션 중 하나를 받게 된다: 시스플라틴/에토포시드, 아보플라틴/파클리탁셀, 페메트렉시드/시스플라틴, 또는 페메트렉시드/카보플라틴. 화학요법 치료 요법은 표 1에 요약되어 있다.

표 1

연구 치료제

|                           | 더발루맵                                                        | 위약                          | 표준 치료*                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                 |                                                                 |                                 |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| <b>연구 치료제 명칭:</b>         | 더발루맵 (MEDI4736)                                             | 식염수 용액                      | 시스플라틴/에토포시드                                                                                                                         | 카보플라틴/파클리탁셀                                                                                                                                                                                       | 페메트렉시드/시스플라틴 <sup>b</sup>                                                                                       | 페메트렉시드/카보플라틴 <sup>b</sup>                                       | 방사선                             |
| <b>투약 제형<sup>c</sup>:</b> | 희석 후 주입용 500 mg 바이알 용액, 50 mg/mL                            | 주사용 0.9% (w/v) 염화나트륨의 멸균 용액 | 현지 공급에 따름                                                                                                                           | 현지 공급에 따름                                                                                                                                                                                         | 현지 공급에 따름                                                                                                       | 현지 공급에 따름                                                       | 현지 공급에 따름                       |
| <b>투여 경로</b>              | IV                                                          | IV                          | IV                                                                                                                                  | IV                                                                                                                                                                                                | IV                                                                                                              | IV                                                              | 외부 병 방사선                        |
| <b>투약 지침<sup>d</sup>:</b> | 1500 mg IV q4w <sup>e</sup>                                 | 더발루맵 부피와 일치하는 식염수 부피        | 시스플라틴 50 mg/m <sup>2</sup> , 1일차 및 8일차<br>에토포시드 50 mg/m <sup>2</sup> , 1-5일차 q28일 x 2 주기<br><b>+1 추가적 유도 주기 선택사항</b><br>동시 흥부 방사선요법 | 카보플라틴 AUC 2 및 파클리탁셀 40-50 mg/m <sup>2</sup> , 6주 동안 매주 1일차 - 동시 흥부 방사선요법<br><b>선택사항:</b> 방사선요법 개시 전 1 유도 주기로서 또는 방사선요법 완료 후 1-2 공고 주기로서 제공되는 파클리탁셀 175-200 mg/m <sup>2</sup> 및 카보플라틴 AUC 5-6 q21일 | 페메트렉시드 500 mg/m <sup>2</sup> 및 시스플라틴 75 mg/m <sup>2</sup> , 각 21일 주기의 1일차, 3주기 동안,<br><b>+1 추가적 유도 사이클 선택사항</b> | 페메트렉시드 500 mg/m <sup>2</sup> 카보플라틴 AUC 5, 각 21일 주기의 1일차, 4주기 동안 | 약 6주 (±3일) 동안 주당 5 분할 (총 60 Rx) |
| <b>패키징 및 라벨링</b>          | GMP 부속서 13 및 국가 규제 요건 <sup>f</sup> 에 따라 라벨링된 500 mg 바이알로 제공 | 지역별로 현지에서 공급                | 지역별로 현지에서 공급                                                                                                                        | 지역별로 현지에서 공급                                                                                                                                                                                      | 지역별로 현지에서 공급                                                                                                    | 지역별로 현지에서 공급                                                    | 지역별로 현지에서 공급                    |
| <b>공급업체</b>               | AstraZeneca                                                 | 지역별로 현지에서 공급 <sup>g</sup>   | 지역별로 현지에서 공급 <sup>g</sup>                                                                                                           | 지역별로 현지에서 공급 <sup>g</sup>                                                                                                                                                                         | 지역별로 현지에서 공급 <sup>g</sup>                                                                                       | 지역별로 현지에서 공급 <sup>g</sup>                                       | 지역별로 현지에서 공급                    |

[0094]

[0095] 환자는 또한 SoC CRT와 병행하여 정맥 주입을 통해 4주마다 더발루맵 1500 mg 또는 위약을 투여 받게 된다(즉, 1주기 1일차(±3일)부터 시작). SoC CRT 완료 후 16주 중앙 평가에서 완전 반응(CR), 부분 반응(PR), 또는 안정한 질환(SD)을 나타내는 환자는 공고 치료로서 더발루맵/위약제(1500 mg, q4w, IV)을 계속 투여 받게 된다. SoC CRT 완료 후 16주 중앙 평가에서 RECIST 1.1에 정의된 방사선학적 진행성 질환 환자에 대한 추적관찰이 진행된다. 평균 체중 75 kg을 기준으로 고정 용량 1500 mg의 더발루맵(q4w)은 20 mg/kg(q4w)에 해당한다.

[0096] 본 연구의 일차 목적은 독립적 중앙 맹검 평가(BICR)에서 평가한 바에 따라 고형 중앙 버전 1.1(RECIST 1.1)의 반응 평가 기준에 따른 무진행 생존기간 측면에서 위약 + SoC CRT 대비 더발루맵 + SoC CRT의 효능을 평가하는 것이다. 주요 2차 평가변수(즉, 다중 테스트 절차에 포함된 항목)는 BICR로 평가한 바에 따라 RECIST 1.1에 따

른 객관적 반응률, 전체 생존기간, 무작위화로부터 24개월째 생존한 환자의 비율(OS24)이다.

- [0097] **실시예 2: 방사선요법의 면역학적 결과를 입증하는 동계 무린 종양 모델에서의 유전자 발현**
- [0098] **물질 및 방법**
- [0099] **무린 종양 모델.** 아스펜칩-2 베딩, 시즐네스트 등지 재료 및 판지 터널을 갖춘 최대 6마리를 수용하는 Tecniplast 1284 IVC 케이지에 특정 병원균이 없는 조건에서 마우스를 수용하였다. 마우스를 12/12 명/암 주기로 수용하였고, 여과된 물을 제공하고, Teklad Global 19% 단백질 압출 설치류 식단을 자유롭게 먹였다.
- [0100] CT26 결장 선암종 세포주(2011년 ATCC에서 구입)를 10%(v/v) 우태 혈청 및 1%(v/v) L-글루타민(Invivogen)이 보충된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium에서 배양하였다. 세포는 3개월을 넘어서도록 계대 배양하지 않았고, *마이코플라스마* 감염이 없는지 확인하기 위해 정기적으로 스크리닝을 하였다(PlasmoTest, Source BioScience LifeSciences, UK).  $1 \times 10^5$ 개 CT26 세포를 Balb/c 마우스(Harlan Laboratories, UK)의 꼬리 밑부분에서 1 cm 떨어진 등에 피하(s.c.) 주사하였다. 캘리퍼스를 사용하여 길이  $\times$  너비  $\times$  깊이로서  $\text{mm}^3$  단위로 종양 부피를 측정하고, 무게를 매일 모니터링하였다.
- [0101] **종양 요법.** 종양이  $100 \sim 200 \text{ mm}^3$ 에 달하면 국소 방사선을 적용하였다. 2 Gy/min의 선량률로 12 mA에서 250 kV X선(MXR-320/36 X선 튜브, Comet AG, 스위스)을 사용하여 7 Gy의 단일 용량으로 IR에 국부적으로 노출되도록 종양만 노출시키는 납보호구에 마우스를 구속하였다. 시간 정합 비처리 대조군과 함께, 조사 후 1일차, 3일차, 7일차에 마우스를 희생시켰다. 종양을 수확하여 유세포 분석으로 분석하기 위해 신선한 상태로 사용하였고, 유전자 마이크로어레이 분석을 위해 각 종양의 적어도 20 mg의 조직을 급속 냉동하였다. 조합 연구를 위해, 마우스에 RT를 투여한 후 10 mg/kg  $\alpha$ PD-L1 단클론 항체(mAb)(클론 10F.9G2, Biolegend, UK)를 1주일 동안 3qw 투여하고 RT 1일차에 시작하였다. 종양이  $1000 \text{ mm}^3$ 의 부피에 도달한 경우 또는 장기 생존(LTS) 마우스의 경우 요법 후 100일차에 마우스를 희생시켰다. 유세포 분석 표현형 연구 및 조합 연구는 2회의 독립 실험을 나타낸다.
- [0102] **엑손 마이크로어레이 분석.** 마이크로어레이 평가를 위해, 각 시점에서 각 처리 그룹으로부터 5개의 서로 다른 종양을 샘플링하는 단일 연구를 수행하였다. RNASat 60(Amsbio, UK)을 사용하여 신선한 냉동 RNA 추출을 수행하고, 2100 Bioanalyzer(Agilent, UK)를 사용하여 총 RNA의 품질 관리 테스트를 수행하였다. Ovation Pico WTA System v2(NuGEN Technologies, 네덜란드)를 사용하여 샘플을 증폭하였다. QC 테스트 후, Encore Biotin Module(NuGEN Technologies, 네덜란드)을 사용하여 cDNA를 단편화하고 표지한 후, Affymetrix GeneChip® 어레이에 대한 NuGEN 지침에 따라 마우스 엑손 어레이에 혼성화시켰다. Mouse Exon 1.0 ST 어레이(Affymetrix, U.K.)를 사용하여 마이크로어레이 분석을 수행하였다. 모든 마이크로어레이 데이터는 GEO(수탁번호 GSE74875)에 기탁되었다.
- [0103] **데이터 분석.** 원시 마이크로어레이 데이터는 핵심 전사체 프로브에서 사전 처리/정규화된 Robust Multichip Algorithm(RMA)을 거쳤다(문헌[Bolstad *et al.*, *Bioinformatics* 19(2): 185-93 (2003)]). 이어서, 데이터 무결성 평가 후 3개의 이상치를 제외하여 품질 관리를 수행하였다(1일차에는 각 처리 그룹에서 하나, 3일차에는 방사선 처리 그룹에서 하나). Affy AFFX 대조군 전사체를 미정보 전사체( $\log_2$  발현 임계값  $< 3.6473$  및 분산 임계값  $< 0.0088$ )와 함께 제거하였다. 8500개의 확실히 감지된 전사체 ID(Affymetrix 전사체 클러스터 ID)가 분석을 위해 남아 있었다.
- [0104] 시점별로 처리 그룹(비처리 그룹 대 조사된 그룹)을 비교하였고, 컷오프 p-값 0.05(ANOVA)를 사용하여 차등적으로 발현된 전사체 ID(상향조절 또는 하향조절됨)를 확인하였다. 시점별로 각 전사체 ID에 대한 중앙  $\log_2$  강도 값을 비처리 종양 그룹에 대해 계산하고, 이어서 동등한 시점에 처리된 샘플을 제하여 시점별 대조군 정규화 전사체 발현 강도를 제공하였다. 계층적 클러스터 분석(HCA); 비정규화, 연결 = 와드 및 거리 = 비중심 상관관계 (Omicsoft ArrayStudio)를 수행하여 샘플 및 전사체 ID당 대조군 정규화 전사체 발현 데이터를 클러스터링하였다. 차등적으로 조절된 유전자 세트 데이터로 분류된 경로를 유전자 조절 방향을 나타내는 버블 색상을 사용하여 버블 다이어그램(MatLab)으로 시점별 플로팅하였다. 버블의 크기는 각 경로의 절대 배수 변화 발현 값을 나타낸다. BioMart(Mus Musculus 유전자 GRCm38.p2) 및 IDconverter를 사용하여 마우스 유전자 주석을 전사체 ID에 할당하였다(문헌[Alibes *et al.*, *BMC Bioinformatics* 8:9. doi: 10.1186/1471-2105-8-9 (2007)]). Ingenuity Pathway Analysis(IPA, Ingenuity® Systems)를 사용하여 기능 강화 및 네트워크 분석을 수행하였다. 적어도 1.5배 상향 조절되거나 하향 조절된 전사체를 경로 및 상류 조절자에 매핑하였다. g:Profiler의 g:GSt 기능을 사용하여 유전자 온톨로지 농축 분석을 수행하였다(문헌[Reimand *et al.*, (2011

update), *Nucleic Acids Res.* 39(Web Server issue):W307-15. doi: 10.1093/nar/gkr378 (2011)].

