



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0096936
(43) 공개일자 2019년08월20일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A61K 31/713</i> (2006.01) <i>A61K 39/395</i> (2006.01)
 <i>A61K 45/06</i> (2006.01) <i>A61P 35/00</i> (2006.01)
 <i>A61P 35/04</i> (2006.01) <i>C07K 16/28</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A61K 31/713</i> (2013.01)
 <i>A61K 39/3955</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2019-7010562</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2017년09월15일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2019년04월12일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2017/051742</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2018/053242
 국제공개일자 2018년03월22일</p> <p>(30) 우선권주장
 62/394,845 2016년09월15일 미국(US)
 62/486,738 2017년04월18일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
 이데라 파마슈티칼즈, 인코포레이티드
 미국 매사추세츠 캄브리지 시드니 스트리트 167
 (우: 02139)</p> <p>(72) 발명자
 아그라알 수드르
 미국, 매사추세츠 01545, 슈루즈버리, 램프라이터
 드라이브 61
 왕 다칭
 미국, 매사추세츠 01730, 베드포드, 셀프리지 로
 드 7
 장 웨인
 미국, 매사추세츠 02452, 왈담, 라이먼 테라스 15</p> <p>(74) 대리인
 강명구</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 암 치료를 위하여 TLR9 작용제를 사용한 면역 조정

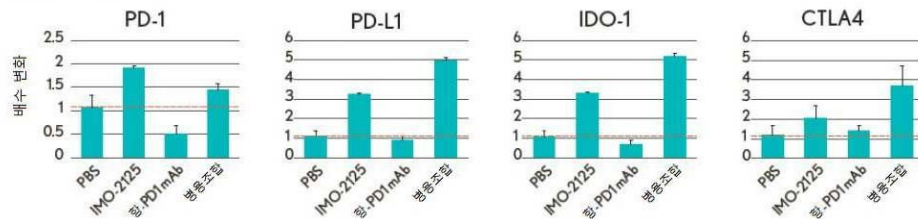
(57) 요약

본 발명은 면역 체크포인트 억제제 요법과 병용된 TLR9 작용제와 함께 전이성 종양을 포함하는 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.

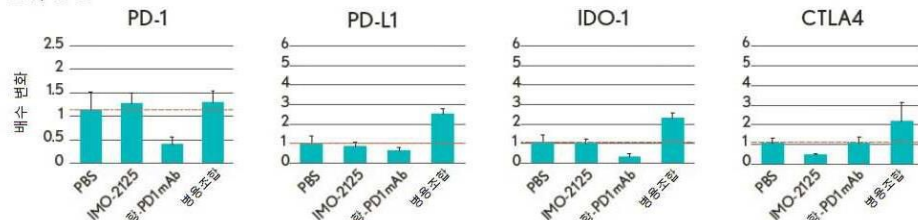
대표도

D.

처리된 종양



원위 종양 (Remote Tumor)



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 35/04 (2018.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

암 환자를 치료하는 방법에 있어서, 올리고뉴클레오티드 TLR9 작용제를 암 환자의 종양내로 투여하고, 그리고 최초 TLR9 작용제 투여 후 1 주일 또는 그 이상부터 환자에게 면역 체크포인트 억제제 요법을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 여기에서 상기 면역 체크포인트 억제제는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG3, TIM3, 및/또는 IDO를 표적으로 하는, 방법.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 여기에서 환자는 PD-1 봉쇄 요법을 사용한 기존 치료에 아무런 반응을 보이지 않았던, 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 여기에서 환자는 이전의 PD-1 봉쇄 요법에 대한 적어도 하나의 면역 관련 이상 반응을 경험했던, 방법.

청구항 5

청구항 3 또는 4에 있어서, 여기에서 기존 PD-1 차단 요법은 니볼루마브 또는 펜브로리주마브를 이용한 요법을 포함하는, 방법.

청구항 6

청구항 1 내지 5중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 상기 암은 원발성 암인, 방법.

청구항 7

청구항 1 내지 5중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 상기 암은 전이성 암인, 방법.

청구항 8

청구항 6 또는 7에 있어서, 여기에서 상기 암은 피부, 결장, 유방 또는 전립선에서 유래된, 방법.

청구항 9

청구항 6 또는 7에 있어서, 여기에서 상기 암은 폐암, 신장암, 전립선암, 자궁경부암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 요로암, 위/GEJ 암, 두경부암, 교모세포종, 메르켈 세포 암, 두경부 편평 세포 암 (HNSCC), 비-소 세포 폐암 (NSCLC), 소세포 폐암 (SCLC), 방광암, 전립선 암 또는 혈액학적 악성 종양이 포함하는, 방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 여기에서 상기 암은 전이성 흑색종인, 방법.

청구항 11

청구항 1 내지 10중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 상기 TLR9 작용제는 IMO-2125인, 방법.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 여기에서 IMO-2125는 투여당(per dose) 약 4 mg 내지 약 64 mg으로 종양내로 투여되는, 방법.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 여기에서 IMO-2125는 투여당 약 4 mg 내지 약 12 mg으로 종양내로 투여되는, 방법.

청구항 14

청구항 11에 있어서, 여기에서 IMO-2125는 투여당 약 8mg으로 종양내로 투여되는, 방법.

청구항 15

청구항 12에 있어서, 여기에서 IMO-2125는 투여당 약 20 mg 내지 약 64 mg으로 투여되는 방법.

청구항 16

청구항 15에 있어서5, 여기에서 여기에서 IMO-2125는 투여당 약 20 mg 내지 약 48 mg으로 투여되는 방법.

청구항 17

청구항 1 내지 6중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 약 3 내지 약 12 투여량의 TLR9 작용제가 투여되는, 방법.

청구항 18

청구항 17에 있어서7, 여기에서 약 4 내지 약 8 투여량의 TLR9 작용제가 10 내지 12 주에 걸쳐 투여되는, 방법.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 여기에서 약 6 투여량의 TLR9 작용제가 10 내지 12 주에 걸쳐 투여되는, 방법.

청구항 20

청구항 18 또는 19에 있어서, 여기에서 치료는 3 주에서 5 주간의 IMO-2125 투여량으로 시작되며, 이어서 선택적으로 약 3 내지 8회 유지 투여량으로 매 3주에 투여되는, 방법.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 여기에서 상기 TLR9 작용제는 IMO-2125이며, 1, 2, 3, 5, 8, 및 11주에 투여되는, 방법.

청구항 22

청구항 1 내지 21중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 환자는 2주 또는 3주차를 시작으로 항-CTLA-4 물질을 제공받는, 방법.

청구항 23

청구항 22에 있어서, 여기에서 상기 항-CTLA-4 물질은 2 내지 6 배, 그리고 임의선택적으로 약 4 배 투여되는, 방법.

청구항 24

청구항 23에 있어서, 여기에서 상기 항-CTLA-4 물질은 매 3주마다 투여되는 방법.

청구항 25

청구항 22 내지 24중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 상기 항-CTLA-4 물질은 이필리무마브인, 방법.

청구항 26

청구항 1 내지 21중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 환자는 2주 또는 3주차를 시작으로 항-PD-1 물질을 제공받는, 방법.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 여기에서 PD-1 물질은 2 내지 6 배, 그리고 임의선택적으로 약 4 배 투여되는, 방법.

청구항 28

청구항 27에 있어서, 여기에서 상기 항-CTLA-4 물질은 매 3주마다 투여되는 방법.

청구항 29

청구항 26 내지 28중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 상기 항-PD-1 물질은 펜브로리주마브 또는 니볼루마브인, 방법.

청구항 30

청구항 1 내지 29중 임의의 한 항에 있어서, 여기에서 상기 면역 체크포인트 억제제 치료는 비경구로, 및 선택적으로 정맥 내 주입, 피하 주사 또는 종양 내 주사에 의해 투여되는, 방법.

청구항 31

전이성 흑색 종을 치료하는 방법에 있어서, 기존에 PD-1 차단 치료에 반응이 없거나 또는 단지 부분적으로 반응하는 것으로 밝혀진 전이성 흑색종 환자에게 IMO-2125를 종양내 투여하고; IMO-2125는 1 주, 2 주, 3 주, 5 주, 8 주 및 11 주에 1 회 투여량 당 4 내지 32 mg의 용량으로 투여되고; 2 주째부터 3 주마다 2에서 4mg/kg의 이필리무마브 또는 펜브로리주마브를 정맥내로 함께 투여하는 것을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

우선권

[0002]

본 출원은 2016년 9월 15일자로 제출된 미국 가출원 번호 62/394,845, 그리고 2017년 4월 18일자로 제출된 미국 가출원 번호 62/486,738을 우선권으로 주장하며, 이들 각 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다.

[0003]

분야

[0004]

본 발명은 종양학 분야 및 암 치료에 있어서의 면역 요법의 사용에 관한 것이다.

배경 기술

[0005]

배경

[0006]

Toll-유사 수용체 (TLRs)는 면역계의 많은 세포에 존재하며, 선천적 면역 반응에 관여한다. 척추 동물에서, 이 패밀리는 박테리아, 진균, 기생충 및 바이러스로부터 병원균-연합된 분자 패턴을 인식하는 TLR1 내지 TLR11이라고 불리는 11 개의 단백질로 구성된다. TLR은 척추 동물이 외래 분자에 대한 면역 반응을 인식하고 탐제하는 핵심 메커니즘이며, 또한 선천적 면역 반응과 적응 면역 반응간을 연계한다. 일부 TLR은 세포 표면에 위치하여 세포 외 병원체에 대한 반응을 검출하고 개시하며, 다른 TLR은 세포 내부에 위치하여 세포 내 병원균에 대한 반응을 검출 및 개시한다.

[0007]

TLR9는 박테리아 DNA와 합성 올리고뉴클레오티드에서 메틸화되지 않은 CpG 모티프를 인식한다. TLR9의 작용제 및 다른 TLR 작용제가 항-종양 면역 반응을 개시 할 수 있지만, TLR 작용제는 또한 효과적인 종양 반응에 역효과일 수 있는 면역 억제 인자를 유도할 수 있다.

[0008]

항종양 반응을 유도하는 암 면역 요법이 필요하며, 전반적인 반응을 개선하기 위해 면역 체계를 생산적으로 유지해야 한다.

[0009]

요약

[0010]

다양한 양태에서, 본 발명은 전이성 흑색종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 면역 체크 포인트 억제제 요법 (immune checkpoint inhibitor therapy), 예를 들면, CTLA-4, PD-1/PD-L1/PD-L2, TIM3, LAG3, 및/또는 IDO를 이용한 면역 요법과 병용하여, 암 환자에게 올리고 뉴클레오티드 TLR9 작용제 (예: IMO-2125 또는 본원에 기술된 다른 면역 자극 올리고뉴클레오티드)를 종양내 투여하는 것을 포함한다. 종양 내 주사시 TLR9 작용제는 IDO1, PDL1, PD1, IDO2, CEACAM1, OX40, TIM3, LAG3, CTLA4 및 OX40L을 포함하

는, 체크포인트 유전자의 발현을 전반으로 증가시킨다. 종양 미세환경에서 면역 신호를 변화시킴으로써, 유전자 발현의 이러한 변화는 일부 구체예에서 완전한 반응을 포함하여 체크포인트 억제제 요법에 대한 반응성을 개선시키는 기회를 제공한다. 본 발명은 또한 항-종양 반응과 저해 신호의 균형을 맞추어, 체크포인트 억제제 요법의 면역-관련 이상 반응 (irAEs)을 최소화 할 수 있는 기회를 제공한다.

[0011] 다양한 구체예들에서, 상기 환자는 CTLA-4, 항-PD-1 또는 항-PD-L1 및/또는 항-PD-L2와 같은 체크포인트 억제제 치료에 이전에 반응하지 않았거나 또는 저항성이 있는 암을 가지고 있다. 본 발명은 다른 조직들 중에서 피부, 결장, 유방 또는 전립선에서 유래된 암을 포함하는 원발성 암 또는 전이성 암을 치료하는 용도로 사용된다. 일부 구체예들에서, 상기 암은 진행성, 국소 진행성 또는 전이성 암종이다. 일부 구체예들에서, 상기 암은 전이성 흑색종이다.

[0012] 본 발명의 구체예에 따르면, 상기 면역자극(immunostimulatory) 올리고뉴클레오티드 (가령, IMO-2125)는 종양내로 투여된다. 종양 내 투여는 종양의 미세환경에서 면역 신호를 변화시켜 효과적인 항-종양 반응을 위하여 면역계를 자극하고, 한편 보다 효과적인 체크포인트 억제제 치료와 양립가능한 변화를 유도한다. 예를 들면, TLR9 작용제 (가령, IMO-2125)는 투여량(dose) 당 약 4 mg 내지 약 64 mg으로 종양 내로 투여될 수 있고, 약 10 내지 12 주에 걸쳐 약 3 내지 약 12 회 투여량으로 투여된다. 예를 들면, 치료는 3 주에서 5 주간의 IMO-2125 투여량으로 시작될 수 있으며, 이어서 선택적으로 약 3 내지 8회 유지 투여량으로 매 3주에 투여된다.

[0013] IMO-2125 (또는 다른 TLR9 작용제) 요법 동안, 하나 또는 그 이상의 체크포인트 억제제 요법을 시행하여 면역신호생성에서 변화의 이점을 얻는다. 일부 구체예들에서, 환자는 항-MTLA-4 약제 (예:이필리무마브 또는 트레멜리무마브) 및/또는 항-PD-1 물질 (예:니볼루마브 또는 펜브로리주마브)를 제공받는다. 일부 구체예들에서, 면역 체크 포인트 억제제는 비경 구적으로, 예를 들면, 피하, 종양 내, 정맥내 투여될 수 있다. 예를 들면, 다양한 구체예들에서, 면역 체크포인트 억제제는 약 1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg의 투여량으로 정맥 내 투여된다. 면역 체크포인트 억제제의 초기 투여량은 최소 TLR9 작용제 투여 후, 적어도 1 주, 예를 들어 약 2, 3 또는 4 주 후에 투여될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 면역요법제는 약 2 내지 약 6 회 (예를 들어, 약 4 회, 바람직하게는 3 주마다) 투여된다.

[0014] 일부 구체예들에서, IMO-2125는 PD-1 차단 치료에 반응이 없거나 부분적으로만 반응하는 전이성 흑색종 환자에게 종양 내 투여된다. 예를 들면, IMO-2125는 i.v.로 3 mg/kg의 이필리무마브와 함께, 1, 2, 3, 5, 8 및 11 주에 1 회 4 내지 32 mg의 투여량으로 투여된다. 이필리무마브는 2 주차부터 시작하여, 3 주마다 투여할 수 있다. 대안으로, 펜브로리주마브는 2 주차부터 시작하여, 3 주마다 2 mg/kg씩 i.v.로 투여할 수 있다.