[0105] 유세포 분석. 종양을 1 mm<sup>3</sup> 조각으로 자르고, PBS 중 2 U/mL DNase(Sigma, 영국), 300 CDU/mL 콜라게나제 I(Life Technologies, 영국), 및 0.9 mg/mL 디스파제 II(Sigma, 영국)에서 40분 동안 37°C에서 인큐베이션하고, FACS 완충액(10% FCS가 포함된 PBS)이 포함된 100 μm 세포 여과기에 통과시켰다. CD4, CD8(BD Biosciences, U.K.), CD11b, CD11c, CD45, CD69, CD86, CD206(Biolegend, U.K.), MHC-II, F4/80, Gr1, NKp46, B220, PD-1, 및 CTLA-4(달리 언급되지 않는 한 모두 영국 eBiosciences 제품)의 발현을 CD16/CD32 Fc 차단 항체(Life Technologies, 영국)와 함께 인큐베이션한 후 유세포 분석으로 분석하였다. 사멸 세포를 제외하기 위해 생존을 염색제(Life Technologies, UK)을 포함하였다. Mouse Regulatory T세포 Staining Kit #3(eBioscience, U.K.)을 사용하여 조절 T세포를 분석하였다.

[0106] 통계 분석. Mann Whitney U 테스트를 사용하여 두 그룹 간의 유세포 분석 데이터 및 종양 부피를 비교하였다. 유전자 발현 프로파일링 데이터를 상기 설명한 바에 따라 평가하였다. 생존 데이터에 대해 Log-Rank Mantel-Cox 테스트를 수행하였다. *P*가 0.05 미만인 경우, 데이터가 유의미하게 다른 것으로 간주된다.

[0107] RT는 선천면역 및 적응면역의 활성화를 유발한다. 정작 CT26 종양을 보유하고 있는 면역 능력이 있는 Balb/c 마우스에게 단일 7 Gy 용량의 RT를 투여하고, 엑손 마이크로어레이 분석을 위해 치료 후 1일차, 3일차, 7일차에 종양을 절제하여(도 2a 및 도 2c) 초기 전사 변화를 확인하였다. 조사된 종양의 전사체를 비처리(NT) 시간 정합 대조군의 전사체와 비교하여 적어도 하나의 시점에 대해 유의미하게 차등적으로 발현된(상향조절 또는 하향조절됨) 757개 유전자(+/- 1.5배 변화 및 *p* < 0.05)를 확인하였다(표 2). 예상되는 p53 활성화 경로(방사선 의존적 DNA 손상 및 세포 사멸) 외에도, 데이터의 IPA 기능 강화 분석에서 선천면역기능 및 적응면역기능에 대한 강한 편향이 뚜렷하였다. 여기에는 항원 제시, T세포 활성화 및 세포독성, 및 케모카인 생성이 포함된다(도 2b 및 도 3, 및 표 3 및 표 4). 차등적으로 조절된 유전자의 수가 1일차 내지 7일차에서 명백히 증가했다는 점은 주목할 만하다(표 2).

**표 2**

다양한 시점에서 컷오프 임계값(≥ +/-1.5배 변화 및 *p* ≤ 0.05, ANOVA)을 충족하는 상향 또는 하향 조절된 유전자의 수.

|                        | 1 일차 | 3 일차 | 7 일차 |
|------------------------|------|------|------|
| ≥ 1.5 배 변화             | 205  | 275  | 503  |
| ≤ -1.5 배 변화            | 185  | 242  | 205  |
| 차등적으로 조절된 1 일당 총 유전자 수 | 390  | 517  | 708  |

[0108]

표 3

7 Gy IR 후 CT26 종양의 세 가지 시점(1일차, 3일차, 7일차)에서 차등적으로 발현된 유전자(배수 변화 = +/- 1.5 및  $p \leq 0.05$ )와 관련된 주요 면역학적 경로(IPA 소프트웨어로 분석). \* 여러 시점에서의 관련 경로. 가장 유의미한 p 값을 갖는 상위 10개 항목에 존재하는 비질환 관련 면역 경로를 하이라이트 표시하였다.

|      | 경로                              | 마우스 유전자                                                                                                                                                     | $-\log(p \text{ 값})$ |
|------|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 1 일차 | 항원 제시 경로                        | Psmb8, Ifng, H2-Q4, H2-Aa, Psmb8, Cd74, Tap1, H2-DMa, H2-DMb1, H2-DMb2, Tapbp, H2-Eb1                                                                       | 18.6                 |
|      | 선천면역세포와 적응면역세포 간의 교신 *          | Ifng, Cd40lg, H2-Q4, Il15, Cd8a, Cd8b1, Cxcl10, Ccl4, Ccl3, Il1b, Tnf, H2-Eb1                                                                               | 14.4                 |
|      | 수지상 세포 성숙 *                     | Cd40lg, H2-Q4, Il15, H2-Aa, H2-Ab1, H2-DMa, H2-DMb1, H2-DMb2, Il1b, Stat2, Stat1, Tnf, H2-Eb1, Fcgr4                                                        | 9.36                 |
|      | T 헬퍼 세포 분화                      | Ifng, Cd40lg, H2-DMa, H2-DMb1, H2-DMb2, H2-Aa, H2-Ab1, Stat1, Tnf, H2-Eb1                                                                                   | 9.11                 |
| 3 일차 | 과립구 유착 및 누출 *                   | Il1a, VCAM1, Cxcl11, Ppbp, Il1r1, Cxcl12, Ccl17, Mmp13, Ccl5, Cldn6, Cxcl10, Cxcl16, Cxcl3, Ccl4, Il1rn, Ccl3, Ccl2, Cxcl14, Cxcl1, Ccl7                    | 11.9                 |
|      | 무과립구 유착 및 누출 *                  | Il1a, Vcam1, Cxcl11, Ppbp, Cxcl12, Ccl17, Mmp13, Ccl5, Cldn6, Cxcl10, Cxcl16, Cxcl3, Ccl4, Il1rn, Ccl3, Ccl2, Cxcl14, Cxcl1, Ccl7                           | 10.5                 |
|      | 선천면역세포와 적응면역세포 간의 교신 *          | Cxcl10, Il1a, Ccl4, Cd80, Il1rn, Ccl3, Il15, Ccl5, Tlr3, H2-Eb1                                                                                             | 8.5                  |
|      | 수지상 세포 성숙 *                     | Il1a, Il15, H2-Aa, Ccl10a1, H2-Ab1, Cd80, H2-DMa, Il1rn, Pik3cg, H2-DMb1, H2-DMb2, Stat2, Tlr3, Stat1, H2-Eb1, Col3a1                                       | 7.63                 |
| 7 일차 | 과립구 유착 및 누출 *                   | Sell, Sele, Cxcl11, Cxcl12, Thy1, Mmp2, Ccl5, Ccl11, Cldn6, Itgal, Ccl9, Selpg, Il1r2, Cxcl10, Ccl4, Selp, Il1rn, Ccl3, Ccl2, Tnf, Ccl6, Ccl7, Mmp19, Itga4 | 11.9                 |
|      | 선천면역세포와 적응면역세포 간의 교신 *          | Ifng, Il15, Ccl5, Cd8a, Tlr9, Cd8b1, Ccl9, Cxcl10, Cd28, Ccl4, Il1rn, Ccl3, Tlr3, Tnf                                                                       | 8.98                 |
|      | 무과립구 유착 및 누출 *                  | Sell, Sele, Cxcl11, Cxcl12, Mmp2, Ccl5, Ccl11, Cldn6, Ccl9, Selpg, Cxcl10, Ccl4, Selp, Il1rn, Ccl3, Ccl2, Tnf, Ccl6, Ccl7, Mmp19, Itga4                     | 8.92                 |
|      | T 세포 수용체 신호전달                   | Camk4, Prkca, Cd3e, Cd8a, Cd8b1, Cd3d, Ctla4, Ptpcr, Cd28, Cd3g, Lck, Tsk, Card11, Grap2, Lat, Itk                                                          | 8.54                 |
|      | 박테리아 및 바이러스의 인식에서 패턴 인식 수용체의 역할 | Ifng, Oas1a, Oas1g, Prkca, C3, Oas2, Ccl5, Oas3, Tlr9, Ifih1, Irf7, Ddx58, Casp1, Prkch, Eif2ak2, Tlr3, Tnf                                                 | 7.24                 |
|      | 수지상 세포와 자연 살해 세포 사이의 누출         | Ifng, Cd28, Prf1, Klrd1, Il15, Cd226, Ltb, Tnfrsf10, Tlr3, Tlr9, Tnf, Itgal                                                                                 | 6.68                 |
|      | 인터페론 신호전달                       | Ifit3, Ifng, Oas1a, Oas1g, Ifi35, Stat2, Irf9, Psmb8, Stat1                                                                                                 | 6.33                 |

[0109]

표 4

히트맵(도 2)에서 각 클러스터(A-E)의 주요 유전자를 면역 또는 방사선 조절 연관성이 있는 기능 세트로 분류, 각 시점에서의 유전자 발현 배수 변화(방사선 처치 대 비처리 종양)가 표시되고, 유의미한 p값은 별표로 표시됨( $p \leq 0.05$  \*;  $p \leq 0.01$  \*\*;  $p \leq 0.005$  \*\*\*). 기능적 분류는 Nanostring nCounter Mouse PanCancer Immune Profiling Panel 및 저자 지식을 바탕으로 이루어졌다.

|                | 유전자 명칭           | 클러스터    | 1일차(배수 변화) | 3일차(배수 변화) | 7일차(배수 변화) |
|----------------|------------------|---------|------------|------------|------------|
| T세포 & 세포독성     | Cd3d             | A       | 1.84       | -2.47**    | 3.97***    |
|                | Cd3g             | A       | 1.37       | -1.94      | 3.35***    |
|                | Cd3e             | A       | 1.46       | -1.72      | 3.09***    |
|                | Cd8e             | A       | 2.16*      | -1.69      | 3.38***    |
|                | Cd28             | A       | -1.05      | -1.24      | 3.39***    |
|                | Pdcd1 (Pd1)      | A       | -1.05      | -1.25      | 1.95***    |
|                | Ctla4            | A       | 1.07       | -1.09      | 2.54***    |
|                | Icos             | A       | 1.03       | -1.17      | 1.78***    |
|                | Lag3             | A       | 1.01       | 1.04       | 2.24***    |
|                | Entpd1 (Cd39)    | A       | 1.38       | -1.09      | 1.63***    |
|                | Havcr2 (Tim3)    | A       | -1.05      | 1.04       | 2.54***    |
|                | Ifng             | A       | 1.67**     | 1.24       | 1.99***    |
|                | Ii15             | B       | 1.61***    | 2.65***    | 2.14***    |
|                | Tnfrsf9 (Cd137)  | B       | 1.15       | 1.5*       | 1.12       |
|                | Cd274 (Pd-1)     | C       | 2.41       | 2.29***    | 2.11***    |
|                | Tnf              | C       | 1.53*      | 1.1        | 1.71**     |
|                | Sell (Cd62l)     | C       | 1.48       | 1.39       | -1.6**     |
|                | Cd40lg           | C       | 1.7**      | -1.17      | -1.47      |
|                | Gzmb             | C       | 2.58*      | 3.75***    | 4.04***    |
|                | 선천적 면역 반응        | Tlr9    | A          | 1.24       | 1.16       |
| C2             |                  | A       | 1.32       | 1.1        | 1.84***    |
| Stat4          |                  | A       | 1.05       | -1.36      | 2.25***    |
| Tlr3           |                  | B       | 1.21       | 2.21***    | 2.24***    |
| Nos2           |                  | B       | 1.46       | 1.82***    | 1.79***    |
| Cfb            |                  | B       | 1.35       | 1.44       | 2.66***    |
| Irf7           |                  | B       | 1.27       | 2.77***    | 4.39***    |
| Irf9           |                  | B       | 1.22       | 1.39       | 1.71***    |
| Mx1            |                  | B       | 1.53       | 3.68***    | 5.41***    |
| Oas1a/Oas1g    |                  | B       | 1.42       | 1.92***    | 2.82***    |
| Oas2           |                  | B       | 1.27       | 2.15**     | 2.54***    |
| Irf1           |                  | C       | 2.14***    | 1.41       | 1.49       |
| Stat1          |                  | C       | 2.08***    | 1.61*      | 1.85***    |
| Stat2          |                  | C       | 1.64*      | 2.05***    | 2.38***    |
| C3             |                  | C       | 1.98***    | 1.42       | 2.24***    |
| C1ra           |                  | C       | 1.37       | 1.48       | 1.87***    |
| C1rb           |                  | C       | 1.37       | 1.48       | 1.87***    |
| Cd74           |                  | D       | 2.21**     | -2.02**    | -1.19      |
| Retnla         |                  | D       | -1.55      | -6.93***   | 2.54       |
| Mrc1           |                  | E       | -1.34      | -1.89***   | -1.41      |
| Cd183          | E                | -1.58** | -1.96***   | 1.09       |            |
| 방사선 의존적 DNA 손상 | Tnfrsf10 (Trail) | A       | 1.22       | 1.62*      | 1.63***    |
|                | Casp4            | B       | 1.54***    | 2.09***    | 1.85***    |
|                | Parp11           | B       | 1.24       | 1.79***    | 2.01***    |
|                | Cdkn1a           | C       | 1.46       | 1.7***     | 1.24       |
|                | Fas              | C       | 1.8***     | 1.52*      | 1.31       |
| Parp14         | C                | 1.53    | 1.8*       | 2.51***    |            |

[0110]

|            |              |        |          |          |          |         |
|------------|--------------|--------|----------|----------|----------|---------|
| 복구 & 세포 사멸 | Parp12       | C      | 1.32     | 1.76**   | 2.06***  |         |
|            | Parp9        | C      | 1.44     | 1.72***  | 1.97***  |         |
|            | Brcs1        | E      | -1.07    | -1.2     | -1.59*** |         |
|            | Brcs2        | E      | -1.04    | -1.18    | -1.59*** |         |
|            | Ercc1        | E      | -1.02    | -1.13    | -1.77*** |         |
|            | Lig4         | E      | -1.83*   | -1.59    | -1.33    |         |
|            | Pola1        | E      | -1.09    | -1.32    | -1.58*** |         |
|            | Gadd45a      | E      | -2.13*** | -1.53*   | -1.2     |         |
|            | Parpbp       | E      | 1.33     | -1.11    | -1.56*   |         |
|            | Hist1h4h     | E      | -1.87*** | -1.81*** | -1.35    |         |
|            | Hist2h4      | E      | -1.72*   | -1.83**  | -1.06    |         |
|            | 항원 제시 및 B 세포 | Cd80   | B        | 1.26     | 1.87***  | 1.37    |
|            |              | Psmb8  | C        | 1.84***  | 1.4      | 1.52*   |
|            |              | Psmb9  | C        | 2.03***  | 1.43     | 1.4     |
| Psmb10     |              | C      | 1.59*    | 1.55*    | 1.51*    |         |
| Tap1       |              | C      | 1.85***  | 1.37     | 1.48     |         |
| Tapbp      |              | C      | 1.51**   | 1.6***   | 1.6***   |         |
| H2-DMA     |              | D      | 1.6**    | -1.54**  | -1.05    |         |
| H2-DMb1    |              | D      | 1.61*    | -1.9***  | -1.24    |         |
| H2-DMb2    |              | D      | 1.61*    | -1.9***  | -1.24    |         |
| H2-Aa      |              | D      | 1.95*    | -2.28*** | 1.02     |         |
| H2-Ab1     |              | D      | 1.66*    | -1.72*   | 1.01     |         |
| H2-Eb1     |              | D      | 2.08*    | -2.43*** | -1.02    |         |
| Prkob      |              | D      | -1.26    | -2.48*** | 1.32     |         |
| Cd24a      |              | D      | 1.02     | -2.32*   | 1.31     |         |
| Cd93       |              | D      | -1.03    | -1.73*** | -1.13    |         |
| Cd38       |              | D      | 1.59**   | -1.09    | 1.26     |         |
| Cd209d     |              | D      | -1.18    | -2.02*** | 1.12     |         |
| Cd209e     |              | D      | -1.08    | -1.98*** | -1.04    |         |
| 케모카인       |              | Cxcl10 | B        | 2.12*    | 3.04***  | 2.58*** |
|            |              | Ccl2   | B        | 1.38     | 1.9***   | 1.51**  |
|            | Ccl5         | B      | 1.44     | 1.75*    | 4.17***  |         |
|            | Ccl6         | B      | 1.08     | 1.33     | 1.51*    |         |
|            | Ccl7         | B      | 1.25     | 1.63**   | 1.97***  |         |
|            | Cxcl1        | C      | 2.58***  | 2.41***  | 1.26     |         |
|            | Cxcl2        | C      | 1.59     | 3.63***  | 1.15     |         |
|            | Cxcl11       | C      | 2.7**    | 3.1***   | 2.72***  |         |
|            | Ccl3         | C      | 2.4**    | 2.28**   | 2.63***  |         |
|            | Ccl4         | C      | 2.37***  | 2.48***  | 3.45***  |         |
|            | Ccl11        | D      | 1.04     | -1.29    | 3.24***  |         |
|            | Ccr2         | D      | 1.22     | -1.56*   | 1.3      |         |
|            | Cxcl9        | D      | 4.25***  | -1.02    | 1        |         |
|            | Cxcl12       | D      | 1.38     | -1.64*   | 1.77*    |         |
|            | Cxcl14       | D      | -1.07    | -2.26*** | 1.38     |         |
|            | Cxcl16       | D      | 1.37     | -1.57*** | -1.11    |         |
|            | Ccl17        | E      | -1.21    | -1.56**  | -1.18    |         |

[0111]

[0112]

또한, 반응 패턴은 각 시점에서 유의미하게 차등적으로 조절된 상위 면역 관련 상류 조절자로 구축된 네트워크 맵에서 분명하게 나타난다(도 3). 또한, 경로 분석에서 상향 및 하향 조절된 유전자의 30.8%가 면역 시스템 프로세스(GO:0002376)(조사 후 7일 동안 면역 프로세스의 우세를 강조하는 이 유전자 세트에서 볼 수 있는  $4.35E-72$ 의 가장 유의미한 농축  $p$ 값을 제공함)와 연관되어 있음이 뚜렷이 나타났다. 그러나 유전자의 5%가 조금 넘는 유전자가 3개 시점(38개(상향)/3개(하향)) 모두에서 유사한 거동을 나타냈고, 따라서 평가된 3개 시점에서 방사선 반응의 상이한 형상이 강조되었다.

[0113]

차등적으로 발현된 유전자에 대한 상세한 계층적 클러스터 분석(HCA)을 통해 각각 상이한 시점에서 공동 조절되는 유전자를 포함하는 5개의 클러스터가 확인되었다(도 2b). 클러스터 A의 유전자는 대조군 종양에서의 발현과 비교했을 때 7일차에 유의하게 상향조절되었다. 경로 분석에 따라 이들 유전자의 대다수가 T세포 수용체 신호전달 및 CD28 신호전달을 비롯한 적응면역세포 반응과 관련되어 있음이 입증되었다. 이러한 점은 *Cd3d/e/g*, *Cd8a*, 및 *Cd28* 발현의 증가로 나타나며, 이는  $CD3^+/CD8^+$  T세포의 증가된 침윤 또는 확장을 시사한다. 또한, *Ifn $\gamma$* 의 상향 조절에 의해 활성 항종양 면역 반응의 징후가 시사되었다. 또 다른 상향조절된 관심 유전자는 세포사멸 수용체 TRAIL을 암호화하는 *Tnfrsf10*이다. 방사선은 세포사멸 수용체 및 이의 리간드의 종양 세포 표면 발현을 유도하는 것으로 알려져 있으며, T세포 상의 TRAIL의 상향 조절은 TRAIL 수용체의 활성화를 통해 종양 세포 사멸의 지시를 도울 수 있다. 흥미롭게도, *Pd-1*, *Lag3*, 및 *Ctla4*와 같은 억제성 면역 체크포인트의 관찰된 동시 발현은 이러한 적응면역반응이 일시적일 수 있음을 시사하였다. 이러한 면역억제성 종양 미세환경의 발달은 또한 *Cd73*의 효소 활성화와 연관되어 아데노신 의존적 면역 세포 억제에 기여하는 것으로 알려진 *Cd39/Entpd1*의 상향 조절에 의해 강화된다.

[0114]

제2 클러스터(B)에는 선천성 면역과 관련된 유전자뿐만 아니라 면역계의 선천아암과 적응아암 사이의 교신에 관여하는 단백질을 암호화하는 유전자도 풍부하였다. 이들 유전자는 실험 과정 동안 지속적으로 상향 조절되었다. 일부 유전자는 1일차에 크게 상향 조절되었지만 대부분의 유전자 발현은 3일차부터 크게 상향 조절되었다. 이러한 발현 패턴은 선천면역반응이 조기에 시작되고 RT 단회 용량 투여 후 첫 주 동안 상대적으로 일정하게 유지된다는 것을 시사한다. 이 클러스터의 관련 유전자에는 APC 상에 발현되는 공동자극 수용체인 *Cd80*, 및 자연 살해

세포 및 T세포의 강력한 유도체/활성체 역할을 하는 단핵구 및 수지상 세포에 의해 발현되는 사이토카인 *IL15*가 포함된다. 또한, 클러스터 B는 *Nos2*(활성화된 대식세포 상에서 *IFN $\gamma$* 에 의해 유도되는 효소), *Cfb*(축매 하위 단위 Bb가 C3 전환효소를 활성화하여 B세포를 활성화할 수 있는 보체 인자 B), 및 톨 유사 수용체 3(*Tlr3*)을 포함한다. 또한, *Irf7*, *Irf9*, *Mx1*, *Oas1a/g*, 및 *Oas2*를 비롯한 I형 및 II형 인터페론 조절 유전자, 및 케모카인 유전자 *Cxcl10*, *Ccl2/5/6* 및 7이 이 클러스터에 풍부하였다.

[0115] 클러스터 C의 프로파일은 여러 시점에 걸쳐 더욱 일관되며 연대순 반응 측면에서 "제1 유전자 클러스터"로 간주될 수 있다. 이는 초기 시점(1일차 및 3일차)에 크게 상향조절된 대규모 유전자 세트와 후에(3일차 내지 7일차) 상향조절된 소규모 하위 세트로 구성되었다. 선천면역반응, 방사선 의존적 DNA 손상 복구 및 세포사멸, 케모카인은 이 클러스터에서 주된 기능적 강화였지만, T세포 및 세포독성, 항원 제시, 및 B세포와 관련된 여러 유전자도 존재하였다. 선천성 면역과 관련된 유전자에는 *C3*, *Clra*, 및 *Clrb*와 같은 보체를 암호화하는 유전자, 및 *Stat1*을 비롯한 인터페론 조절 유전자가 포함된다. 흥미롭게도, *Stat1*은 세 가지 시점 모두의 IPA 기능 강화 분석에서 상향 조절자로 두각을 나타냈다(도 3 및 표 4). *Ccl4*(대식세포 및 NK 세포 모집과 관련된 케모카인)와 같은 케모카인도 1일차에 강력하게 상향조절되었다; 항원 처리와 관련된 유전자(*Psmb8/9/10*, *Tap1*, 및 *Tapbp*)도 마찬가지였다. 방사선 의존적 DNA 손상 복구 및 세포사멸, T세포, 및 세포독성은 이 클러스터에서 주된 기능적 강화였다. 데이터세트에서 주목할 만한 검증된 점은 IR의 직접적 효과와 연결된 p53 신호전달과 관련된 유전자의 발현이다. IR로 인한 DNA 손상과 같은 세포 스트레스는 p53을 활성화하고 세포 증식을 억제하며 종양 세포의 세포사멸을 유발한다. 예를 들어, p53 활성화는 세포주기 진행 억제제 유전자 *Cdkn1a*의 발현을 유도한다(3일차에 1.7배 상향조절됨,  $p < 0.01$ ). 마찬가지로, 사멸 수용체 (1일차에 1.8배 상향조절됨,  $p < 0.01$ )는 활성화된 p53에 의해 유도되고 세포를 FAS-리간드 발현 면역 이펙터 세포에 민감하게 만드는 것으로 알려져 있다. 적응면역과 관련하여 상향 조절된 관련 유전자는 *Cd40lg*(보통 활성화된 CD4<sup>+</sup> T세포 상에 발현됨), 면역 체크포인트 단백질 *Pd-1*(Cd274)(3일차부터 크게 상향조절됨), 및 표적 세포 사멸 기능 외에도 기저막 리모델링 및 림프구 이동에 관여하는 *Gzmb*(Granzyme B)를 포함하고, 1일차부터 크게 상향조절되었다.