[0015] 다양한 양태에서, 본 방법은 강력한 항-종양 면역 반응 (어떤 실시 양태에서는 완전한 반응임)을 허용하고, 상당한 부작용없이, 가령, 하나 또는 그 이상의 면역요법이 TLR9 작동제의 부재하에 사용되는 경우, 관찰된 유의적인 부작용이 없었다. 이러한 부작용은 피부, 위장관, 신장, 말초 및 중추 신경계, 간, 림프절, 눈, 철헤장, 그리고 내분비 계통; 뇌하수체염, 결장염, 간염, 폐렴, 발진 및 류마티스 질환 (다른 것들 중에서)를 비롯한 다양한 조직 및 기관에 영향을 미치는 일반적으로 관찰되는 면역-관련 이상 반응을 포함한다.

[0016] 다른 양상들 및 실시예들은 다음의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0017] **도 1**은 CT26.CL25 종양 모델에서 IMO-2125 단일 요법의 종양 성장 감소를 보여준다. 치료된 종양 및 원거리 종양의 종양 체적을 나타낸다.

도 2의 패널 A에서, 도 1에 나타낸 실험의 28 일째의 종양 결절에서의 종양 침윤 림프구를 나타낸다. 확대 x 400. 패널 B에서, FACS 데이터는 IMO-2125 단일 요법 (0.5 mg/kg)으로 CD8⁺ T 세포 종양 침윤을 나타낸다.

도 3은 종양 항원에 대한 특이적인 세포 독성 T 세포 반응을 입증하기 위한 분석법을 보여준다.

도 4의 패널 A에 종양내 IMO-2125 항종양 활성 및 침윤 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포의 관계를 평가하는 연구 설계를 보여준다. 패널 B는 치료 및 원위 종양에서 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포 고갈의 영향을 보여준다.

도 5의 패널 A에서, 종양 내 IMO-2125 치료에 의해 유도된 항종양 반응의 기간 및 특이성을 평가하는 연구 설계를 보여준다. 패널 B는 CT26 또는 A20 및 종양 내 IMO-2125가 재투여된 마우스의 종양 성장을 나타낸다.

도 6은 A20 모델에서 종양 내 및 피하 투여를 비교한 종양 연구를 나타낸다. 패널 A는 연구 설계 및 종양 동력

학을 보여주고, 패널 B는 종양 침윤 림프구 (TILs)의 존재와 다양한 체크포인트 유전자의 유전자 발현 변화를 보여준다.

도 7는 패널 A에서 치료된 종양 및 전신 폐 전이에 있어서 항-CTLA-4 mAb와 조합된 종양 내 IMO-2125의 항 종양 활성을 평가하는 연구 설계를 보여준다. 도 7, 패널 B는 종양 내 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb 단독 또는 조합의 항-종양 효과를 나타낸다.

도 8은 전신 폐전이에 있어서 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb 단독 또는 조합에 대한 항-종양 활성을 나타낸다. 패널 A는 다양한 치료 그룹에서 폐 종양 결절의 수를 나타내며, 패널 B는 다양한 치료 그룹에서 종양의 이미지를 나타낸다 (종양 이식 후 13 일에 찍은 사진).

도 9는 다양한 치료군 (CD3 IHC 착색 x 400)에서 전이성 결절의 TIL을 보여준다.

도 10은 CT26 결장암 종양 모델에서의 항-PD-1 mAb와 조합된 종양 내 IMO-2125의 항종양 활성의 평가를 나타낸다. 패널 A는 연구 설계를 보여준다. 패널 B는 치료 및 말초 부위에서의 종양 성장 동역학에 대한 조합의 영향을 보여준다. 패널 C는 조합이 TILs에 미치는 영향을 보여준다 (배율이 표시됨). 패널 D는 조합 치료 후 치료 및 원위 부위에서 체크포인트 유전자 발현을 보여준다.

도 11은 B16 흑색종 모델에서 치료된 종양 및 전이성 폐 전이에서의 항-PD-1 mAb와 조합된 종양 내 IMO-2125의 항종양 활성의 평가를 나타낸다. 패널 A는 연구 설계를 보여준다. 패널 B는 처리된 부위의 종양 성장 동력에 대한 조합의 영향을 보여준다. 패널 C는 상기 조합이 폐 전이에 미치는 영향을 보여준다. 패널 D는 전이성 폐 종양의 조직 병리학 (원:대형 종양 결절, 화살표:작은 종양 노들, 삽입된 도면: HE 착색된 (x 40), 그리고 큰 도면: CD3 착색된 (x 400)).

도 12 는 치료된 종양 및 전신 폐 전이에 있어서 IDO-1 억제제와 조합된 종양 내 IMO-2125의 항 종양 활성을 평가하는 연구 설계를 보여준다.

도 13은 종양 내 IMO-2125 항-종양 활성이 IDO-1 억제제와의 동시 처리에 의해 강화된다는 것을 보여준다. 패널 A는 각 치료군에서 폐 종양 결절의 수를 나타낸다. 패널 B는 요법 동안 각 치료 그룹의 종양 부피의 변화를 보여준다.

도 14 는 PD-1 유도 요법 (단독 또는 복합 요법)으로 ≥ 12 주 동안 진행되는 절제불가능하거나 전이성 흑색종을 가진 성인의 연구 집단에서 투약 개요를 제공한다.

도 15는 환자 003 (IMO-2125 4mg 용량)에 대한 IMO-2125의 사전-투여 및 투여후 24시간에서 지상 세포 성숙 결과 (패널 A)를 나타내고; 그리고 주사된 종양 및 원위 종양에서 T-세포 활성화 결과를 보여준다(패널 B).

도 16은 원위 병변에서의 상부 세포 클론의 확장 및 환자 003에 대한 IFN- γ 의 유도(4 mg IMO-2125)를 나타낸다.

도 17 은 환자 004 (8 mg 2125)의 치료 전 및 후의 종양 영상을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

다양한 양태에서, 본 발명은 전이성 흑색종을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 면역 체크 포인트 억제제 요법 (immun checkpoint inhibitor therapy), 예를 들면, CTLA-4, PD-1/PD-L1/PD-L2, TIM3, LAG3, 및/또는 IDO를 이용한 면역 요법과 병용하여, 암 환자에게 올리고 뉴클레오티드 TLR9 항진제 (예: IMO-2125 또는 본원에 기술된 다른 면역 자극 올리고뉴클레오티드)를 종양내 투여하는 것을 포함한다.

예시적인 면역 체크포인트 억제제는 항-PD-1, 항-PD-L1, 항-PD-L2, 및 항-CTLA-4 물질을 포함한다. PD-1/PD-L1/PD-L2 항체는 종양 세포 상에서 PD-1과 이의 리간드 (PD-L1 및 PD-L2) 사이의 상호작용을 억제하여, 면역-중재된 종양 파괴를 촉진시킨다. CTLA-4 항체는 CTLA-4에 의해 전달되는 T-세포에 억제 신호를 차단한다. PD-1 항체와 CTLA-4 항체가 다양한 암에 중요한 치료법으로 등장했지만, 많은 환자가 반응하는데 실패했다. 예를 들면, 일부 흑색종 환자는 치료 12 주 후에 항-PD-1 치료 또는 심지어 진행에 대한 반응을 보이지 않는다. 더욱이, 면역 체크포인트 봉쇄는 다양한 면역-관련된 부정적인 사건과 연합되는데, 피부, 위장관, 신장, 말초 및 중추 신경계, 간, 림프절, 눈, 척장, 그리고 내분비 계통; 뇌하수체염, 결장염, 간염, 폐렴, 발진 및 류마티스 질환 (다른 것들 중에서)를 비롯한 다양한 조직 및 기관에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 면역-관련된 부정적인 사건

(irAEs)은 심각하거나 치명적일 수 있으며, 치료를 중단해야 할 수도 있다. 일반적인 irAE의 예로는 뇌하수체염, 대장염, 간염, 폐렴, 발진 및 류마티스 질환이 있다.

- [0021] 면역계의 세포에서 다양한 면역 체크포인트 분자의 발현은 면역 반응이 종양과 싸우기에 효과적인지 아니면, 면역 내성을 일으키는지를 결정하는 복잡한 일련의 사건을 유도한다. 예를 들면, 수지상 세포 (DC)에서 PD-1의 증가된 발현은 항-종양 면역 반응에 대한 중요한 항원 제시 세포인 활성화된 DCs의 세포 사멸을 촉진시킨다. Park SJ, Negative role of inducible PD-1 on survival of activated dendritic cells, *J. Leukocyte Biology* 95(4):621-629 (2014). 더욱이, 흑색종 환자의 말초 혈액에서 IDO, PD-L1 및 CTLA-4의 발현을 억제하고 진행된 질병 및 부정적인 결과와 관련될 수 있고, 서로 연결되어 있으며, 이는 일부 경우에는 치료를 향상시키기 위해 다중 면역 체크포인트가 필요하다는 것을 암시한다. Chevolet I, et al., Characterization of the in vivo immune networks of IDO, tryptophan metabolism, PD-L1, and CTLA-4 in circulating immune cells in melanoma, *Oncoimmunology* 4(3) e982382-7 (2015).
- [0022] 종양 내 주사시 본 원에서 충분히 기술되는 IMO-2125로 알려진 TLR9 작용제는 체크포인트 유전자, 이를 테면, IDO1 (5.3 배), PDL1 (2.6 배), PD1 (2.5 배), IDO2 (5.9 배), CEACAM1 (2.1 배), OX40 (1.4 배), TIM3 (2.9 배), LAG3 (1.9 배), CTLA4 (1.8 배), 및 OX40L (1.5 배)의 발현 증가를 전반적으로 유도한다. 도 6b. 종양 미세 환경에서 면역 신호를 변화시킴으로써, 이러한 유전자 발현의 변화는 체크포인트 억제제 치료에 대한 반응성을 개선하고, 지속적인 항-종양 면역을 달성할 수 있는 기회를 제공한다. 더욱이, 항원 제시 세포 (예를 들어, DCs)의 강력한 활성화 및 IMO-2125로 T 세포의 프라이밍과 관련하여 PD-1 또는 CTLA-4의 보다 강력한 억제 신호로부터 선택된 단일 면역 체크 포인트 분자를 표적함으로써, 본 발명은 또한 항-종양 반응과 저해 신호의 균형을 맞추어, 체크포인트 억제제 요법의 irAEs를 최소화 할 수 있는 기회를 제공한다.
- [0023] 다양한 구체예들에서, 상기 환자는 체크포인트 억제제 치료에 이전에 반응하지 않았거나 또는 저항성이 있는 암을 가지고 있다. 예를 들면, 상기 암은 면역요법, 이를 테면, 항-CTLA-4, 항-PD-1, 또는 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질, 예를 들면, 이필리무마브, 트레멜리무마브, 펜브로리주마브 및 니볼루마브중 하나 또는 그 이상에 불응성 또는 불충분한 반응성일 수 있다. 다양한 구체예들에서, 상기 암 환자는 예를 들면, 이필리무마브, 트레멜리무마브, 펜브로리주마브 및 니볼루마브 (또는 이에 관련된 물질)중 하나 또는 그 이상을 포함하는 항-CTLA-4, 항-PD-1, 또는 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질로 치료하는 동안 또는 치료 후 진행되었거나, 또는 최소한 약 12 주 동안 이러한 치료에 반응을 보이지 않았다.
- [0024] 다른 면역 체크포인트 억제제는 단독으로(가령, ~대신) 또는 그중에서도 항-CTLA4 또는 항-PD-1/항-PD-L1, 이를 테면, IDO (가령, IDO-1 또는 IDO-2)의 억제제, LAG3, TIM3와 조합하여 투여될 수 있다. 이러한 면역 체크포인트 억제제 및 다른 면역 체크포인트 억제제는 본원에서 참고 문헌으로 인용되는 US 2016-0101128에 기술되어 있다. 예를 들면, 상기 환자는 Epacadostat와 같은 IDO-1 억제제 처방을 추가로 받을 수 있다.
- [0025] 다양한 구체예들에서, 상기 암은 원발성 암 또는 전이성 암이다. 원발성 암은 임상적으로 검출될 수 있는 기원 암세포를 말하며, 1 차 종양이 될 수 있다. "전이 (metastasis)"는 원발 부위에서 신체의 다른 부위로 암이 전이되는 것을 의미한다. 암세포는 원발 종양으로부터 빠져 나와 림프관과 혈관에 침투하고, 혈류를 따라 순환하며 신체의 다른 먼 곳의 정상 조직에서 성장(전이)할 수 있다. 전이는 국소 또는 원거리일 수 있다.
- [0026] 암은 임의의 조직에 원점을 가질 수 있다. 암은 피부, 결장, 유방 또는 전립선으로부터 기인할 수 있으며, 따라서 원래 피부, 결장, 유방 또는 전립선이었던 세포로 구성될 수 있다. 암은 혈액학적 악성 종양일 수도 있고, 이는 림프종일 수 있다. 다양한 구체예들에서, 원발성 또는 전이성 암은 폐암, 신장암, 전립선암, 자궁경부암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 요로암, 위/GEJ 암, 두경부암, 교모세포종, 메르켈 세포 암, 두경부 편평 세포 암 (HNSCC), 비-소 세포 폐암 (NSCLC), 소세포 폐암 (SCLC), 방광암, 전립선 암 (예:호르몬-불응성) 및 혈액학적 악성 종양이 포함한다.
- [0027] 일부 구체예들에서, 상기 암은 진행성, 국소 진행성 또는 전이성 암종이다. 일부 구체예들에서, 상기 암은 전이성 흑색종이며, 재발될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 전이성 흑색종은 단계 III 또는 IV이며, 단계 IVA, IVB, 또는 IVC일 수 있다. 전이는 지역적 또는 원위일 수 있다.
- [0028] IMO-2125 및 관련된 면역자극 올리고뉴클레오티드는 TLR9를 표적으로 하고, 종양 미세환경에서 면역 신호를 변화시키고, 항-종양 T 세포 반응을 유도하는 TLR9 작용제로서 작용한다.
- [0029] 다양한 구체예에 따르면, TLR9 작용제는 다수의 접근 가능한 5' 말단을 갖도록 3'말단을 통해 함께 연결된 최소한 2 개의 올리고 뉴클레오티드를 포함한다. 성분 올리고 뉴클레오티드의 3' 말단에서의 연계는 다른 올리고

뉴클레오티드 결합과 독립적이며, 비-뉴클레오티드 링커 또는 뉴클레오티드의 2 '또는 3' 히드록실 위치 중 하나를 이용하여 뉴 클레오티드를 통해 간접적으로 3 '또는 2' 하이드록실 그룹을 통해 직접적으로 존재할 수 있다. 연계는 또한 기능화된 당 또는 3 '말단 뉴클레오티드의 핵 염기를 사용할 수 있다. 예시적인 TLR9 작용제는 각각의 표 1 및 2A-2D를 포함하는, 미국 특허 8,420,615 , 7,566,702, 7,498,425, 7,498,426, 7,405,285, 7,427,405에 기재되어 있으며, 그 전체 내용은 전체적으로 본원에 참고로 인용된다.