[0116] 클러스터 D의 유전자는 1일차에 일시적으로 상향조절된 후 3일차에 크게 하향조절되었다. 경로 분석에서는 케모카인 발현(*Cxcl9* 및 *Cxcl12*)과 함께, 항원 제시(*H2* 유전자, *Cd74*, *Cd209d*, 및 *Cd209c*), 및 B세포 활성화(*Cd24a*)와 관련된 유전자가 풍부함이 입증되었다. 항원 제시 및 B세포 관련 유전자 중 어느 것도 7일차까지 유의미하게 차등적으로 조절되지 않았으며, 이는 연속적인 효과가 면역 기능 경로를 따라 추가 진행되었음을 시사한다.

[0117] 확인된 최종 클러스터(클러스터 E)는 180개의 유전자를 포함하는 가장 큰 클러스터였다. 방사선 의존적 DNA 손상 복구는 빠르면 1일차(1일차 *Lig4*, 1일차 및 3일차 *Gadd45a*, 또는 7일차 *Brca1*, *Brca2*, *Ercc1*, *Pola1*, 및 *Parbp*)에 특정 유전자에 대해 명백히 상당한 하향조절이 있는 주요 기능적 강화이다. 이 데이터는 조사 후 24시간 이내에 DNA가 빠르게 복구됨을 보여준 이전 연구를 뒷받침한다. 마지막으로, 콜레스테롤 생합성 하향조절과 방사선 사이의 강력한 연관성이 확인되었다.

[0118] 전체적으로, 전사체 분석은 CT26 종양에 대한 단일 방사선 조사가 p53 의존적 세포사멸을 유발한다는 것을 확인시켜 준다. 세포사멸을 유발하는 것은 아마도 조사된 종양에서 선천면역반응과 적응면역반응을 모두 개시하는 속도 제한 단계일 것이다. 실제로, 유전자 발현 프로파일은 RT 유발성 종양 세포사멸이 선천성 면역(*IFN $\alpha$*  발현, 항원 처리/제시, 대식세포 모집, 및 수지상 세포 성숙)의 모집 및 활성화에 이어 적응면역반응(*IFN $\gamma$*  신호전달, T세포 세포독성, T세포 수용체 신호전달, 및 B세포 활성화)의 활성화를 유발함을 시사한다. 그러나 모든 생리학적 시스템과 마찬가지로 이러한 생물학적 면역 반응은 여러 면역억제 분자의 발현 증가로 입증된 바와 같이 일시적일 것으로 예측된다.

[0119] 유전자 마이크로어레이 데이터를 검증하고 단백질 수준에서 IR 후 면역 구성요소의 표현형 변화를 추가로 탐색하기 위해, 동일한 조직을 유세포 분석으로 병행 분석하였다. 일치하는 종양 조직의 계통 및 표현형 마커의 배수 변화를 보여주는 히트맵이 도 7에 요약되어 있다.

[0120] RT는 종양 침윤 골수 세포 집단의 표현형을 변형시킨다. 대식세포는 높은 수준의 계통 가소성을 나타내지만, 종양 관련 대식세포(TAM)는 다수의 암 유형에서 주로 M2 표현형 쪽으로 치우쳐 있다. M2 세포는 CD206(만노스 수용체 또는 MRC1로도 알려짐)을 발현하고, 불량한 APC이며, 혈관형성촉진 인자 및 면역억제 인자의 방출을 통해 면역 탈출 및 질환 진행에 기여할 수 있다. 대조적으로, M1으로 분화된 대식세포는 CD86과 같은 공동자극 분자를 공동 발현하여 효율적인 림프구 활성화를 가능하게 한다. RT 처리된 종양 및 시간 정합 NT 대조군 종양에서 TAM의 빈도 및 분화 상태를 모두 분석하였다. F4/80<sup>+</sup> TAM의 전체 수는 RT 이후 크게 변경되지 않았지만(도 4a),

CD86 및 CD206의 발현은 조절되었다. RT 7일 후, F4/80<sup>+</sup> 세포는 NT 시간 정합 대조군에 비해 CD86의 발현이 감소하였다(MFI는 695.0±46.6(NT) 대 494.7±13.9(조사),  $P < 0.05$ , 도 4b). 또한, CD206 발현은 RT 3일 후 종양 침윤 F4/80<sup>+</sup> 세포에서 크게 감소하였다(MFI는 263.7±23.8(NT) 대 99.5±8.1(조사된 종양)),  $P < 0.001$ ; 도 4c). 이러한 감소된 발현은 RT 후 7일차에도 관찰되었다. 전사체 분석에서도 또한 유사한 반응 패턴이 관찰되었다(표 4). CD86<sup>+</sup> 대 CD206<sup>+</sup> 양성 F4/80<sup>+</sup> 세포의 비율은 시간 정합 NT 대조군에 비해 3일차에 증가하였다(1.8±0.05(NT) 대 2.7±0.12(조사),  $P < 0.01$ )(도 4d). CD86 및 CD206의 발현 변화 외에도, 방사선 조사 후 유전자 프로파일링 데이터에서 관찰된 *Nos2* 및 *Stat1* 발현의 증가에 의해 대식세포 표현형의 변화가 또한 시사된다(도 3 및 표 4). 또한, M2 유사 표현형과 연결된 레지스틴 유사 알파(*Retnla*) 및 *Cd163*(각각 6.9배 및 2배)의 유전자 발현 감소도 RT 3일 후 확인되었다(도 3 및 표 4). 전체 TAM 수에 변화가 없다는 점을 감안할 때, 이러한 데이터는 RT가 M1 표현형을 향한 대식세포의 일시적인 분극화를 유도함을 시사한다.

[0121] 골수 유래 억제 세포(MDSC)는 항종양 면역 반응을 억제하는 능력을 갖고 있으므로 RT의 면역원성에 영향을 미칠 수 있다. 종양 침윤 CD11b<sup>+</sup>Gr1<sup>lo</sup> 세포의 빈도 변화는 RT 후 어느 시점에서든 관찰되지 않았지만(도 4e 및 게이팅 전략 도 8), CD11b<sup>+</sup>Gr1<sup>hi</sup> 세포(표현형적으로 MDSC로 정의됨)의 2.7배 증가는 RT 처리된 종양에서 3일차에 관찰되었다(도 4f). 이러한 증가는 7일차까지 NT와 RT 처리 그룹 간에 CD11b<sup>+</sup>Gr1<sup>hi</sup> 세포의 빈도에 유의한 차이가 관찰되지 않았기 때문에 일시적인 것으로 나타났다.

[0122] RT는 T세포 활성화를 유도하고 종양의 CD8:Treg 비율을 변경시킨다. RT가 종양에 침투하는 CD45<sup>+</sup> 세포의 비율을 전반적으로 증가시켰지만(도 9), CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T세포 수는 시간 정합 대조군과 비교했을 때 RT 3일 후 각각 52% 및 63% 만큼 감소한 것으로 나타났다(도 5a 및 도 5b). CD4<sup>+</sup> T세포 수는 처치 후 7일 동안 고갈된 상태로 유지되었지만, CD8<sup>+</sup> T세포 수는 회복되었으며 RT 처치 종양에서는 확장을 향한 강한 경향을 보였다(15.9±3.0% 내지 25.9±3.8%,  $P = 0.06$ ). 흥미롭게도, 초기 활성화 마커 CD69의 발현 증가는 시간 정합 대조군에 비해 나머지 종양 침윤 CD4<sup>+</sup>(RT 후 3일차 및 7일차) 및 CD8<sup>+</sup>(RT 후 1일차 및 3일차) T세포에서 관찰되었고(도 5c 및 도 5d 및 도 10a), 이는 RT가 T세포 활성화를 유도했음을 시사한다.

[0123] NT 종양에서도 Treg 표현형을 갖는 CD4<sup>+</sup> 세포의 비율은 1일차 내지 7일차에서 3.3배 증가하였고(도 5e), 이는 종양 미세 환경의 시간 경과에 따른 변화를 입증한다. 그러나 시간 정합 종양을 비교하면 처치 후 7일차에 평가했을 때 RT가 Treg의 빈도를 추가로 32% 증가시키는 것으로 나타났다. 그럼에도 불구하고, 흔히 암의 더 나은 예후와 관련이 있는 것으로 보고되는 CD8:Treg 세포 비율은 7일차 NT 대조군과 비교했을 때 RT 처리 종양에서 2.5배 더 높았다(도 5f).

[0124] RT는 종양 미세 환경에서 PD-1 및 PD-L1의 발현을 유도하여 항종양 효능을 제한한다. 유전자 프로파일링 데이터에 따르면 RT는 종양에서 여러 공동 억제 면역 체크포인트의 발현을 증가시키는 것으로 나타났다. 7일차에 mRNA 수준에서 RT 후 관찰된 *Pd-1*의 일관된 상향조절 및 *Pdcd1*(PD-1)의 발현을 고려하여(도 3 및 표 4), 초기 연구는 PD-1/PD-L1 경로에 중점을 두었다. 유세포 분석은 mRNA 데이터의 맥락화를 허용하고 RT 7일 후 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T세포에서 PD-1 및 PD-L1 모두의 발현 증가를 나타냈다(도 6a 내지 도 6d 및 도 10b). 또한, RT는 또한 테스트된 모든 시점에서 종양 세포 상의 PD-L1의 발현을 증가시켰다(도 6e). 이 데이터는 mRNA 수준에서 관찰된 발현 패턴과 매우 유사하였다(도 3 및 표 4).

[0125] PD-1/PD-L1 축의 차단이 RT의 항종양 효능에 영향을 미치는지 여부를 확인하기 위해 치료 연구를 수행하였다. 마우스에게 단독으로 또는 αPD-L1 mAb와 조합된 RT(단일 용량으로 7 Gy)를 투여하였다. NT 코호트의 생존 기간 중앙값은 15.5일이었고, 이는 단독요법으로 3qw 투여한 αPD-L1 mAb에 의해 크게 개선되지 않았다(생존 기간 중앙값 = 18일, 도 6f 및 도 6g). 그러나 αPD-L1 mAb와 조합하여 RT를 투여한 경우 단독 요법에 비해 생존율이 크게 향상되었으며 마우스의 70%가 넘는 비율이 완전한 치료 반응을 보였다.