- [0030] 다양한 구체예들에서, TLR 작용제는 다음으로부터 선택된다:
- [0031] 5'-TCTGACG₁TTCT-X-TCTTG₁CAGTCT-5' (서열 번호:1)
- [0032] 5'-TCTGTCG₁TTCT-X-TCTTG₁CTGTCT-5' (서열 번호:2)
- [0033] 5'-TCG₁TCG₁TTCTG-X-GTCTTG₁CTG₁CT-5' (서열 번호:3)
- [0034] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-X-G₁CTTG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:4)
- [0035] 5'-CTGTCG₂TTCTC-X-CTCTTG₂CTGTC-5' (서열 번호:5)
- [0036] 5'-CTGTCG₂TTCTCo-X-oCTCTTG₂CTGTC-5' (서열 번호:6)
- [0037] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-X-TCTTG₂CTGTCT-5' (서열 번호:7)
- [0038] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y-GACAG₁CTGTCT-5' (서열 번호:8)
- [0039] 5'-CAGTCG₂TTCAG-X-GACTTG₂CTGAC-5' (서열 번호:9)
- [0040] 5'-CAGTCG₁TTCAG-X-GACTTG₁CTGAC-5' (서열 번호:10)
- [0041] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Z-G₁CTTG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:11)
- [0042] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y₂-TCTTG₁CTGTCTTG₁CT-5' (서열 번호:12)
- [0043] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y₂-TCTTG₁CTGUCT-5' (서열 번호:13)
- [0044] 5'-TCG₁AACG₁ToTCG₁-m-G₁CTToTG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:14)
- [0045] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y₃-GACTTG₂CTGAC-5' (서열 번호:15)
- [0046] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y₄-TGTTG₁CTGTCTTG₁CT-5' (서열 번호:16)
- [0047] 5'-TCG₂TCG₂TTU₁Y-M-YU₁TTG₂CTGCT-5' (서열 번호:17)
- [0048] 5'-CAGTCG₂TTCAG-Y₃-TCTTG₁CTGTCT-5' (서열 번호:18)
- [0049] 5'-TCG₁TACG₁TACG₁-X-G₁CATG₁CATG₁CT-5' (서열 번호:19)
- [0050] 5'-TCG₁AACG₁TTCG-Z-GCTTG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:20)
- [0051] 5'-TCG₁AACG₁TTCG-Y₃-CTTG₂CTGACTTG₁CT-5' (서열 번호:21)
- [0052] 5'-TCG₁AACG₁oTTCG₁-X₂-G₁CTToG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:22)
- [0053] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y₄-CATTG₁CTGTCTTG₁CT-5' (서열 번호:23)
- [0054] 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-m-G₁CTTG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:24)
- [0055] 5'-TCG₁oAACoG₁TTCG₁o-X₂-oG₁oCTTG₁oCAAoG₁oCT-5' (서열 번호:25)
- [0056] 5'-ToCG₁oAACoG₁TTCG₁o-X₂-oG₁oCTTG₁oCAAoG₁CoT-5' (서열 번호:26)

- [0057] 5'-TCoG₁oAACoG₁TTCoG₁o-m-oG₁oCTTG₁oCAAoG₁oCT-5' (서열 번호:27)
- [0058] 5'-TCoG₂oAACoG₂TTCoG₂o-X₂-oG₂oCTTG₂oCAAoG₂oCT-5' (서열 번호:28)
- [0059] 5'-TCoG₁oAACoG₁TTCoGo-Z-oGoCTTG₁oCAAoG₁oCT-5' (서열 번호:29) 그리고
- [0060] 5'-ToCG₁oAACoG₁TTCoGo-Z-oGoCTTG₁oCAAoG₁CoT-5' (서열 번호:30),
- [0061] 여기에서 G₁ 은 2'-데옥시-7-데아자구아노신이며; G₂ 는 2'-데옥시-아라비노구아노신이며; G, C, 또는 U 는 2'-O-메틸리보뉴클레오티드이며; U₁ 은 2'-데옥시-U이며; o는 포스포디에스테르 연계이며; X는 글리세롤 링커이며; X₂ 는 이소부탄에트리올 링커이며, Y는 C3-링커이며; m은 시스,트란스-1,3,5-시클로hex산에트리올 링커이며; Y₂는 1,3-프로판디올 링커이며; Y₃ 은 1,4-부탄디올 링커이며; Y₄ 는 1,5-펜탄디올 링커이며; Z는 1,3,5-펜탄트리올 링커이며; 그리고 M은 시스시스-1,3,5-시클로hex산에트리올 링커이다.
- [0062] 다양한 구체예들에서, TLR9 작용제는 다음으로부터 선택된다: 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-X-G₁CTTG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:4), 5'-CTGTCoG₂TTCTC-X-CTCTTG₂oCTGTC-5' (서열 번호:5), 5'-CTGTCoG₂TTCTCo-X-oCTCTTG₂CTGTC-5' (서열 번호:6), 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y-TCTTG₂CTGTCT-5' (서열 번호:7), 및 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-Y-GACAG₁CTGTCT-5' (서열 번호:8), 여기에서 X는 글리세롤 링커이며, Y는 C3-링커이며, G₁ 은 2'-데옥시-7-데아자구아노신이며, G₂ 는 아라비노구아노신이며, 그리고 o는 포스포디에스테르 연계다.
- [0063] 다양한 구체예들에서, 상기 TLR9 작용제는 5'-TCG₁AACG₁TTCG₁-X-G₁CTTG₁CAAG₁CT-5' (서열 번호:4), 여기에서 X는 글리세롤 링커이며, G₁ 는 2'-데옥시-7-데아자구아노신, 그렇지 않으면 IMO-2125로도 알려짐.
- [0064] 대체 TLR9 작용제는 US 8,871,732에서 기술하고 있는 면역 자극 올리고뉴클레오티드이며, 이는 전문이 본원의 참고자료에 편입된다. 이러한 작용제는 적어도 8 개의 뉴클레오티드 및 적어도 하나의 CG 디뉴클레오티드의 팔린드롬 염기 서열을 포함한다.
- [0065] 본 발명의 구체예에 따르면, 상기 면역자극(immunostimulatory) 올리고뉴클레오티드 (가령, IMO-2125)는 종양내로 투여된다. 일부 구체예들에서, 종양 내 투여는 1 차 또는 2 차 종양에 한다(가령, 전이성 흑색종 병소). 종양 내 투여는 종양의 미세환경에서 면역 신호를 변화시켜 효과적인 항-종양 반응을 위하여 면역계를 자극하고, 한편 보다 효과적인 체크포인트 억제제 치료와 양립가능한 변화를 유도한다.
- [0066] 종양 내 투여에 적합한 예시적인 투여 형태는 용액, 현탁액, 분산액, 유화액 등을 포함한다. TLR9 작용제는 사용 직전에 멸균 주사 가능한 배지에 용해되거나 현탁될 수 있는 멸균 고체 조성물 (예:동결 건조 조성물)의 형태로 제공될 수 있다. 이들은 예를 들어, 당업계에 공지된 현탁제 또는 분산제를 함유 할 수 있다.
- [0067] 다양한 구체예들에서, 상기 TLR9 작용제는 IMO-2125이며, 종양내로 투여당 약 4 mg 내지 약 64 mg으로 투여되며, 또는 일부 구체예들에서 투여당 약 8 mg 내지 약 64 mg, 또는 투여당 약 12 mg 내지 약 64 mg, 또는 투여당 약 16 mg 내지 약 64 mg, 또는 투여당 약 20 mg 내지 약 64 mg으로 투여된다. 일부 구체예들에서, IMO-2125는 투여당 약 20 mg 내지 약 48 mg, 또는 투여당 약 20 mg 내지 약 40 mg으로 투여된다. 예를 들면, 다양한 구체예들에서, IMO-2125는 가령, 종양내로 투여당 약 4 mg, 또는 약 8 mg, 또는 약 12 mg, 또는 약 16 mg, 또는 약 20 mg, 또는 약 24 mg, 또는 약 28 mg, 또는 약 32 mg, 또는 약 36 mg, 또는 약 40 mg, 또는 약 44 mg, 또는 약 48 mg, 또는 약 52 mg, 또는 약 56 mg, 또는 약 60 mg, 또는 약 64 mg 투여된다.
- [0068] 다양한 구체예들에서, 약 3 내지 약 12 투여량의 TLR9 작용제 (가령 IMO-2125)가 투여된다(가령 약 3 투여량, 또는 약 4 투여량, 또는 약 5 투여량, 또는 약 6 투여량, 또는 약 7 투여량, 또는 약 8 투여량, 또는 약 9 투여량, 또는 약 10 투여량, 또는 약 11 투여량, 또는 약 12 투여량). 다양한 구체예들에서, 약 4 내지 약 8 투여량을 10주 내지 12 주에 걸쳐 투여된다. 일부 구체예들에서, 약 6 투여량은 10주 내지 12 주에 걸쳐 투여된다. 일부 구체예들에서, 예를 들면, 치료는 3 주에서 5 주간의 IMO-2125 투여량으로 시작될 수 있으며, 이어서 선택적으로 약 3 내지 8회 유지 투여량으로 매 3주에 투여된다. 일부 구체예들에서, IMO-2125 투여량은 1, 2, 3, 5, 8, 및 11주에 투여된다. 상기 IMO-2125 투여량은 동일한 또는 상이한 병소에 투여될 수 있다.
- [0069] IMO-2125 (또는 다른 TLR9 작용제) 요법 동안, 하나 또는 그 이상의 체크포인트 억제제 요법을 시행하여 면역 신호생성에서 변화의 이점을 얻는다. 하나 또는 그 이상의 체크포인트 억제제는 다른 방법 중에서도 정맥 내,

종양 내 또는 피하를 포함하는 비경구로 투여될 수 있다. 일부 구체예들에서, 상기 환자는 항-CTLA-4 물질을 제공한다. 예를 들면, 상기 항-CTLA-4 물질은 CTLA-4를 표적으로 하는 항체, 예를 들면, 길항 항체다. 다양한 구체예들에서, 상기 항-CTLA-4는 이필리무마브 (가령 YERVOY, BMS-734016, MDX-010, MDX-101)이다. 다양한 구체예들에서, 상기 항-CTLA-4는 트레멜리무마브 (가령 CP-675,206, MEDIMMUNE)이다. 다른 구체예들에서, 상기 면역요법 물질은 항-PD-1 물질이다. 예를 들면, 상기 항-PD-1 물질은 PD-1을 표적으로 하는 항체, 예를 들면, PD-1과 PD-L1 (및/또는 PD-L2) 사이의 상호작용을 억제하는 항체일 수 있다. 다양한 구체예들에서, 상기 항-PD-1 물질은 니볼투마브 (ONO-4538/BMS-936558, MDX1106 또는 OPDIVO)이다. 다양한 구체예들에서, 상기 항-PD-1 물질은 펜브로리주마브 (KEYTRUDA 또는 MK-3475)이다. 다양한 구체예들에서, 상기 항-PD-1 물질은 피달리주마브 (CT-011 또는 MEDIVATION)이다.

- [0070] 일부 구체예들에서, 본 면역요법 물질은 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질이다. 예를 들면, 다양한 구체예들에서, 상기 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질은 PD-L1 및/또는 PD-L2를 표적으로 하는 항체, 예를 들면, PD-1과 PD-L1 및/또는 PD-L2 사이의 상호작용을 억제하는 항체다. 다양한 구체예들에서, 상기 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질은 아테졸리주마브 (TECENTRIQ, ROCHE) BMS 936559 (BRISTOL MYERS SQUIBB), 또는 MPDL3280A (ROCHE)이다.
- [0071] 다양한 구체예들에서, 상기 항-CTLA-4, 항-PD-1, 또는 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질 (가령 YERVOY, OPDIVO, 또는 KEYTRUDA, 또는 이에 필적가능한 물질)은 가령, 정맥내로 약 1 mg/kg, 또는 약 2 mg/kg, 또는 약 3 mg/kg, 또는 약 4 mg/kg, 또는 약 5 mg/kg으로 투여된다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 항-CTLA-4 물질, 가령 YERVOY의 투여량은 약 3 mg/kg이다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 항-PD-1 물질, 가령 OPDIVO의 투여량은 약 3 mg/kg이다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 항-PD-1 물질, 가령 KEYTRUDA의 투여량은 약 2 mg/kg이다. 다양한 구체예들에서, 상기 항-CTLA-4, 항-PD-1, 또는 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질 (가령 YERVOY, OPDIVO, 또는 KEYTRUDA, 또는 이에 필적가능한 물질)의 최초 투여량은 최초 TLR9 작용제 투여량 이후, 최소 1주, 예를 들면 약 2, 3 또는 4주에 투여된다.
- [0072] 일부 구체예들에서, 면역요법 물질은 항-CTLA-4 (가령 YERVOY), 항-PD-1 (가령 OPDIVO or KEYTRUDA), 또는 항-PD-L1 및/또는 항-PD-L2 물질이며, 이는 약 2 내지 약 6 배 (가령 약 2 배, 또는 약 3 배, 또는 약 4 배, 또는 약 5 배, 또는 약 6 배)로 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 면역요법 물질, 가령 항-CTLA-4 (가령 YERVOY), 항-PD-1 (가령 OPDIVO 또는 KEYTRUDA), 또는 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질은 약 4 배 투여된다.
- [0073] 일부 구체예들에서, 상기 면역요법 물질은 항-CTLA-4 물질은 이를 테면 YERVOY이며, 약 매 3 주마다 약 90분에 걸쳐 3 mg/kg i.v.로 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 면역요법 물질은 항-PD-1 물질은 이를 테면 OPDIVO이며, 약 매 2 주마다 약 60분에 걸쳐 3 mg/kg i.v.로 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 면역요법 물질은 항-PD-1 물질은 이를 테면 KEYTRUDA이며, 약 매 3 주마다 약 30분에 걸쳐 2 mg/kg i.v.로 투여된다.
- [0074] 일부 구체예들에서, 항-CTLA-4, 항-PD-1, 또는 항-PD-L1 및/또는 PD-L2 물질 (가령 YERVOY, OPDIVO, 또는 KEYTRUDA, 또는 이에 필적가능한 물질)의 투여와 함께, TLR9 작용제 (가령 IMO-2125)의 유지 투여량은 약 매 3 주마다 투여된다.
- [0075] 다양한 구체예들에서, 본 면역자극 올리고뉴클레오티드는 상기 면역요법의 투여량을 단일요법 투여량의 약 10%, 또는 약 20%, 또는 약 30%, 또는 약 40%, 또는 약 50%, 또는 약 60%, 또는 약 70%, 또는 약 80%, 또는 약 90%, 또는 약 100%로 감소를 허용한다. 예를 들면, 일부 구체예들에서, 면역요법 투여량은 약 0.1 mg/kg, 또는 약 0.3 mg/kg, 또는 약 0.5 mg/kg, 또는 약 0.7 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg, 또는 약 1.5 mg/kg, 또는 약 2 mg/kg, 또는 약 2.5 mg/kg, 또는 약 3 mg/kg이다.
- [0076] 일부 구체예들에서, IMO-2125는 PD-1 차단 치료에 반응이 없거나 부분적으로만 반응하는 전이성 흑색종 환자에게 종양 내 투여된다. IMO-2125는 3 mg/kg의 이필리무마브 i.v. 투여와 함께, 1, 2, 3, 5, 8, 및 11주에 투여당 4 내지 32 mg의 투여량(가령, 약 16 mg, 약 20 mg, 약 24 mg, 약 28 mg, 또는 약 32 mg)으로 투여된다. 이 필리무마브는 2주차에 시작하여 매 3주마다 투여될 수 있다 (가령, 2, 5, 8, 및 11주). 대안으로, 펜브로리주마브는 2 주차부터 시작하여, 3 주마다 2 mg/kg씩 i.v.로 투여할 수 있다. (가령, 2, 5, 8, 및 11주).
- [0077] 일부 구체예들에서, 상기 환자는 EpaCadostat (IDO-1 억제제) 요법을 추가로 받으며, 이것은 일일 2회 25mg 내지 300mg 경구 투여될 수 있다. 처방은 약 5 일 주기 동안 투여될 수 있다. Epcadostat의 첫 투여량은 초기 IMO-2125 (또는 다른 TLR9 작용제) 종양 내 주사 후 약 일주일 후에 시작될 수 있다.
- [0078] 다양한 구체예들에서, 이론에 결부되는 것을 원하지 않지만, 본 발명은 진행성 전이성 질환을 갖는 암 환자를 포함한 암 환자에서보다 균형잡힌 면역 반응을 제공한다. 본원에 기술된 병용 요법은 각각의 단일 요법에서 관

찰되는 결핍을 제거하거나 감소시킬 수 있다. 예를 들면, 다양한 환자가 면역요법에 대해 불응성이거나, 그러한 단일 요법이 광범위한 부작용 프로파일에 의해 방해받는다. 더욱이, 이 분야가 면역요법의 조합(예: YERVOY 및 OPDIVO)으로 이동함에 따라, 그러한 부작용이 더욱 문제가 될 수 있습니다.

[0079] 다양한 구체예들에서, 병용 요법은 수지상 세포의 활성화 및/또는 성숙을 가능하게 하고, 플라즈마사이토이드(plasmacytoid) 수상상 세포를 치료하고, 치료된 종양 및 원거리 종양 모두에서 종양 미세환경(TME)을 조절한다. 예를 들면, 다양한 구체예들에서, 병용 요법은 항-종양 활성을 촉진시키기 위해 TIL 및/또는 CD8⁺ T 세포의 양 또는 품질의 개선을 제공한다. 예를 들면, 프라임된(primed) T 세포는 근위 종양과 원위 종양 모두를 침범하는 것으로 관찰된다. 그러한 프라임된 T 세포는 종양 침윤, 특히 말초 부위(예를 들어, 2차 종양)에 적합하고, 이론에 구속되기를 바라지 않지만, 내성 기전이 감소된 종양 환경에 접하게 된다. 다양한 구체예들에서, 상기 병용 요법은 인터페론(가령 IFN- α)과 다양한 Th1 유형 사이토킨(가령 IFN- γ , IL-2, IL-12, 및 TNF- β)의 자극을 제공한다.

[0080] 본 발명은 다양한 구체예들에서 전이성 암을 포함하여 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 전반적인 숙주 면역 환경이 종양 내성으로부터 벗어나게 하는 방법이다. 예를 들면, 면역 기능 내성 및 억제의 경로를 모두 파괴하고, 종양 퇴행을 가능하게 하는 국소 TIME이 생성된다. 본 방법은 일부 구체예에서, 견고한 면역 반응을 전파할 수 있는 TME를 제공한다.

[0081] 다양한 구체예들에서, 암 환자의 DCs는 미성숙되고, 항원을 취입, 처리 또는 제시할 수 없다. 이 DC는 또한 지역 림프절로의 이동을 억제하거나, 특히 자기 항원 제시의 경우 내성을 유발할 수 있다. 상기 암 환자의 종양 부위는 또한 항원 자극된 T 세포의 억제를 중재할 수 있는 조절 T 세포로 침윤될 수 있다. 헬퍼 CD4 T 세포 반응은 또한 Th1 T 세포의 개시 및 효과적인 세포 면역을 억제하는 Th2 표현형으로 왜곡될 수도 있다. 종양 세포는 비정상적인 MHC 클래스 I 분자 또는 β 2-미크로 글로불린을 발현할 수 있어 부적절한 항원 제시를 초래하여 작동체(effector) T 세포에 의한 종양의 비효율적인 인식을 초래할 수 있다. 마지막으로, 종양 세포 및 주위 기질은 IL-6, IL-10 및 TGF- β 와 같은 다수의 억제성 사이토킨을 방출할 수 있다. 이것은 종양 세포가 빠져 나가는 것을 허용하여, 국소 면역에 도움이 되지 않는 환경을 만든다. 다양한 구체예들에서, 본 방법은 종양에 대한 국부적 면역에 도움이 되는 환경, 예를 들어, DC의 성숙 및/또는 조절 T 세포 및 Th2 CD4 T 세포의 감소 없이는, 그러나 이에 국한되지 않는 환경을 허용한다.

[0082] 일부 구체예들에서, 본 발명에 따른 병용 요법은 종양의 면역 공격에 유리하게 면역 세포의 균형을 변화시킨다. 일부 구체예들에서, 예를 들어, 본 방법은 임상적으로 중요한 부위, 가령 물질의 투여 부위 또는 원위 부위에서 종양을 사멸 및/또는 억제시킬 수 있는 세포(가령 T 세포, 세포독성 T 림프구, T 헬퍼 세포, 천연 킬러(NK) 세포, 천연 킬러 T(NKT) 세포, 항-종양 대식세포(가령 M1 대식세포), B 세포, 수지상 세포, 또는 이의 하위부류)에 유리하게, 그리고 종양을 보호하는 세포(가령 골수-파생된 억제자 세포(MDSCs), 조절 T 세포(Tregs); 종양 연합된 호중구(TANs), M2 대식세포, 종양 연합된 대식세포(TAMs), 또는 이의 하위부류)에 불리하도록 면역 세포의 비율을 변동시킨다. 일부 구체예들에서, 본 방법은 조절 T 세포에 대한 작동체 T 세포의 비율을 증가시킨다. 다양한 구체예들에서, 면역 세포의 이러한 변화된 균형은 국소/근위 및/또는 전신/원위부에 영향을 미친다. 다양한 구체예들에서, 면역 세포의 이러한 변화된 균형은 TIME에서 영향을 받는다.

[0083] 더욱이, 다양한 구체예들에서, 본 방법은 하나 또는 그 이상의 면역 요법이 TLR9 작용제의 부재 하에 사용되는 경우 관찰된 부작용과 관련하여 현저한 부작용(가령, irAEs)을 낳지 않으면서 강력한 항-종양 면역 반응을 가능하게 한다.

[0084] 예를 들면, 상기 병용 요법은 면역요법, 가령 항-CTLA-4, 항-PD-1, 또는 항-PD-L1 및/또는 예를 들면, YERVOY, OPDIVO, 및 KEYTRUDA 또는 이에 관련된 물질중 하나 또는 그 이상을 포함하는, PD-L2 물질의 면역요법의 하나 또는 그 이상의 부작용을 감소시킨다. 부작용으로는 피로, 기침, 메스꺼움, 식욕 상실, 피부 발진, 가려움증, 발진, 및 결장염을 포함한다. 일부 구체예들에서, 부작용은 창자에서 천공을 일으킬 수 있는 장 질환(예:결장염)이다. 결장염의 징후와 증상은 다음과 같습니다: 설사 또는 평소보다 많은 장운동; 혈변 또는 짙은, 타르, 끈적이는 변; 및 복통 또는 압통. 일부 구체예들에서, 부작용은 간 기능 장애를 일으킬 수 있는 간 문제(예:간염)이다. 간염의 징후와 증상에는 다음과 같은 것들이 포함될 수 있다: 피부의 황변 또는 눈의 백색; 짙은 색의 소변; 메스꺼움 또는 구토; 위 오른쪽에 통증; 일반적인 것보다 더 쉬운 출혈이나 멍듦. 일부 구체예들에서, 부작용은 심각한 피부 반응을 일으킬 수 있는 피부 문제다. 심한 피부 반응의 징후와 증상에는 다음이 포함될 수 있다: 가려움증이 있거나 없으면서 피부 발진; 입에 염증; 피부가 물집이 생기거나 껍질이 벗겨짐. 일부 구체예들에서, 부작용은 마비로 이어질 수 있는 신경 문제다. 신경 문제의 증상은 다리, 팔 또는 얼굴의 비정상

적인 허약함; 손발에 무감각이나 저린 감을 포함할 수 있다. 일부 구체예들에서, 부작용은 호르몬 선 문제 (뇌하수체, 부신 및 갑상선샘)다. 징후와 증상은 다음과 같다: 지속적인거나 비정상적인 두통; 비정상적인 경직감; 항상 추위를 느낌; 체중 증가; 성욕 감소, 과민성 또는 건망증과 같은 기분이나 행동의 변화; 그리고 현기증이나 졸도. 일부 구체예들에서, 부작용은 안과 질환이다. 증상으로는 흐릿한 시력, 이중 시력 또는 기타 시력 문제: 그리고 눈 통증이나 발적이 포함될 수 있다.

[0085] 일부 구체예들에서, 환자는 본 발명에 따라 결장염, 크론 병 또는 다른 GI 관련 irAE의 발병이 더 적게 경험한다.

[0086] 일부 구체예들에서, 환자는 (예를 들어, 단독 요법과 비교하여) 더 긴 무-진행 기간 또는 더 긴 생존을 달성하거나, 또는 일부 구체예에서는 증상 완화 또는 완전한 반응을 달성한다. 완전한 반응은 치료에 대한 반응으로 암의 모든 징후가 사라지는 것을 의미한다.

[0087] 본 발명은 하기 비-제한적인 실시예에 의해 추가로 설명된다.

[0088] **실시예**

[0089] 실시예 1: 면역자극 올리고뉴클레오티드(IMO-2125)의 항-종양 효과

[0090] 이뮤노머(Immunomers)는 당해 분야에 공지된 바와 같이 합성되었다 (예를 들어, 국제 특허 공개 공보 WO 2016/057898, 실시예 1 및 도 1과 2를 포함하여 전체 내용이 본원에 참고로 인용 됨).

[0091] BALB/c 마우스 (그룹당 n=8)의 우측 옆구리에 2×10^6 CT26.WT 세포 (종양 1) 그리고 좌측 옆구리에 2×10^6 CT26.CL25 세포(종양 2)를 s.c.로 이식하였다. 5일차에 우측 옆구리의 종양 부피가 50-150 mm³에 이르면 치료를 시작했다.

[0092] 시험 화합물은 오직 5 일, 8 일, 11 일 및 14 일에 우측 종양 결절 (종양 1)의 종양 내 (i.t.) 주사 (100 μl)에 의해 투여되었다. 종양 결절을 28 일째에 수집하였다. 텍스트 화합물은 대조군 DNA, IMO-2125:0.5 mg/kg, IMO-2125: 2.5 mg/kg, 및 IMO-2125: 5 mg/kg이었다. 도 1에 도시된 바와 같이, 종양 내 IMO-2125 치료는 치료된 종양과 원위 종양에서 종양 부피를 용량-의존적으로 감소시켰다. 도 2는 종양 이식 후 28 일째에 수집된 종양 결절을 나타낸다. CD3⁺ T 림프구 표면 표식에 대한 면역조직화학 염색. CD3⁺ 세포는 갈색으로 착색되었다. 위약-투여된 마우스의 정상 조직과 경계를 이루는 종양 조직 내부에 CD3⁺ 세포가 거의 나타나지 않는 반면, IMO-2125 2.5 mg/kg으로 처리한 마우스의 종양 조직에 많은 수의 CD3⁺ 세포가 나타났다. 결과를 도 2에 패널 A에 나타내었는데, 여기에서는 항종양 활성은 종양 침윤 림프구 (TIL)의 유도과 관련이 있다. **도 2** 패널 B는 종양내 IMO-2125 치료는 종양 안의 CD8⁺ T 세포 침윤을 증가시킨다는 것을 보여준다.

[0093] 더욱이, 위약-및 IMO-2125 (2.5 mg/kg)-처리된 종양-보유 마우스 (n = 3)의 비장의 T 세포를 28일차에 수거하였다. IFN-분비하는 ELISPOT은 CT26.WT 및 CT26.CL25에서 제시되는 종양 내부 항원 AH1 및 CT26.CL25에만 제시된 β-gal에 대해 특이적인 T 세포를 측정하는데 사용되었다. **도 3**은 종양 내 IMO-2125 치료가 종양 항원에 대한 특이적 세포 독성 T 세포 반응을 유발한다는 것을 보여준다. **도 4**에서, 치료된 종양 및 원위 종양에서 CD8⁺ T 세포의 주요 역할이 입증되었다.

[0094] **도 5**는 종양 내 IMO-2125 유도된 지속적이고, 종양 특이적 면역 기억을 입증하는 연구를 나타낸다. IMO-2125 (5 mg/kg, i.t.) 치료 후 종양이 완전하게 또는 부분적으로 퇴행된(<150 mm³) 6마리의 종양-보유 마우스 (9마리중 6 마리)와 8 마리의 순수(**naive**) BALB/c 마우스 (n = 8)의 복부 우측 및 좌측 옆구리에 33일차에 s.c. 주사를 통하여 1×10^6 CT26 세포로 다시 공격하였다. 동일한 방법으로 접종된 순수 BALB/c 마우스를 종양 성장 대조군으로 사용하였다. CT26 종양 세포 재도전을 거부 (6 마리 중 5 마리)를 거부한 마우스의 상부 등에 73 일째 동종의 비-기관-관련 B 세포 림프종 A20 세포 (s.c)로 접종하였다. **도 5**, 패널 A 플랜 참고. 결과는 **도 5**, 패널 B에 나타낸다.