[0126] 서열 목록

[0127] 서열번호 1

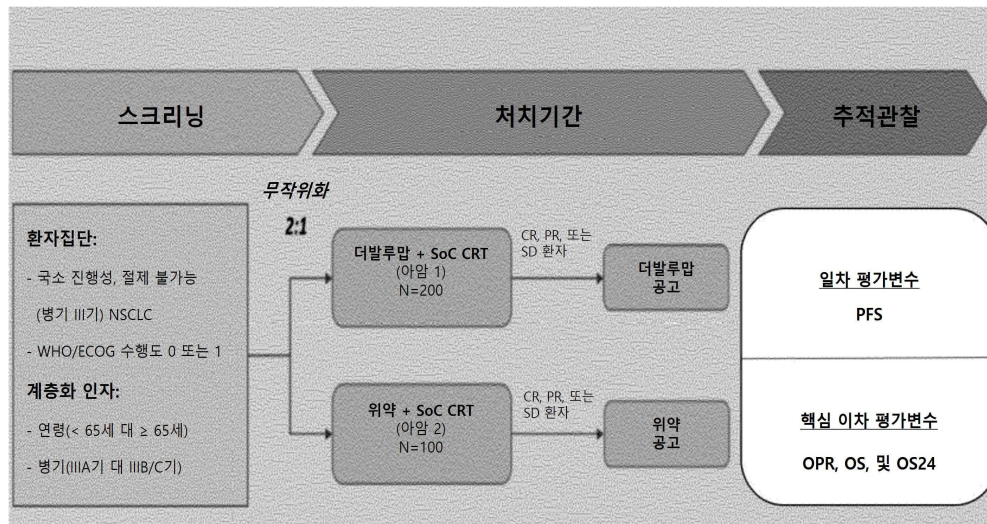
[0128] EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQYQYGLPWTFGQG

TKVEIK

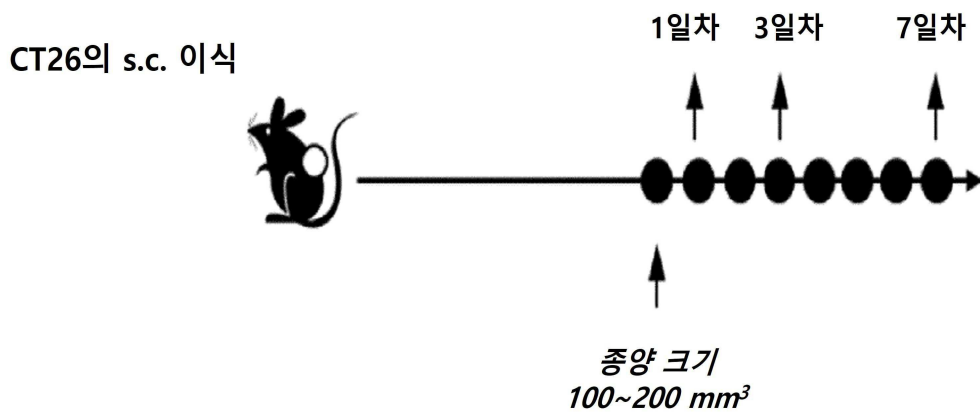
- [0129] 서열번호 2
- [0130] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELAFDYWGQGLVTVSS
- [0131] 서열번호 3 - VH CDR1
- [0132] GFTFSRYWMS
- [0133] 서열번호 4 - VH CDR2
- [0134] NIKQDGSEKYYVDSVKG
- [0135] 서열번호 5 - VH CDR3
- [0136] EGGWFGELAFDY
- [0137] 서열번호 6 - VL CDR1
- [0138] RASQRVSSSYLA
- [0139] 서열번호 7 - VL CDR2
- [0140] DASSRAT
- [0141] 서열번호 8 - VL CDR3
- [0142] QQYGSLPWT