[0095] **도 6**에서, 종양 내 IMO-2125를 비교한 연구는 A20 림프종 모델의 항종양 활성에 의해 입증된 바와 같이, 전신 (s.c.) 치료보다 효과적이다. BALB/c 마우스 (n = 10)의 우측 및 좌측 옆구리에 s.c.로 3×10^6 A20 세포를 이식하였다. 치료는 8 일째에 좌측 옆구리에 종양내로 2.5 mg/kg IMO-2125의 주입으로 시작되었다. IMO-2125는 8, 10, 12, 14 일에 투여되었다. 위약 (PBS) 대조군 및 IMO-2125 처리된 종양 보유 마우스의 샘플을 종양 이식 후

21 일에 수집하였다. 패널 A는 연구 설계 및 종양 동력학을 보여준다. 패널 A에서, 피하 투여의 종양 동력학은 대조군보다 약간 양호한 반면, 종양 내 투여는 종양 성장을 현저히 지연시킨다. 패널 B는 TIL의 존재 및 다양한 체크포인트 유전자의 유전자 발현 변화를 나타낸다. 중요한 것은, IMO-2125는 종양 TIL을 증가시키고, 종양 체크 포인트 발현을 조절함으로써 하나 또는 그 이상의 체크 포인트 억제제와의 조합에 대하여 TME를 민감하게 하였다.

[0096] 실시예 2: IMO-2125 및 항-CTLA-4 항체의 병용 요법의 항-종양 효과

[0097] 도 7은 치료된 종양 및 전신 폐 전이에서의 항-CTLA-4 mAb와 조합된 종양 내 IMO-2125의 항-종양 활성의 평가를 나타낸다. 연구 기획은 도 7, 패널 A에 나타내고, 결과는 도 7, 패널 B에 나타낸다.

[0098] BALB/c 마우스의 우측 옆구리에 s.c.로 2×10^7 CT26 세포를 이식하였다. 그 다음 이 마우스에서 폐 전이를 확립하기 위하여 3×10^6 CT26 세포를 i.v.로 주사하였다. 5일차에 2.5 mg/kg의 IMO-2125를 우측 옆구리의 CT26 고형 종양에 종양 내 투여하고, 복막 내 (i.p.) 주사에 의해 10 mg/kg 항-CTLA-4 mAb를 투여하였다. 5, 6, 8 및 9 일차에 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb를 단독으로 투여하거나, 또는 동시-투여하였다. PBS 대조군, IMO-4, 항-CTLA-4 mAb 또는 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb 처리된 종양 보유 마우스의 비장으로부터의 폐 및 T 세포를 수집하였다.

[0099] 종양내 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb의 조합은 두 종종 어느 하나의 약제 단독 요법에 비교하여 치료된 종양에서 성장 억제가 개선되었다.

[0100] 도 8은 전신 폐전이에 있어서 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb 단독 또는 조합에 대한 항-종양 활성을 나타낸다.

[0101] 도 9는 종양 내 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb 조합이 전이성 결절에서 TIL을 증가시키는 것을 보여준다.

[0102] 종양내 IMO-2125 및 항-CTLA-4 mAb의 조합은 종양 성장 억제, 전신성 폐 전이 퇴행 및 각 요법 단독 요법에 비해 TILs 침윤의 개선을 가져왔다. 그 결과는 직접 치료된 종양 및 전신 폐 전이에서 관찰되었다.

[0103] 실시예 3: IMO-2125 및 항-PD-1 항체의 병용 요법의 항-종양 효과

[0104] 도 10은 CT26 결장암 종양 모델에서의 항-PD-1 mAb와 조합된 종양 내 IMO-2125의 항종양 활성의 평가를 나타낸다. 패널 A는 연구 설계를 보여준다. BALB/c 마우스 (그룹당 n=8)의 우측 옆구리(종양 1) 및 좌측 옆구리(종양 2) 1×10^7 CT26.WT뮤린 결장 종양 CT26 세포를 s.c.로 이식하였다. 7일차에 종양 부피가 200-300 mm³에 이르면 치료를 시작했다. 2.5 mg/kg의 IMO-2125 (100 µL PBS 중의 50 µg)를 우측 종양 결절에 i.t 주사하고, 항-PD-1 mAb (10 mg/kg, 200 µg/ 마우스)를 i.p.를 통하여, 7 일, 8 일, 11 일 및 12 일차에 총 4회 단독으로, 또는 공동-투여되었다. 종양 결절을 14 일째에 수집하였다. 종양 성장 억제, TIL 및 체크 포인트 유전자 발현을 21 일차에 평가하였다. 도 10, 패널 B는 치료 및 말초 부위에서의 종양 성장 동역학에 대한 조합의 영향을 보여준다. IMO-2125와 항 PD-1의 병용 요법은 단일 요법보다 원위부 부위에서 우수한 치료 성장 억제를 나타냈다. 패널 C는 조합이 TIL에 미치는 영향을 보여주는데, 종양 내 IMO-2125와 항 PD-1 mAb 조합은 TIL을 증가시켰다. PBS 대조군은 약간의 T 세포 (갈색)를 보였다; IMO-2125 그룹은 많은 수의 T 세포를 보였다; PD-1 mAb 군은 PBS 치료군 보다 약간 증가된 T 세포를 보였다; 조합 군은 IMO-2125 치료군 보다 많은 양의 T 세포를 보였다 (확대: 상부 열 x 100, 중간 열 x 200, 하부 열 x 400). 패널 D는 IMO-2125 및 항-PD-1의 조합 치료 후 치료 및 원위 부위에서 체크포인트 유전자 발현을 보여준다.

[0105] IMO-2124와 항-PD-1은 치료 된 종양과 전신 폐 전이에서 검사되었다. 도 11 참고.

[0106] C57BL/6 마우스 (n=10)의 우측 옆구리에 s.c.로 1×10^7 B 16.F 10 세포가 이식되었다 (종양 1). 그 다음 이 마우스에서 폐 전이를 확립하기 위하여 i.v.로 2×10^6 B16.F10 세포(종양 2)가 주입되었다. 5일차에 5 mg/kg의 IMO-2125를 우측 옆구리의 B16 고형 종양에 종양 내 투여하고, 복막 내 (i.p.) 주사에 의해 15 mg/kg 항-PD-1 mAb를 투여하였다. 5, 6, 8 및 9 일차에 IMO-2125 및 항-PD-1 mAb를 단독으로 투여하거나, 또는 동시-투여하였다. 대조군, IMO-2125, 항-PD-1 mAb 또는 IMO-2125 및 항-PD-1 mAb 처리된 종양-보유 마우스로부터 시료를 수집하였다. 도 11, 패널 A는 연구 설계를 보여준다.

[0107] 도 11, 패널 B는 처리된 부위의 종양 성장 동력에 대한 조합의 영향을 보여준다.

[0108] 도 11, 패널 C는 상기 조합이 폐 전이에 미치는 영향을 보여준다. 항-PD-1 단클론 항체와 함께 IMO-2125의 종양

내 주사는 전파된 폐 전이에 대한 강력한 전신 면역 반응을 유도했다.

[0109] **도 11**, 패널 D는 전이성 폐 종양의 조직 병리학 (원:대형 종양 결절, 화살표:작은 종양 노들, 삽입된 도면: HE 착색된 (x 40), 그리고 큰 도면: CD3 착색된 (x 400)). 종양 내 IMO-2125 및 항-PD-1 mAb 병용 치료는 폐 종양 전이 (삽입 도면 및 큰 도면) 감소 및 TIL (큰 도면) 증가로 이어졌다.

[0110] 종양 내 IMO-2125와 항-PD-1 항체의 병용 요법은 어느 것이던 단독 요법보다 강력한 항종양 활성을 보였다. 항종양 활성은 치료된 종양 뿐만 아니라 원위 종양에서도 관찰되었다. TILs의 침윤 수준은 치료된 종양과 원위 종양 모두에서 증가했다. 전임상 모델에서 IMO-2125는 치료된 종양과 원위 종양에서 PD-L1 및 다른 체크포인트 발현을 증가시켰다.

[0111] 실시예 4: IMO-2125 및 IDO-1 억제제의 병용 요법의 항-종양 효과

[0112] **도 12** 는 마우스 모델에서 치료된 종양 및 전신 폐 전이에 있어서 IDO-1 억제제와 조합된 종양 내 IMO-2125의 항 종양 활성을 평가하는 연구 설계를 보여준다. 고행 종양과 폐 전이는 0일차 (고행 종양, 1×10^7 CT26, s.c., 우측 옆구리; 폐 전이, 3×10^6 CT26 i.v.), 그리고 4, 5, 7, 및 8일차에 IMO-2125가 종양내로 (2.5 mg/kg) 제공되었다. IDO-1 억제제는 4, 5, 7, 및 8일차에 2회 (75 mg/kg i.g.) 투여되었다.

[0113] **도 13**은 종양 내 IMO-2125 항-종양 활성이 IDO-1 억제제와의 동시 처리에 의해 강화된다는 것을 보여준다. 패널 A는 각 치료군에서 폐 종양 결절의 수를 나타내는데, 각각의 약제 단독에 비해 IMO-2125 및 IDO-1 억제제의 개선을 보여준다. 패널 B는 요법 동안 각 치료 그룹의 종양 부피의 변화를 보여준다.

[0114] 실시예 5: ≥ 12 주 동안 진행된 PD-1 지향된 요법 (단독 또는 병용)으로 진행된 절제불가능하거나 전이성 흑색종을 가진 성인 집단 연구

[0115] **도 14** 는 PD-1 유도 요법 (단독 또는 복합 요법)으로 ≥ 12 주 동안 진행되는 절제불가능하거나 전이성 흑색종을 가진 성인의 연구 집단에서 투약 개요를 제공한다. IMO-2125는 1주 및 3주차에 단독으로 종양내로 투여된다. IMO-2125는 2, 5, 8, 및 11주차에 이필리무마브 또는 펜브로리주마브와 함께 투여된다. 펜브로리주마브의 투여는 진행될 때까지 매 3 주마다 계속된다.

[0116] **도 15**는 환자 003 (IMO-2125 4mg 용량; 이필리무마브)에 대한 IMO-2125의 사전-투여 및 투여후 24시간에서 지상 세포 성숙 결과(CD1c, CD303, 및 HLA-DR 발현) (패널 A)를 나타내고; 그리고 주사된 종양 및 원위 종양에서 T-세포 활성화 결과를 보여준다(패널 B).

[0117] **도 16**은 원위 병변에서의 상부 세포 클론의 확장을 보여주며, 비-반응 환자와 반응 환자 (환자 003, 4 mg IMO-2125, 이필리무마브)를 비교한다. 최고 우측 패널은 환자 003의 IFN- γ 유도를 보여준다.

[0118] **도 17**은 환자 004 (8 mg 2125, 3mg 이필리무마브)의 치료 전 및 후의 종양 영상을 나타낸다. 약 5 주간의 치료 후에는 주사 및 원위 병변이 보이지 않는다.

[0119] **등가물(EQUIVALENTS)**

[0120] 본 발명은 본 명세서의 특정 구체예들과 연계되어 설명되지만, 추가 변형이 가능하며, 본 출원은 일반적으로 본 발명의 원리에 따라 발명의 임의의 변형, 사용 또는 채택을 포괄하도록 의도되며, 본 발명으로부터 이러한 벗어난 본 발명이 속하는 분야내 공지 또는 관습적 실행 범위 안에 있고, 그리고 본 명세서에서 앞서 제공된, 그리고 다음의 청구범위 안에 있는 필수 특징에 적용될 수 있기 때문에 이러한 것들을 포함하는 것으로 의도된다.

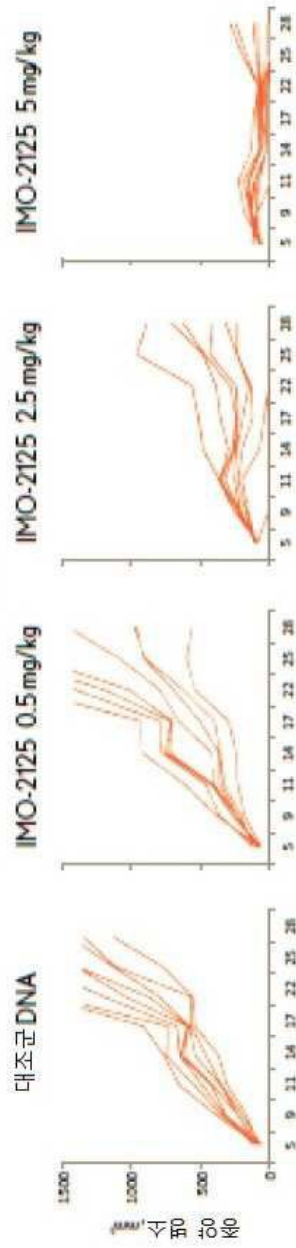
[0121] 당업계 숙련자는 일반적인 실험을 통하여 본 명세서에서 구체적으로 설명된 특정 구체예들에 대등한 다수의 등가물을 인지하거나 또는 알아낼 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 다음의 청구범위에 포괄된다.

[0122] **참고자료의 편입**

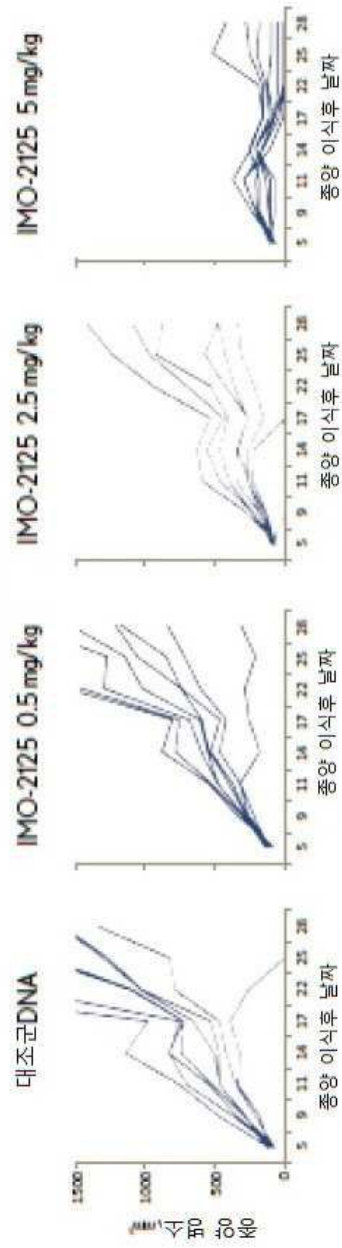
[0123] 본 명세서에 언급된 모든 특허 및 간행물은 본원에 참고로 인용되어 있다.

도면
도면1

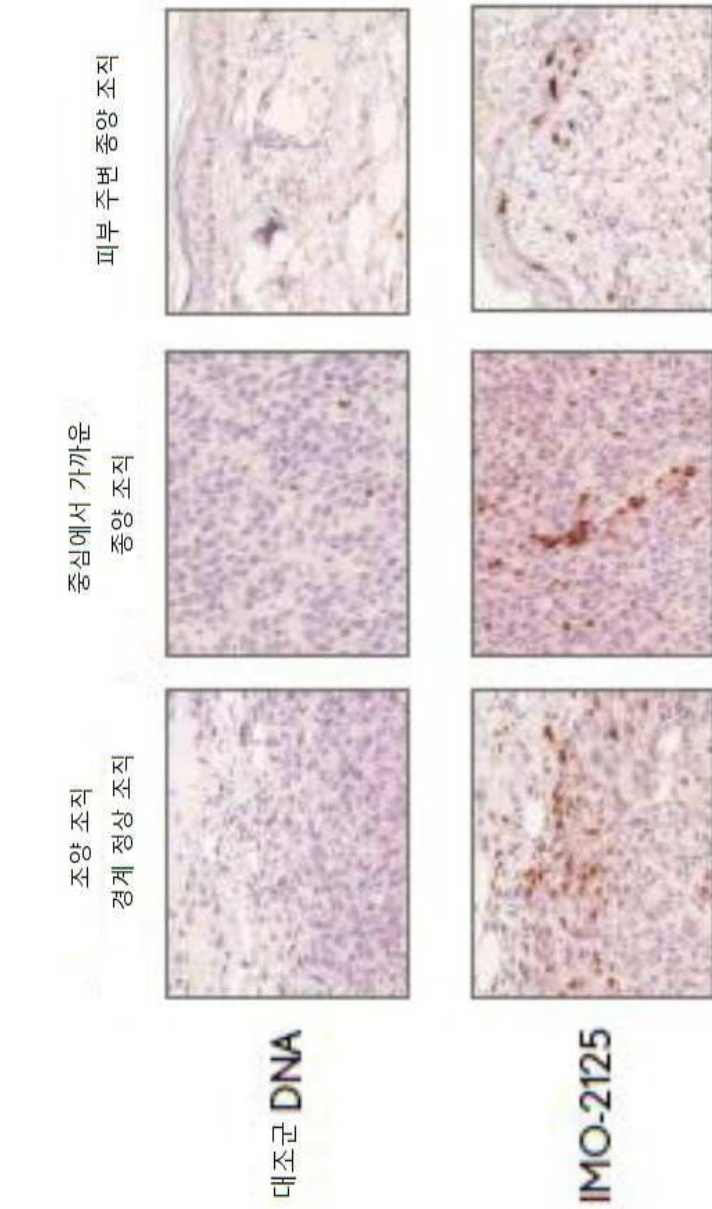
치료된 종양



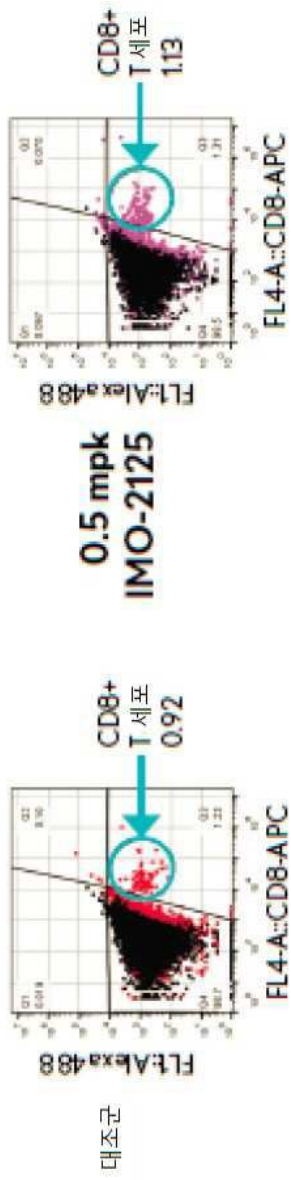
원위 종양



도면2a

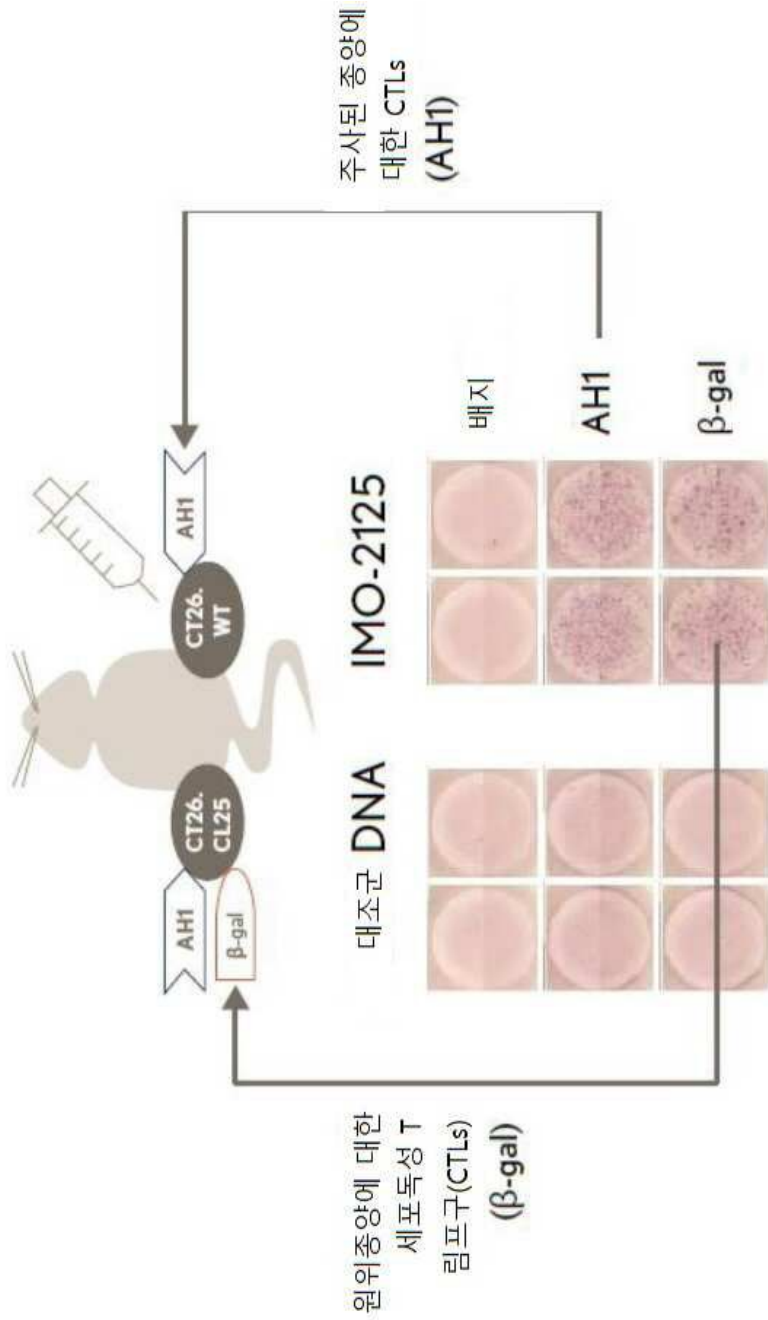


도면2b

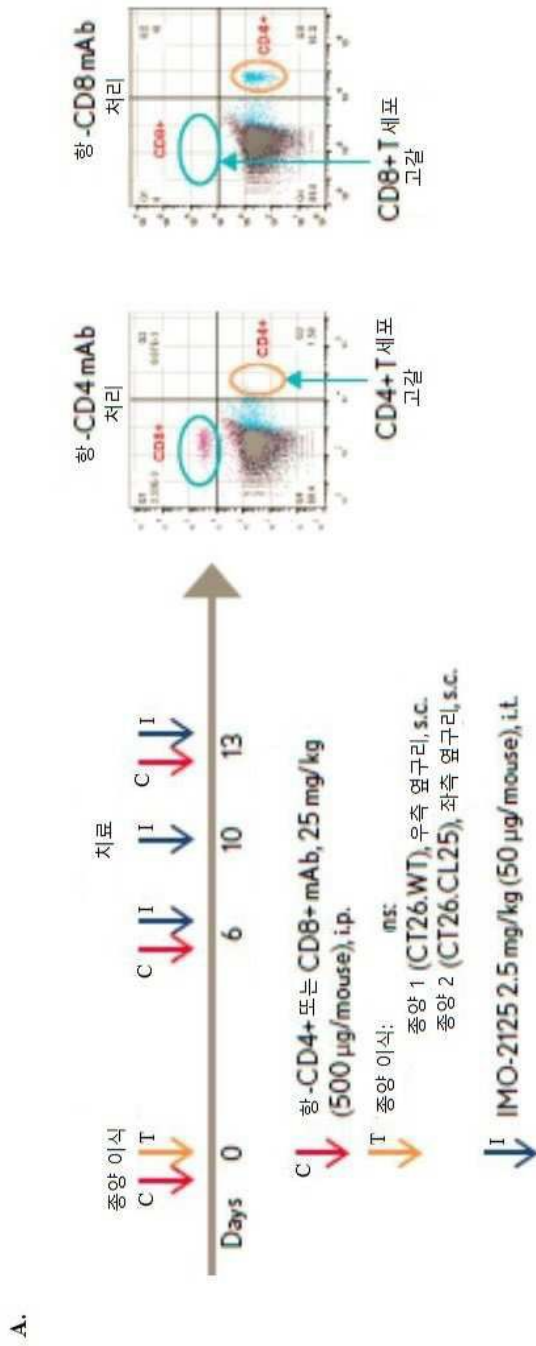


B.

도면3

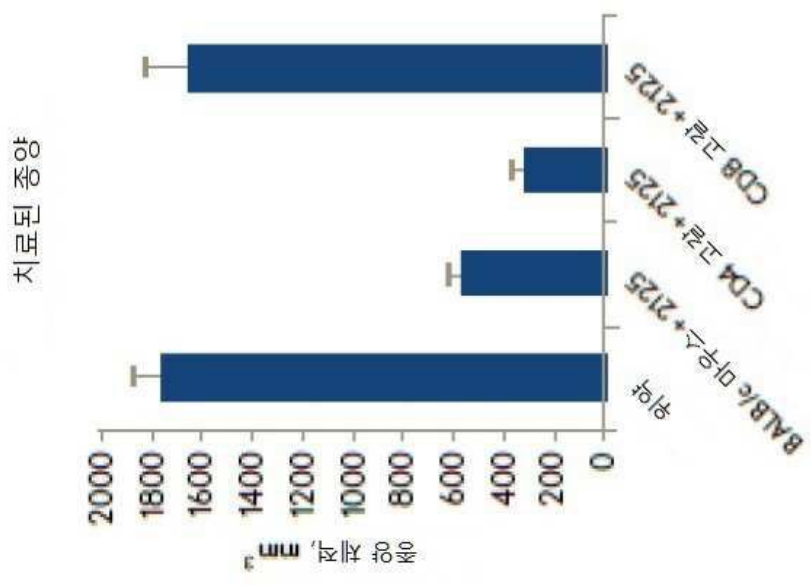
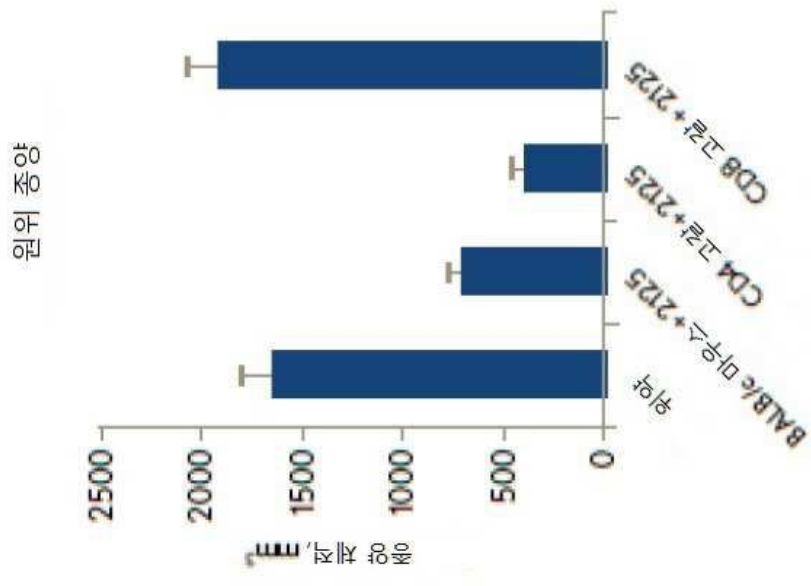


도면4a



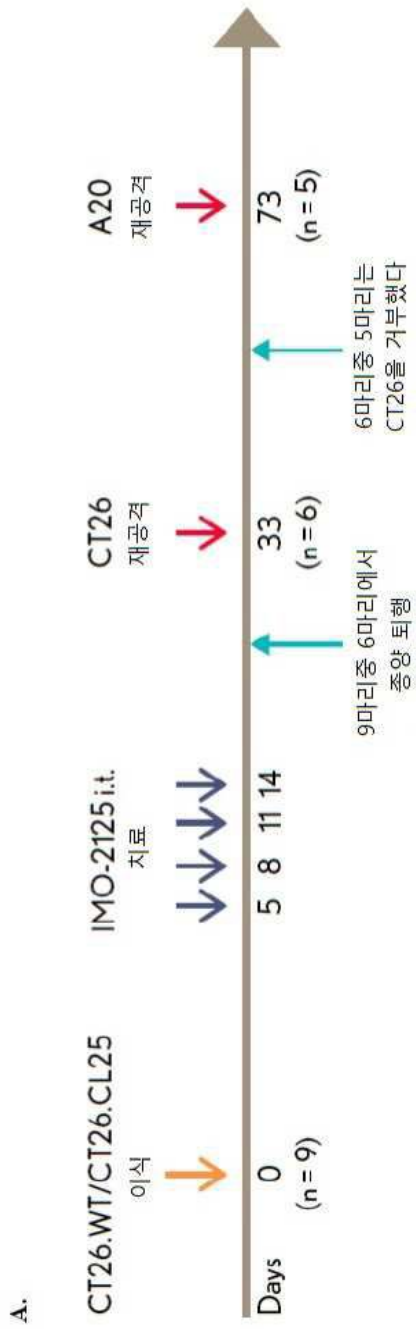
CD4+ 세포 및 CD8+ T 세포는 1, 6, 13일차에 25mg/kg(500µg/마우스) 항-마우스CD4 mAb 또는 항-마우스CD8 mAb의 i.p. 주사에 의해 고갈되었다. 중양-보유 마우스는 6, 10 및 13일차에 우측 종양에서 2.5mg/kg(50µg/마우스) 위약 또는 IMO-2125의 i.t. 주사에 의해 치료되었다.