**도면**

**도면1**

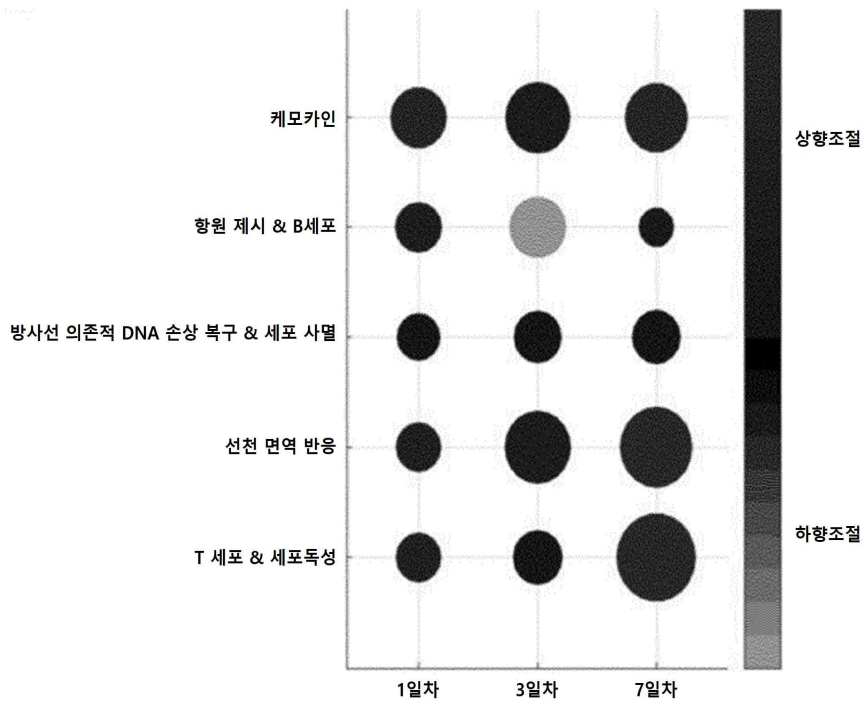


도면2a

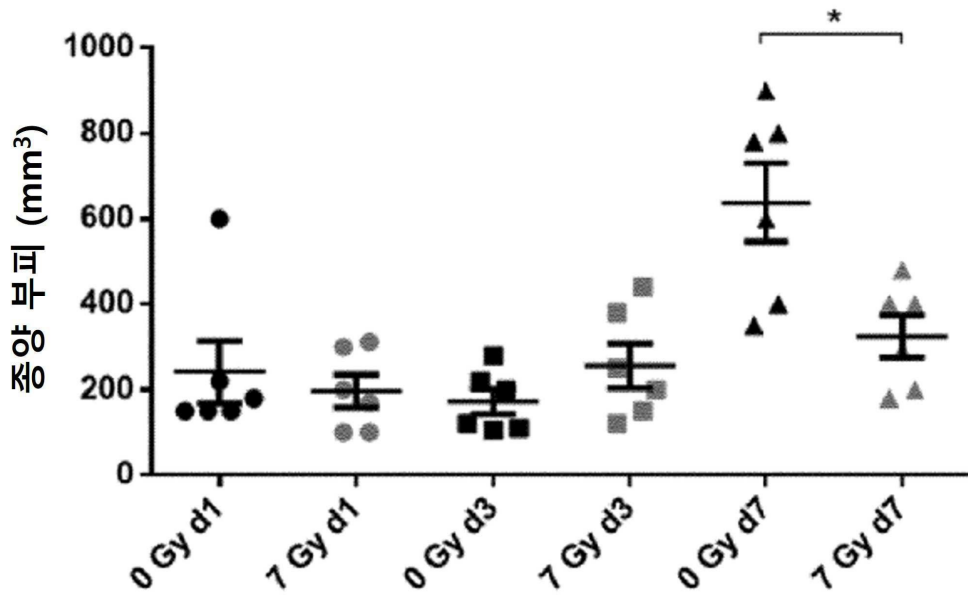


도면2b

Figure 2b

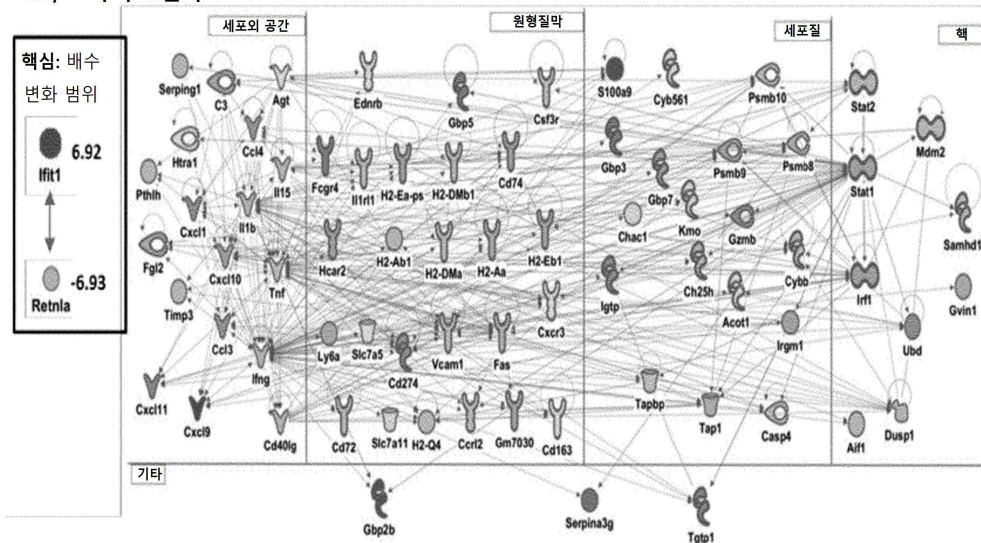


도면2c



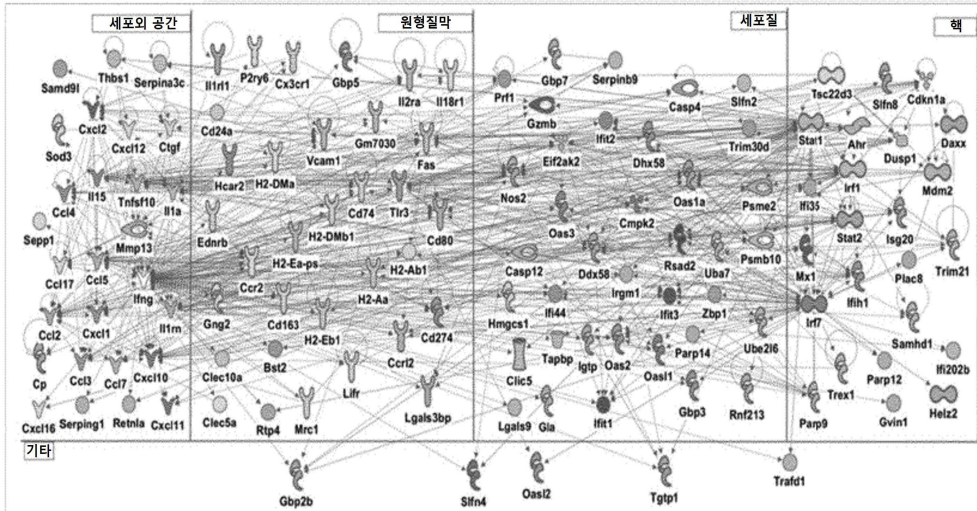
도면3a

2A, 조사 후 1일차



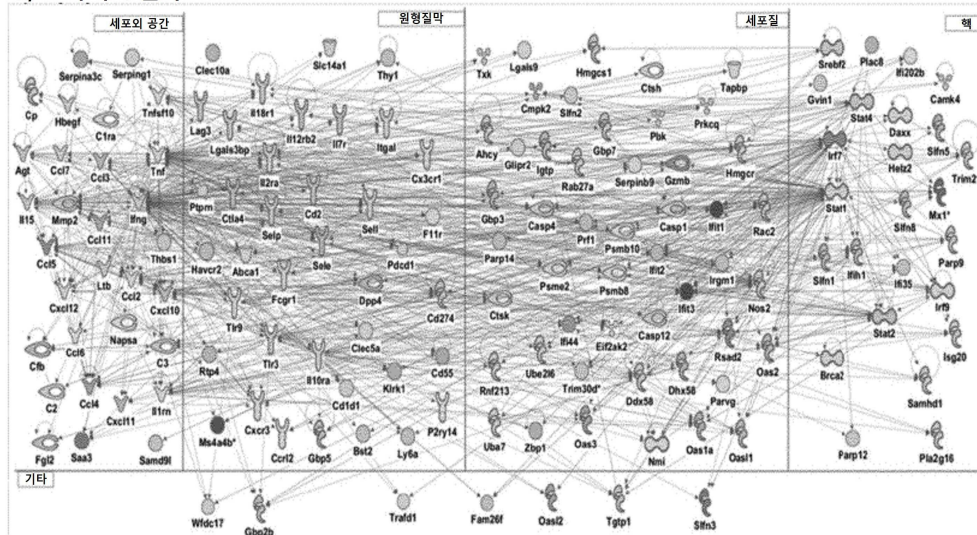
도면3b

B, 조사 후 3일차

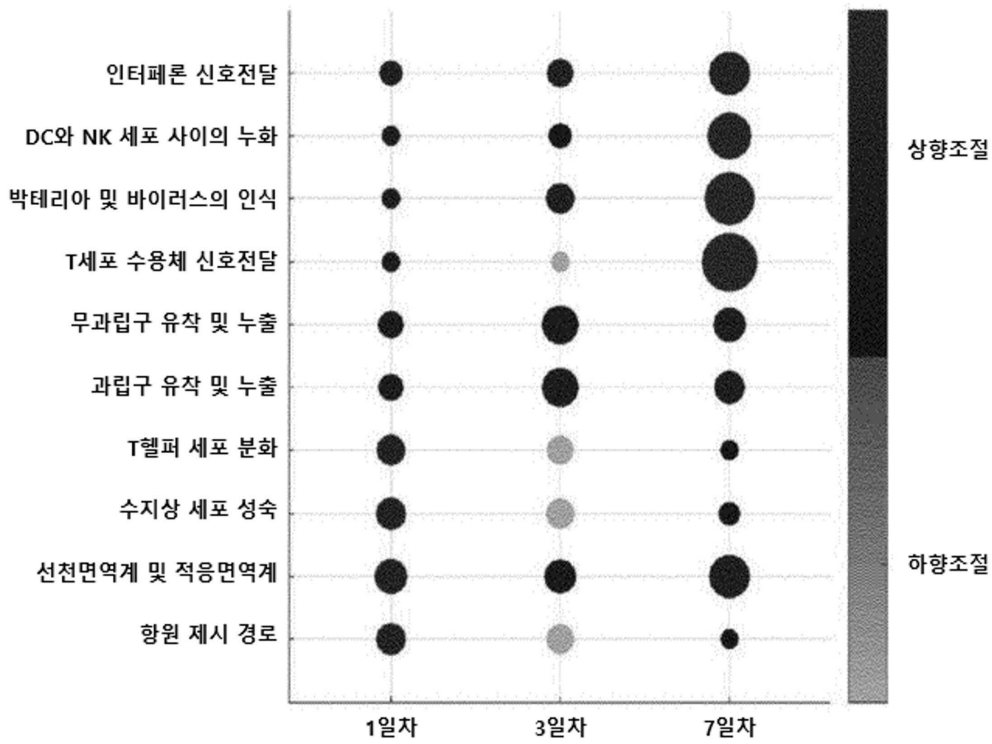


도면3c

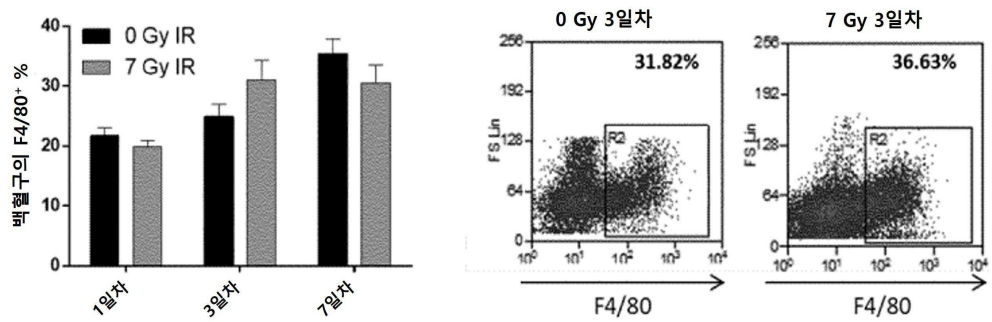
C, 조사 후 7일차



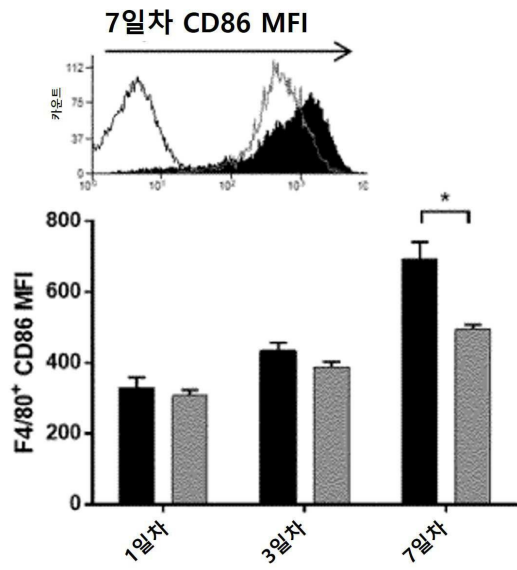
도면3d



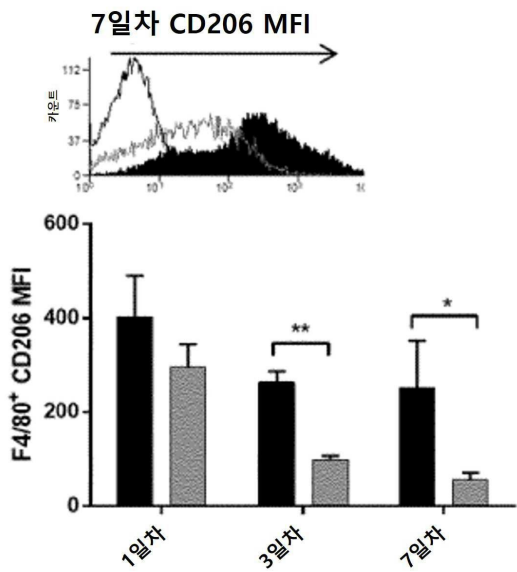
도면4a



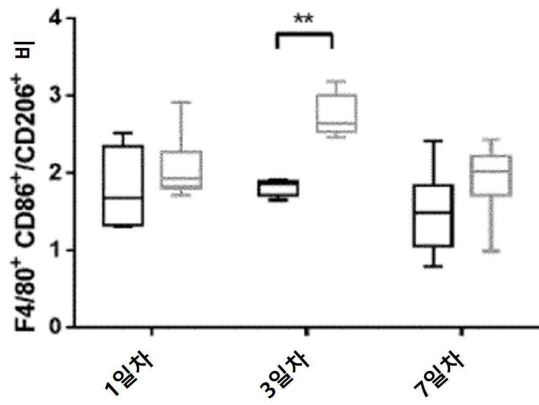
도면4b



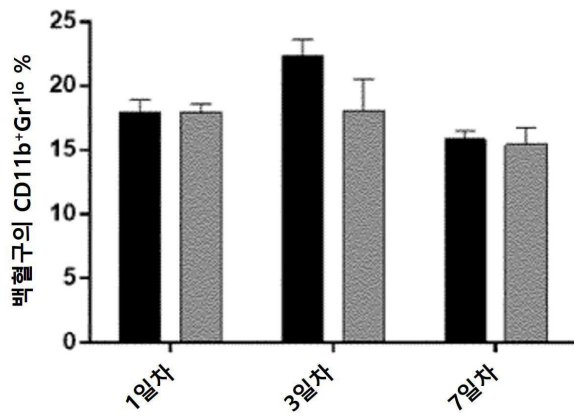
도면4c



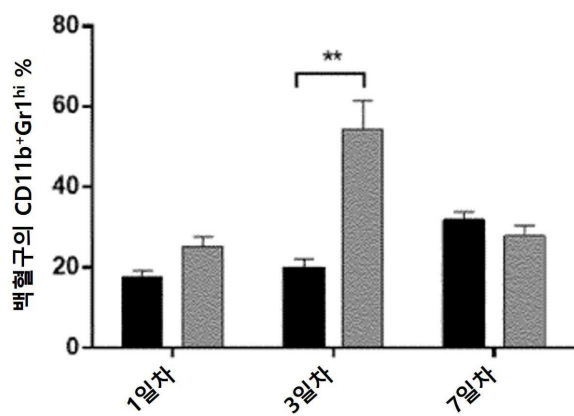
도면4d



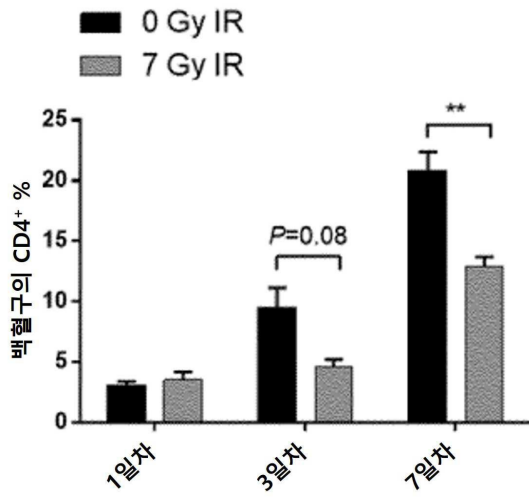
도면4e



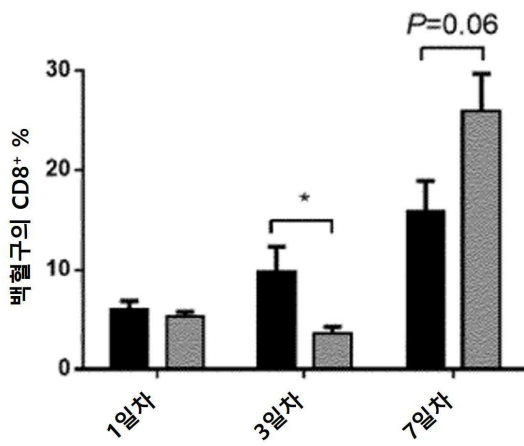
도면4f



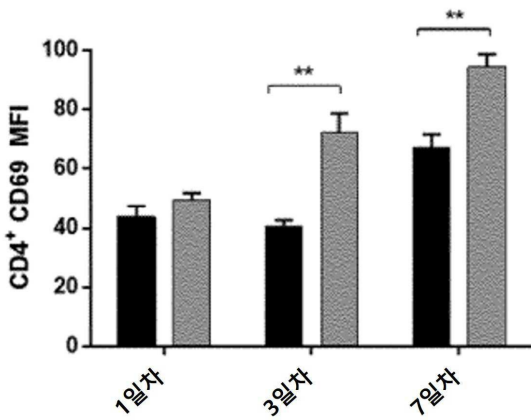
도면5a



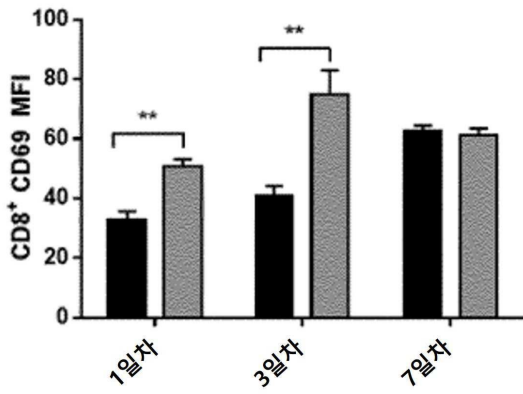
도면5b



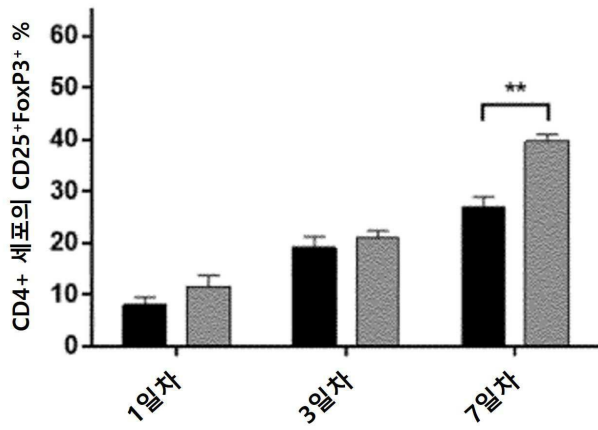
도면5c



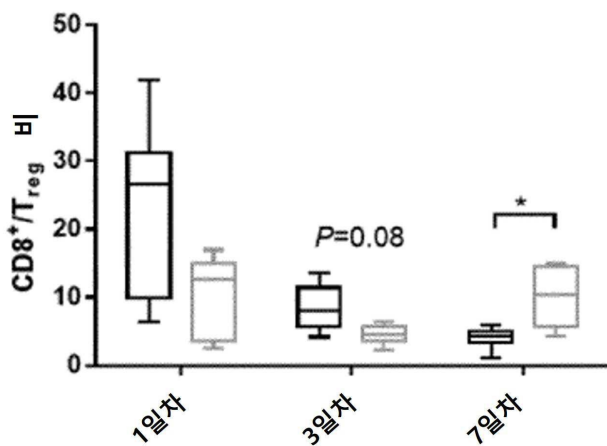
도면5d



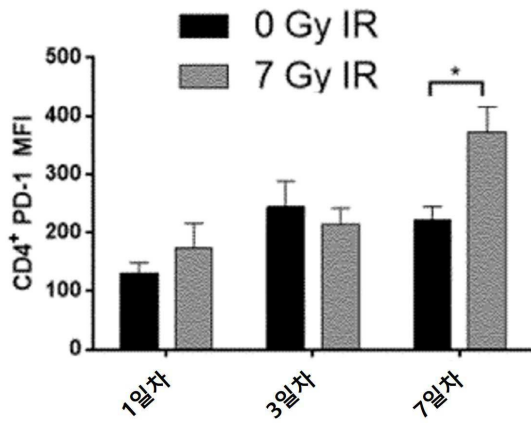
도면5e



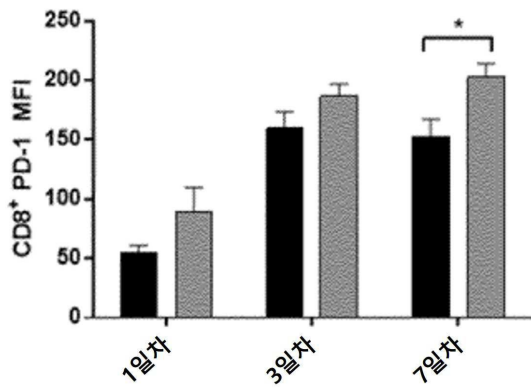
도면5f



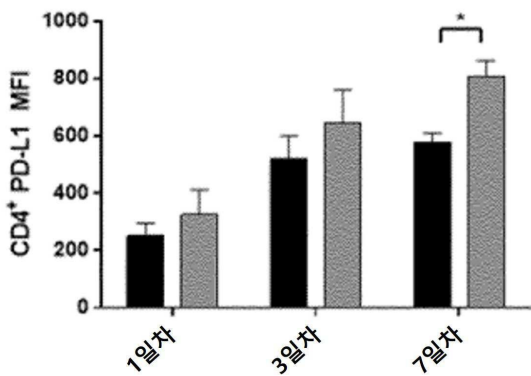
도면6a



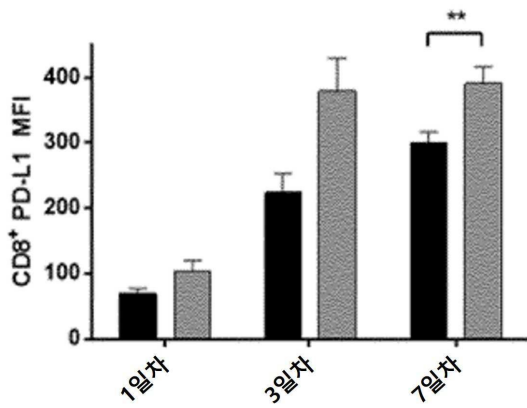
도면6b



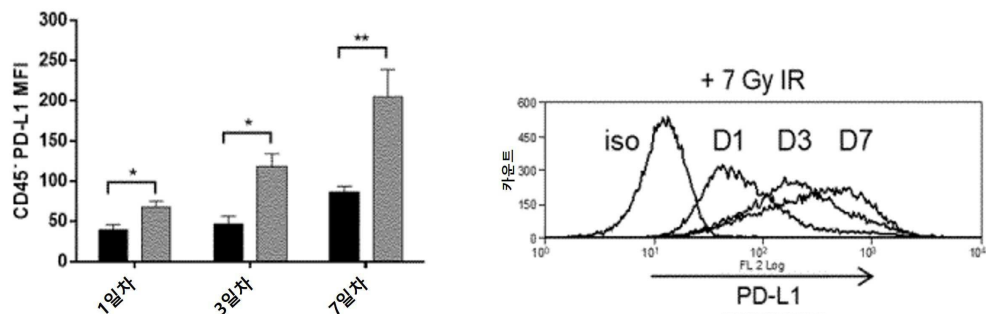
도면6c



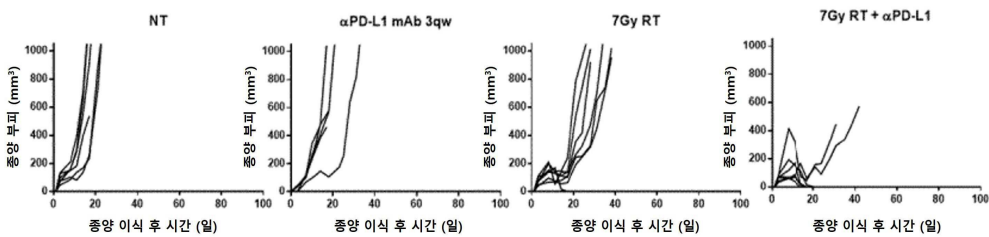
도면6d



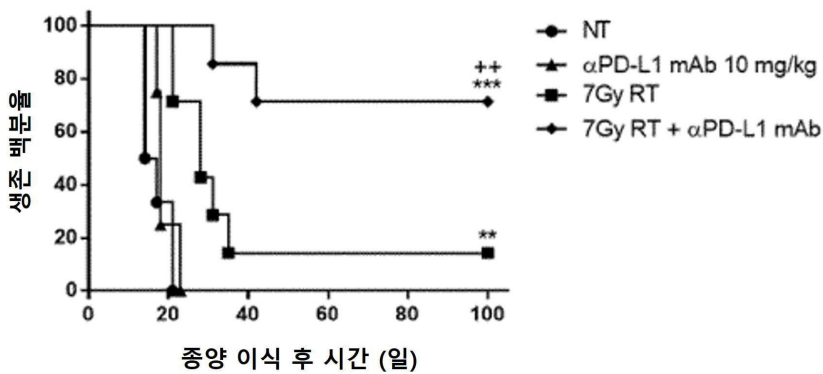
도면6e



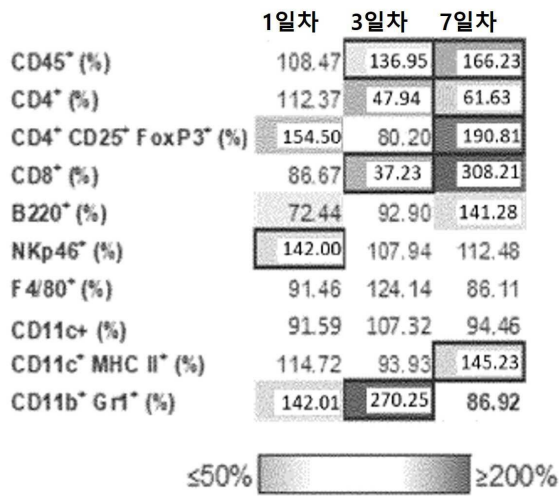
도면6f



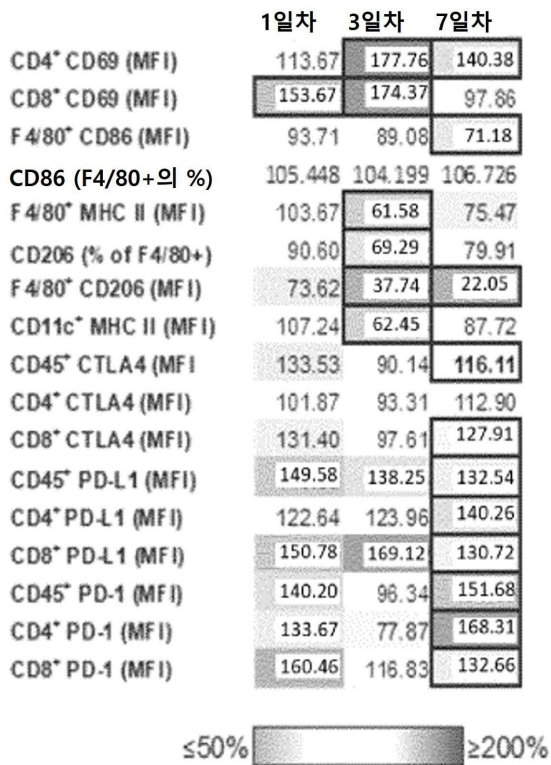
도면6g



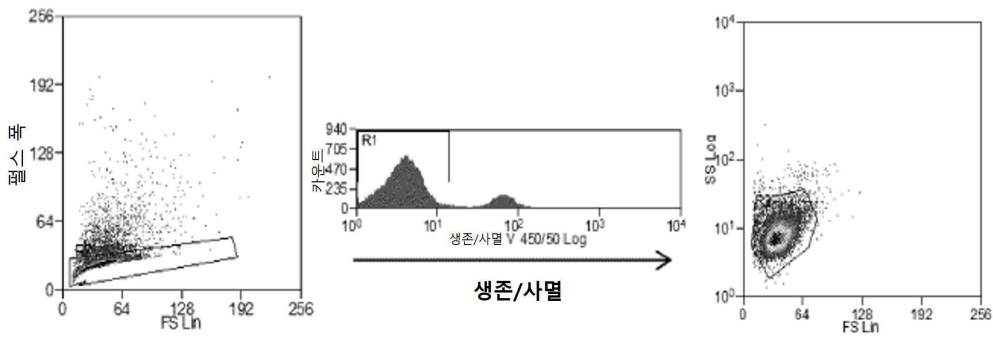
도면7a



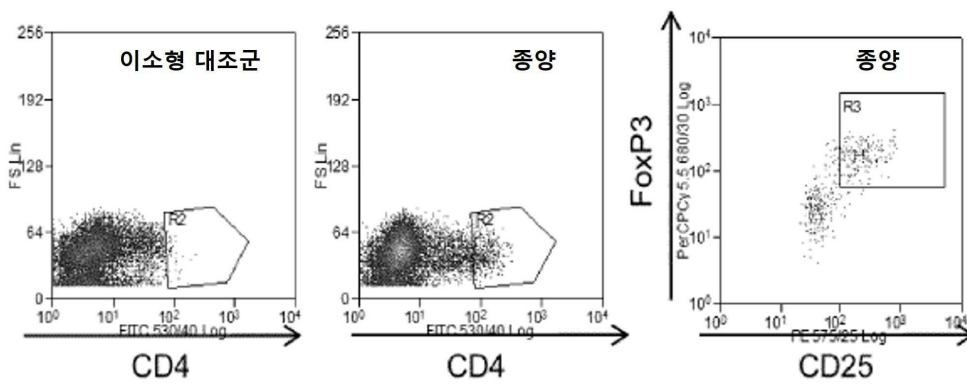
도면7b



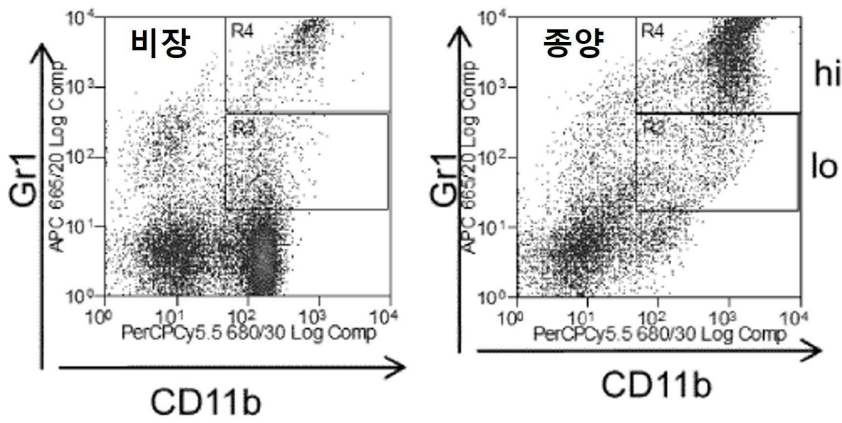
도면8a



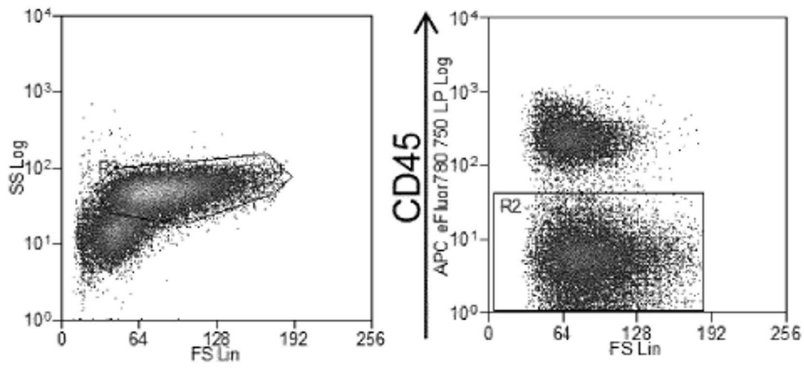
도면8b



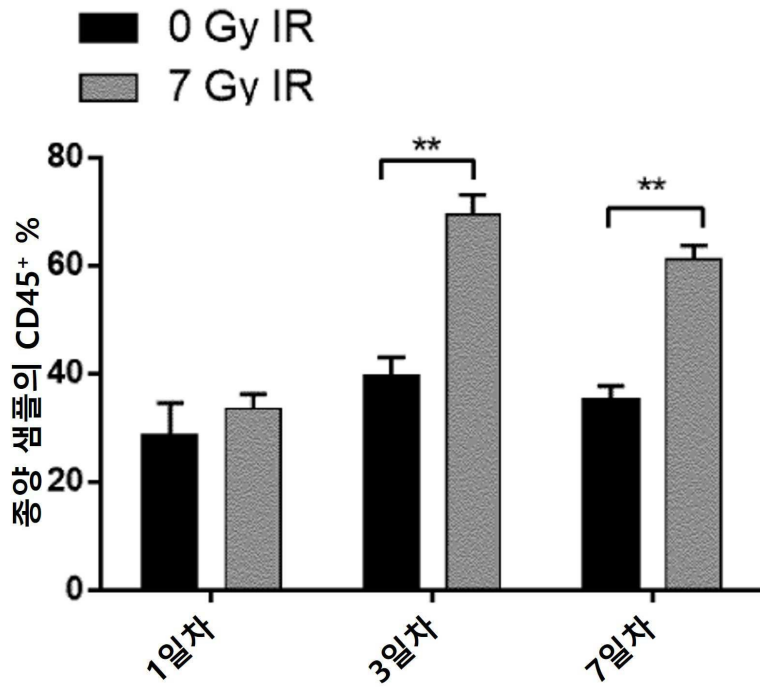
도면8c



도면8d

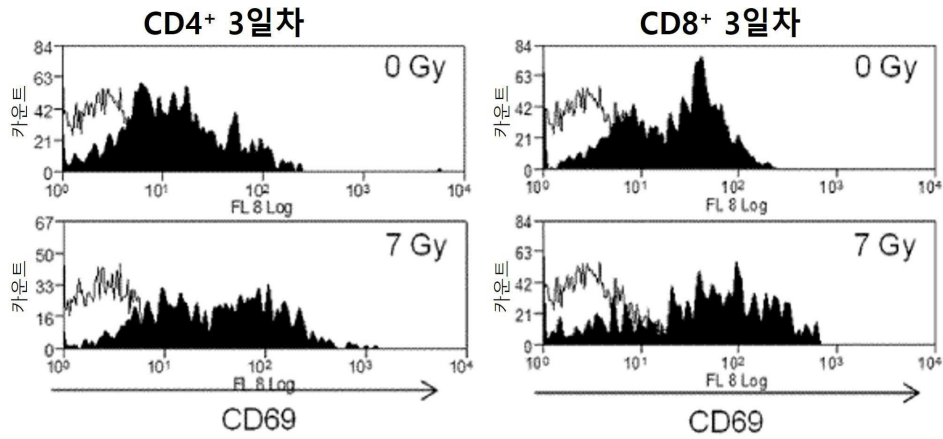


도면9



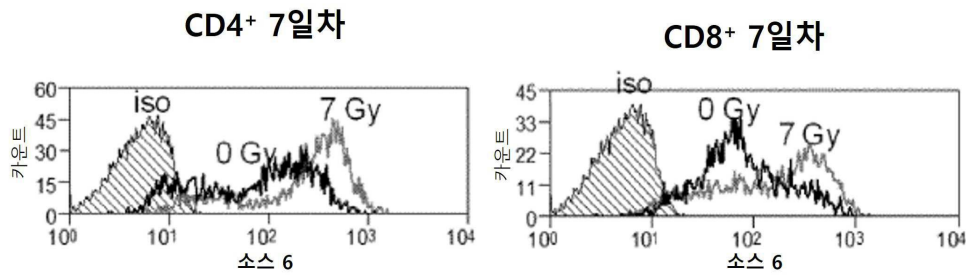
도면10a

### CD69



도면10b

### PD-1



### 서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> ASTRAZENECA AB

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING LUNG CANCER

<130> P72664W0

<150> US 63/192,217

<151> 2021-05-24

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 1

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

<210> 2

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 2

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

85

90

95

Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 3

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser

1

5

10

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 4

Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 5

Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 6

Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1                    5                    10

<210> 7

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 7