도면4b

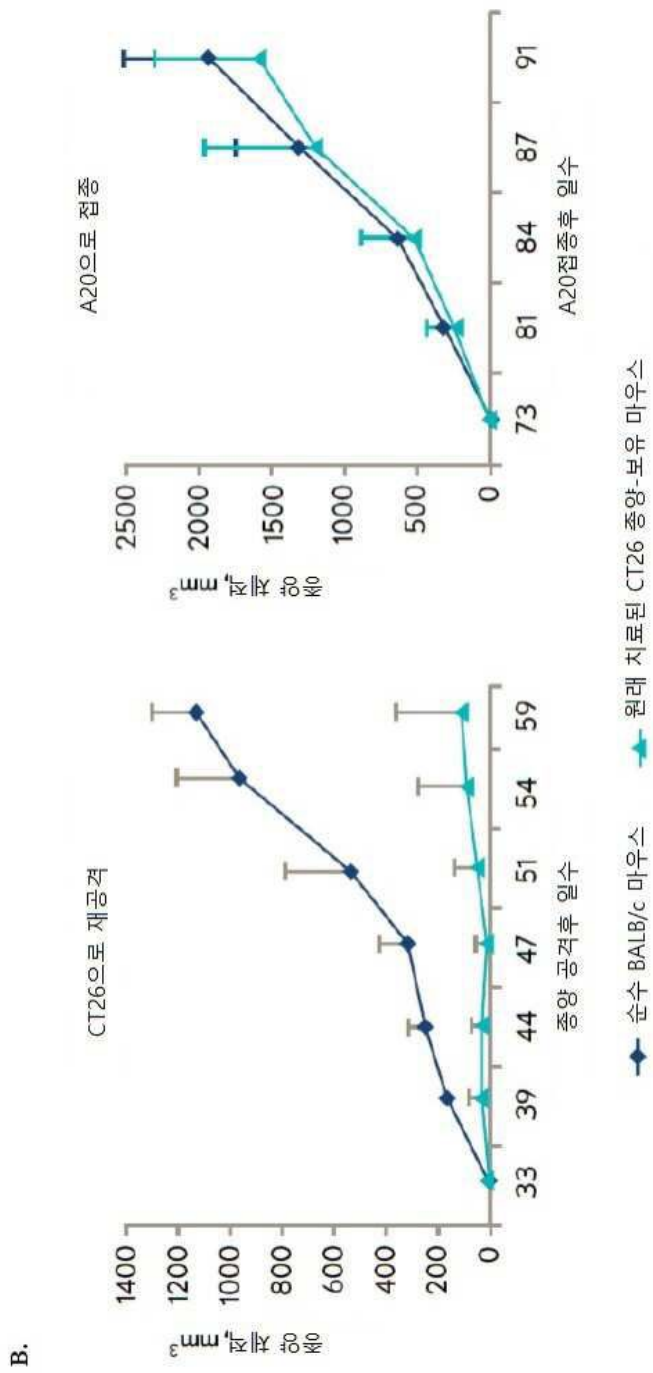


B.

도면5a

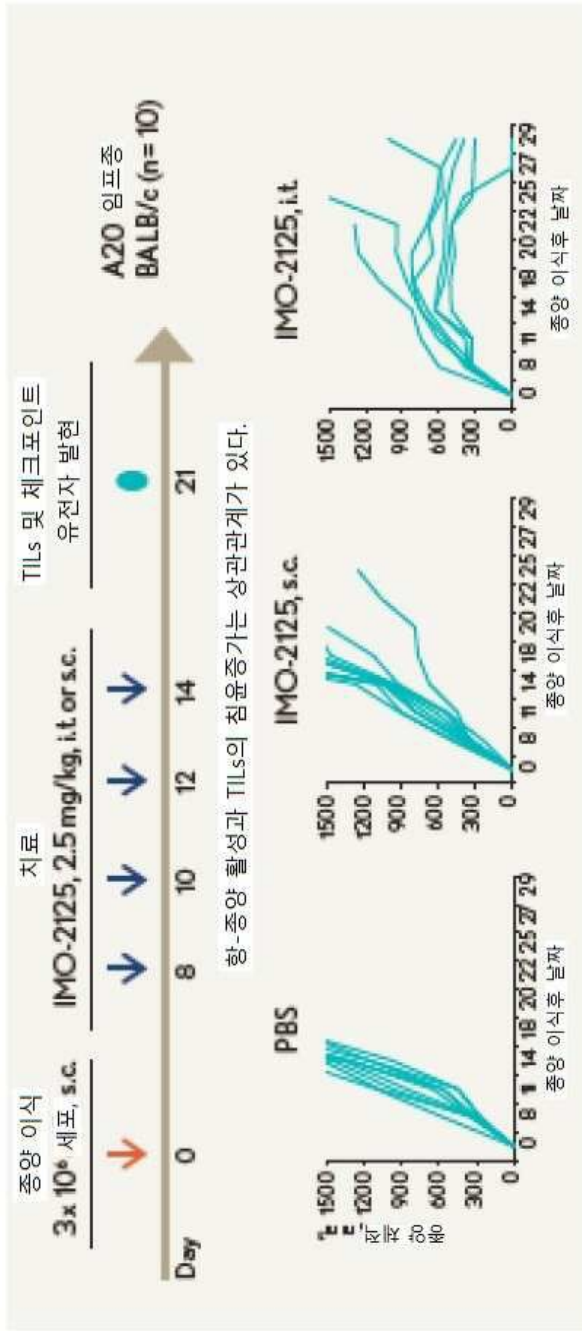


도면5b



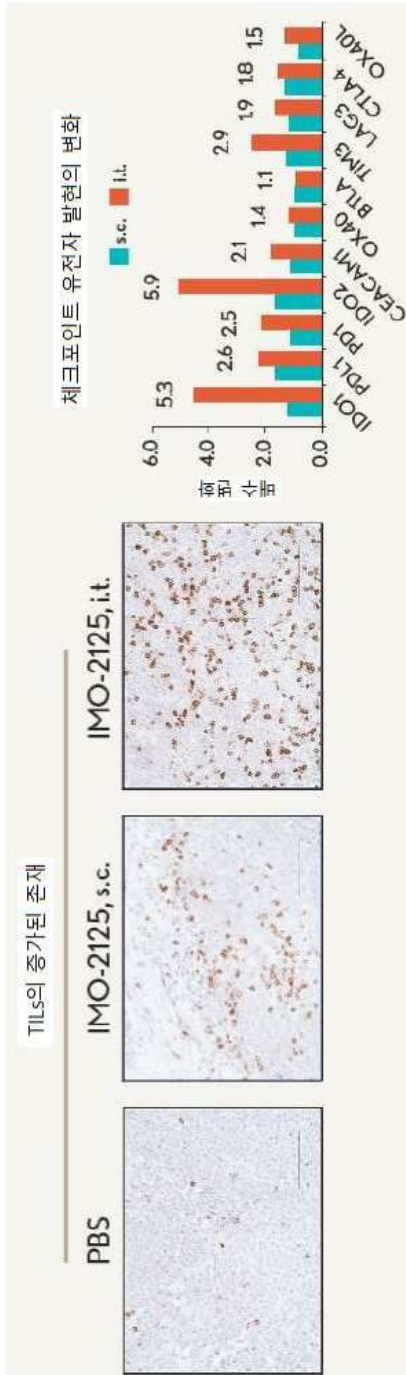
도면6a

A.

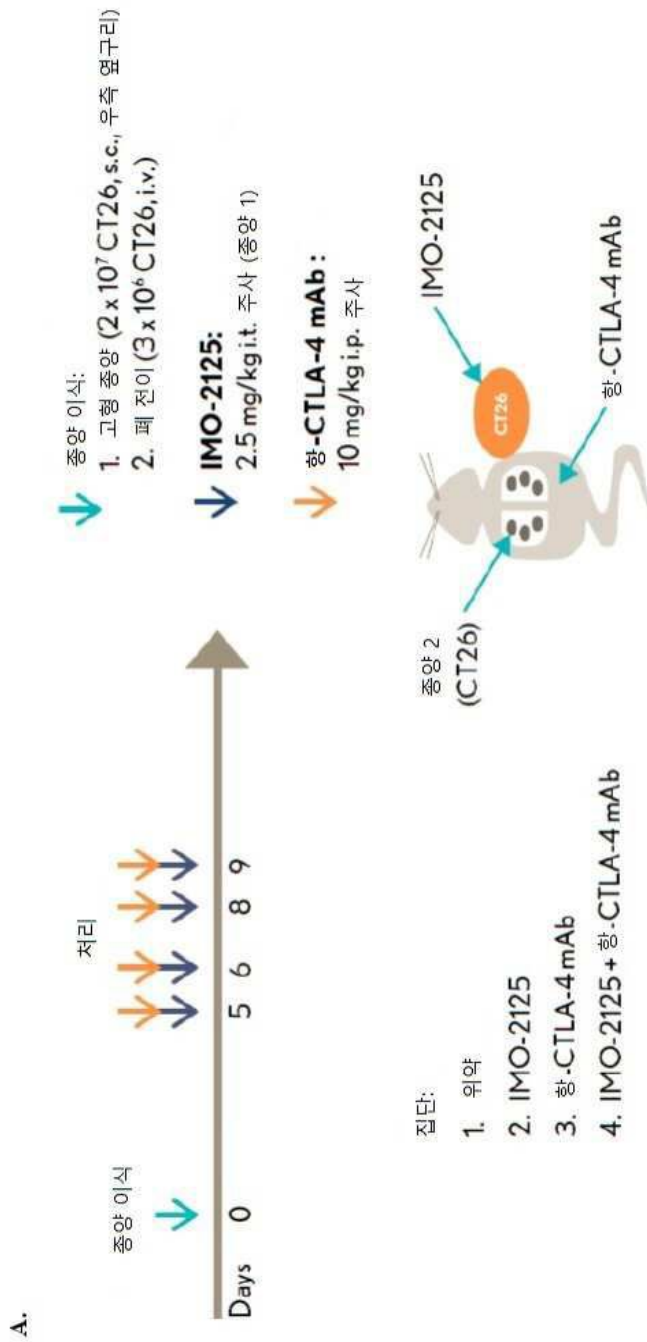


도면6b

B.

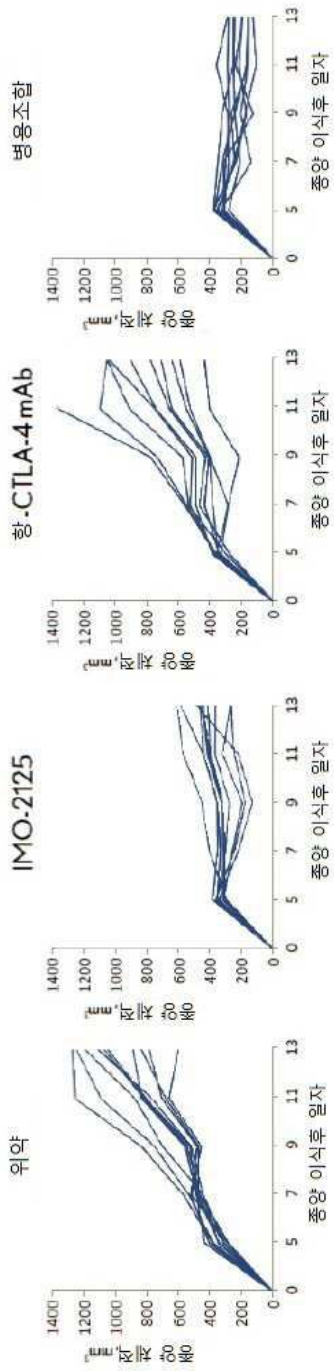


도면7a



도면 7b

B.



도면8b

B.

위약



IMO-2125



항-CTLA-4
mAb

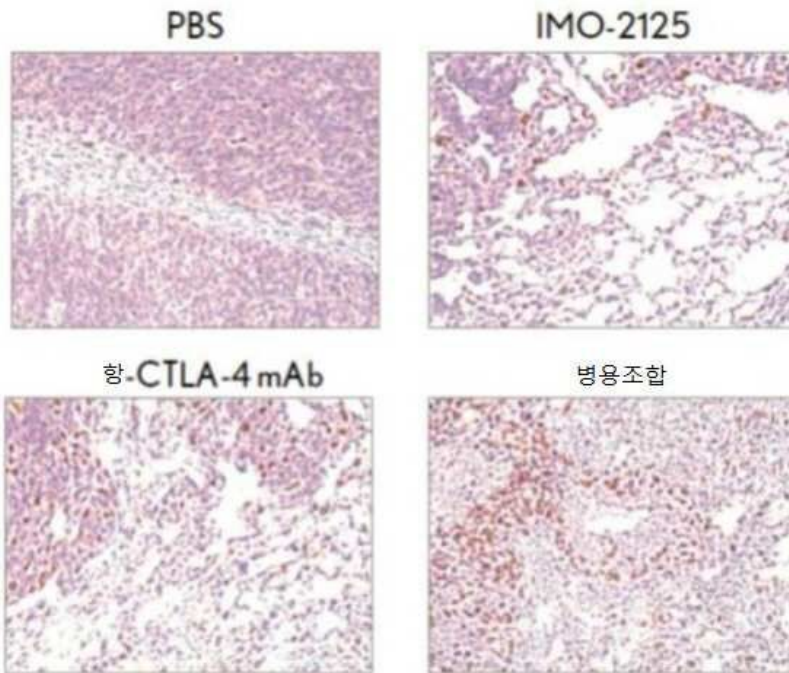


병용조합



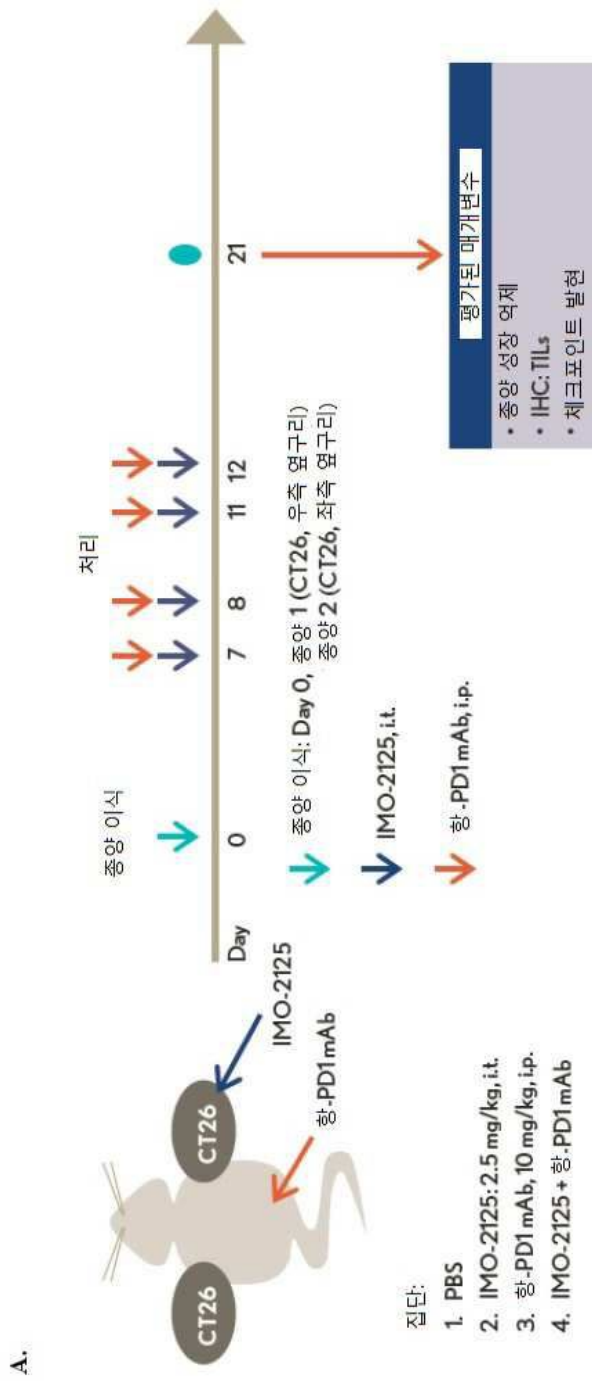
* 사진은 이식후 13일자에 찍었다.