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1                    5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 8

Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro Trp Thr

1                    5

<210> 9

<211> 176

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu

1                    5                    10                    15

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys  
 50 55 60

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr  
 65 70 75 80

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr  
 85 90 95

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile  
 100 105 110

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His Leu Val  
 115 120 125

Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr Phe Ile  
 130 135 140

Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys Gly Ile  
 145 150 155 160

Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu Glu Thr  
 165 170 175

<210> 10

<211> 3349

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

ggcgcaacgc tgagcagctg ggcgctcccg cgcggcccca gttctgcgca gtttcccag 60  
 gctccgcacc agccgcgctt ctgtccgcct gcagggcatt ccagaaagat gaggatattt 120  
 gctgtcttta tattcatgac ctactggcat ttgctgaacg cccatacaa caaatcaac 180

caaagaattt tggttgtgga tccagtcacc tctgaacatg aactgacatg tcaggetgag 240  
 ggctacccca aggccgaagt catctggaca agcagtgacc atcaagtcct gagtggtaag 300  
 accaccacca ccaattcaa gagagaggag aagcttttca atgtgaccag cacactgaga 360  
 atcaacacaa caactaatga gattttctac tgcactttta ggagattaga tctgaggaa 420  
 aaccatacag ctgaattggt catcccagaa ctacctctgg cacatcctcc aatgaaagg 480  
 actcacttgg taattctggg agccatetta ttatgccttg gtgtagcact gacattcatc 540  
 ttccgtttaa gaaaaggagg aatgatggat gtgaaaaaat gtggcatcca agatacaaac 600

tcaaagaagc aaagtgatac acatttggag gagacgtaat ccagcattgg aacttctgat 660  
cttcaagcag ggattctcaa cctgtggttt aggggttcat cggggctgag cgtgacaaga 720  
ggaaggaatg ggcccgtggg atgcaggcaa tgtgggactt aaaaggcca agcactgaaa 780  
atggaacctg gcgaaagcag aggaggagaa tgaagaaaga tggagtcaaa caggggacct 840  
ggagggagac cttgatactt tcaaatgcct gaggggtca tcgacgcctg tgacagggag 900  
aaaggatact tctgaacaag gagectccaa gcaaatcacc cattgctcat cctaggaaga 960  
cgggttgaga atccctaatt tgagggtcag ttctgcaga agtgccttt gcctccactc 1020

aatgcctcaa tttgttttct gcatgactga gactctcagt gttggaacgg gacagtattt 1080  
atgtatgagt ttttccatt tattttgagt ctgtgaggtc ttcttgtcat gtgagtgtgg 1140  
ttgtgaatga tttcttttga agatatattg tagtagatgt tacaattttg tcgccaact 1200  
aaacttgctg cttaatgatt tgctcacatc tagtaaaaca tggagtattt gtaaggtgct 1260  
tggctcctc tataactaca agtatacatt ggaagcataa agatcaaacc gttggttgca 1320  
taggatgtca cttttattta acccattaat actctggttg acctaactt attctcagac 1380  
ctcaagtgtc tgtgcagtat ctgttccatt taaatatcag ctttacaatt atgtggtagc 1440

ctacacacat aatctcattt catcgtgta accaccctgt tgtgataacc actattattt 1500  
taccatcgt acagctgagg aagcaaacag attaagtaac ttgcccaaac cagtaaatag 1560  
cagacctcag actgccacc actgtccttt tataatacaa tttacagcta tattttactt 1620  
taagcaattc ttttattcaa aaaccattta ttaagtgcc ttgcaatc aatcgctgtg 1680  
ccaggcattg aatctacaga tgtgagcaag acaaagtacc tgtcctcaag gagctcatag 1740  
tataatgagg agattaacaa gaaaatgtat tattacaatt tagtccagtg tcatagcata 1800  
aggatgatgc gaggggaaaa cccgagcagt gttgccaaga ggaggaaata ggccaatgtg 1860

gtctgggacg gttggatata cttaaacatc ttaataatca gagtaatttt catttacaaa 1920  
gagaggtcgg tacttaaaat aaccctgaaa aataaactg gaattccttt tctagcatta 1980  
tatttatcc tgatttgctt ttgccatata atctaagct tgtttatata gtgtctgta 2040  
ttgtttaaca gttctgtctt ttctatftaa atgccaactaa attttaatt cataccttc 2100  
catgattcaa aatcaaaag atcccatggg agatggttgg aaaatctcca cttcatcctc 2160  
caagccattc aagtttctt tccagaagca actgctactg ctttcatc atatgttctt 2220  
ctaaagatag tctacatttg gaaatgtatg ttaaaagcac gtatttttaa aattttttc 2280

ctaaatagta acacattgta tgtctgctgt gactttgct atttttattt attttagtgt 2340  
ttcttatata gcagatggaa tgaattttaa gttcccaggg ctgaggatcc atgccttctt 2400  
tgtttctaag ttatcttcc catagctttt cattatcttt catatgatcc agtatatgtt 2460

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| aaatatgtcc tacatataca tttagacaac caccatttgt taagtatttg ctctaggaca  | 2520 |
| gagtttggat ttgtttatgt ttgctcaaaa ggagacccat gggctctcca gggcgactg   | 2580 |
| agtcaatcta gtccataaaa gcaatcttat tattaactct gtatgacaga atcatgtctg  | 2640 |
| gaacttttgt tttctgcttt ctgtcaagta taaacttcac tttgatgctg tacttgcaaa  | 2700 |
|                                                                    |      |
| atcacatfff ctttctggaa attccggcag tgtacctga ctgctagcta ccctgtgcca   | 2760 |
| gaaaagcctc attcgttgg cttgaacct tgaatgccac cagctgtcat cactacacag    | 2820 |
| ccctcctaag aggcttctg gaggtttcga gattcagatg ccctgggaga tcccagagtt   | 2880 |
| tcctttccct cttggccata ttctgggtgc aatgacaagg agtaccttgg ctttgccaca  | 2940 |
| tgtcaaggct gaagaaacag tgtctccaac agagctcctt gtgttatctg tttgtacatg  | 3000 |
| tgcatttcta cagtaattgg tgtgacagtg ttctttgtgt gaattacagg caagaattgt  | 3060 |
| ggctgagcaa ggcacatagt ctactcagtc ttttctaag tcttaactcc tccttgtggt   | 3120 |
|                                                                    |      |
| gttggatttg taaggcactt tatccctttt gtctcatggt tcatcgtaa tggcataggc   | 3180 |
| agagatgata cctaattctg catttgattg tcaacttttg tacctgcatt aatttaataa  | 3240 |
| aatattctta tttattttgt tacttgggtac accagcatgt ccattttctt gtttattttg | 3300 |
| tgtttaataa aatgttcagt ttaacatccc agtggagaaa gttaaaaaa              | 3349 |