도면9

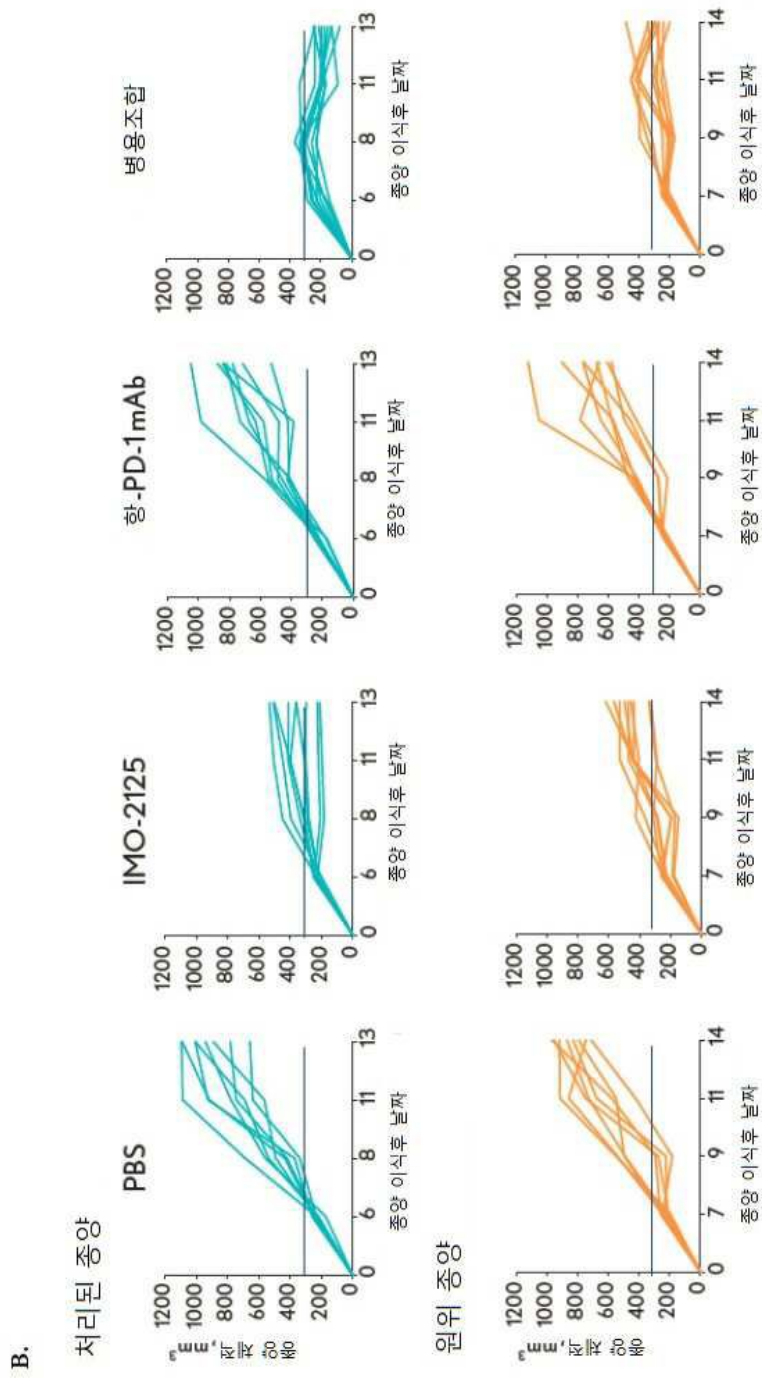


PBS 군: 종양 조직 경계 정상 조직에 많은 T 세포가 존재한다
IMO-2125군: 증가된 T 세포가 종양 조직 안으로 침윤
항-CTLA-4 mAb 군: 증가된 T 세포가 종양 조직 안으로 침윤
병용 조합 군: 대량의 T 세포가 종양 조직으로 침윤

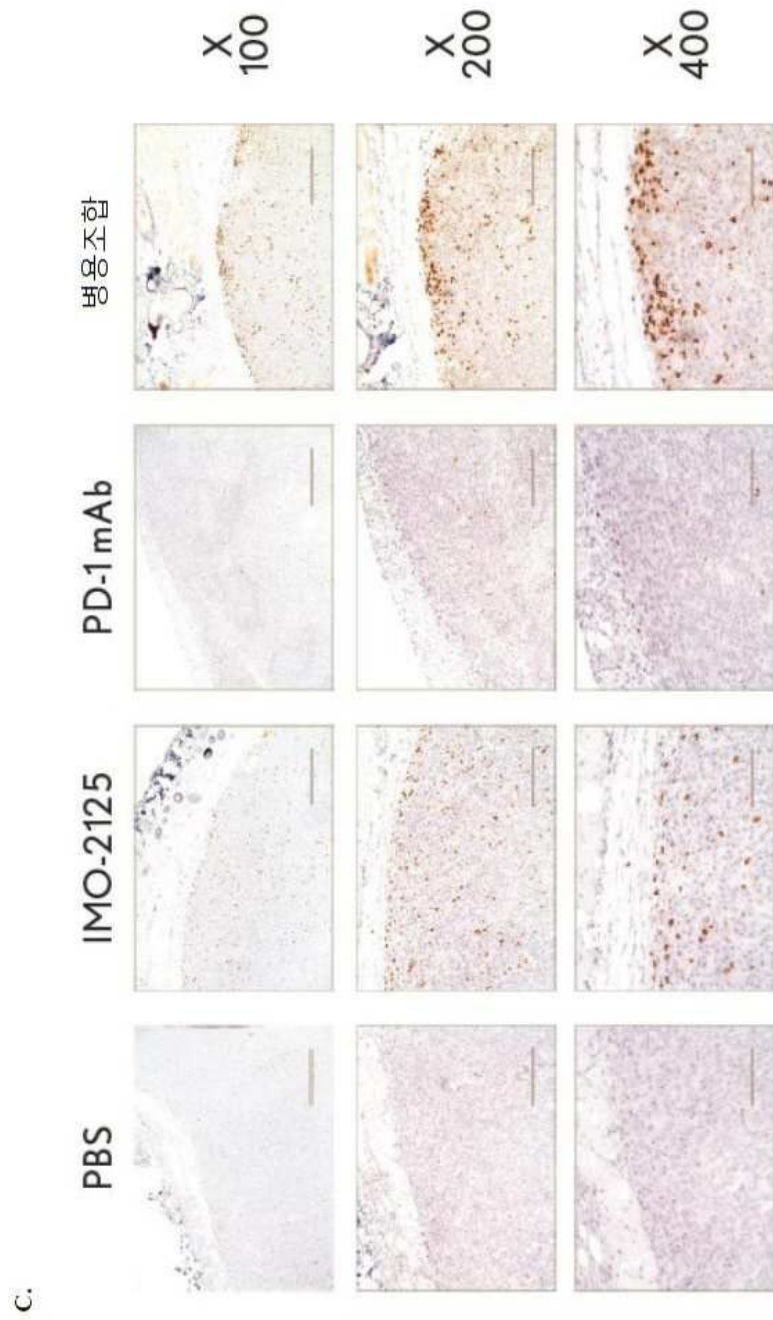
도면10a



도면10b



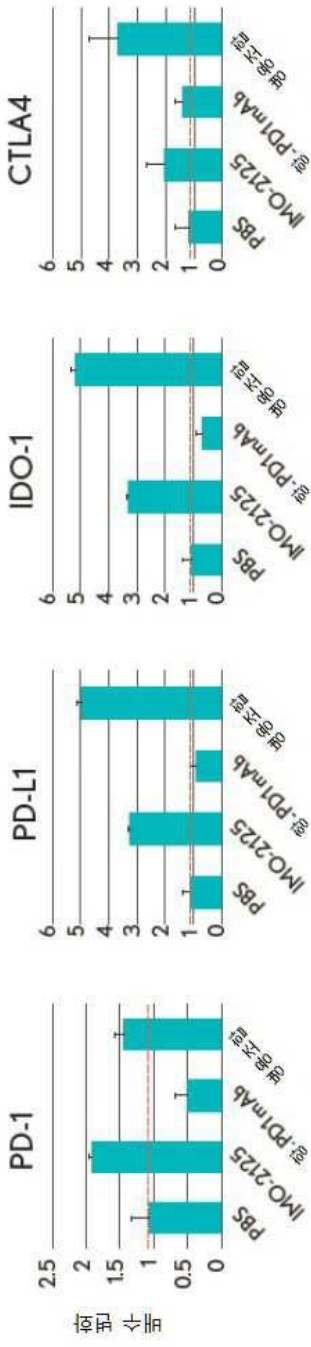
도면10c



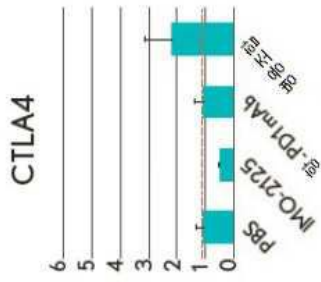
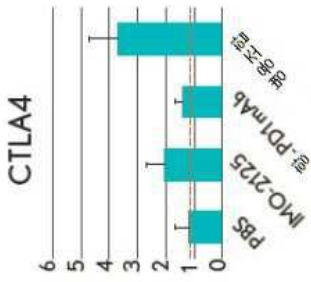
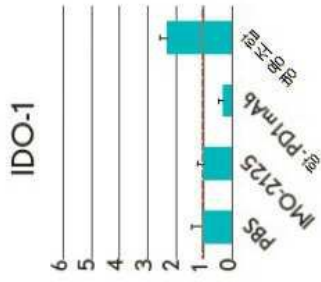
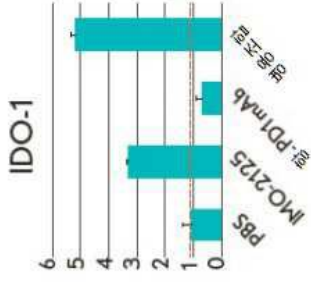
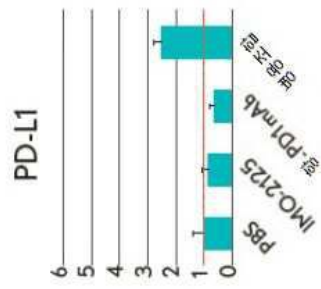
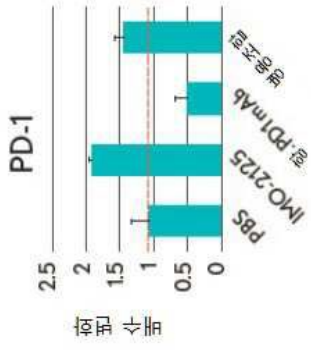
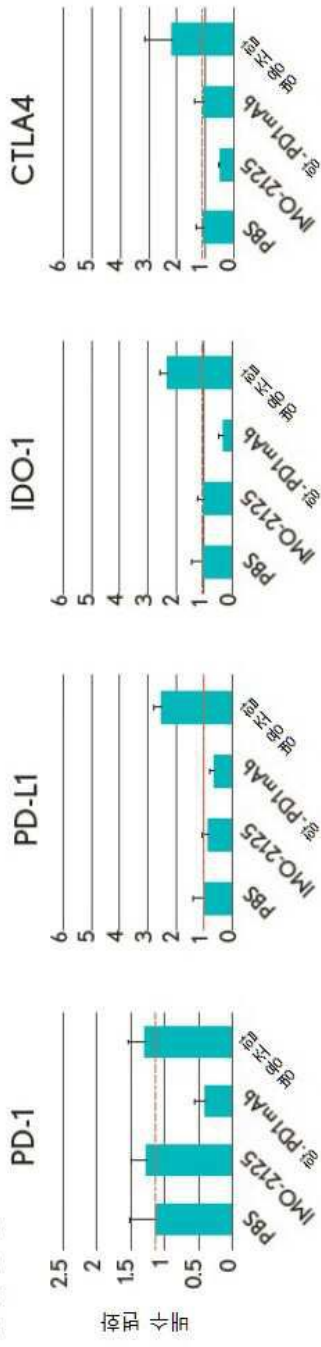
도면10d

D.

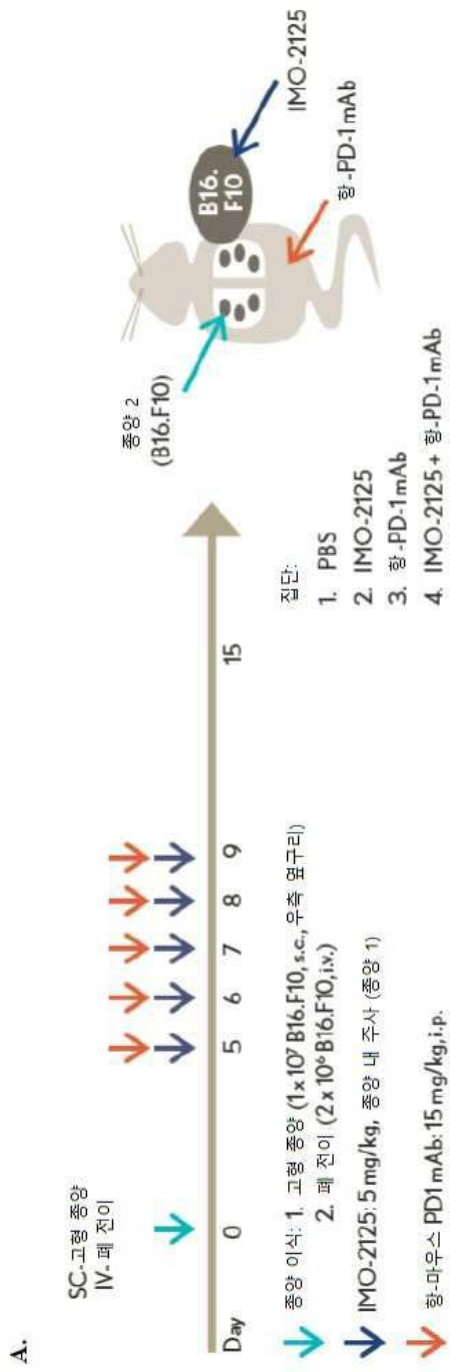
처리된 종양



원위 종양

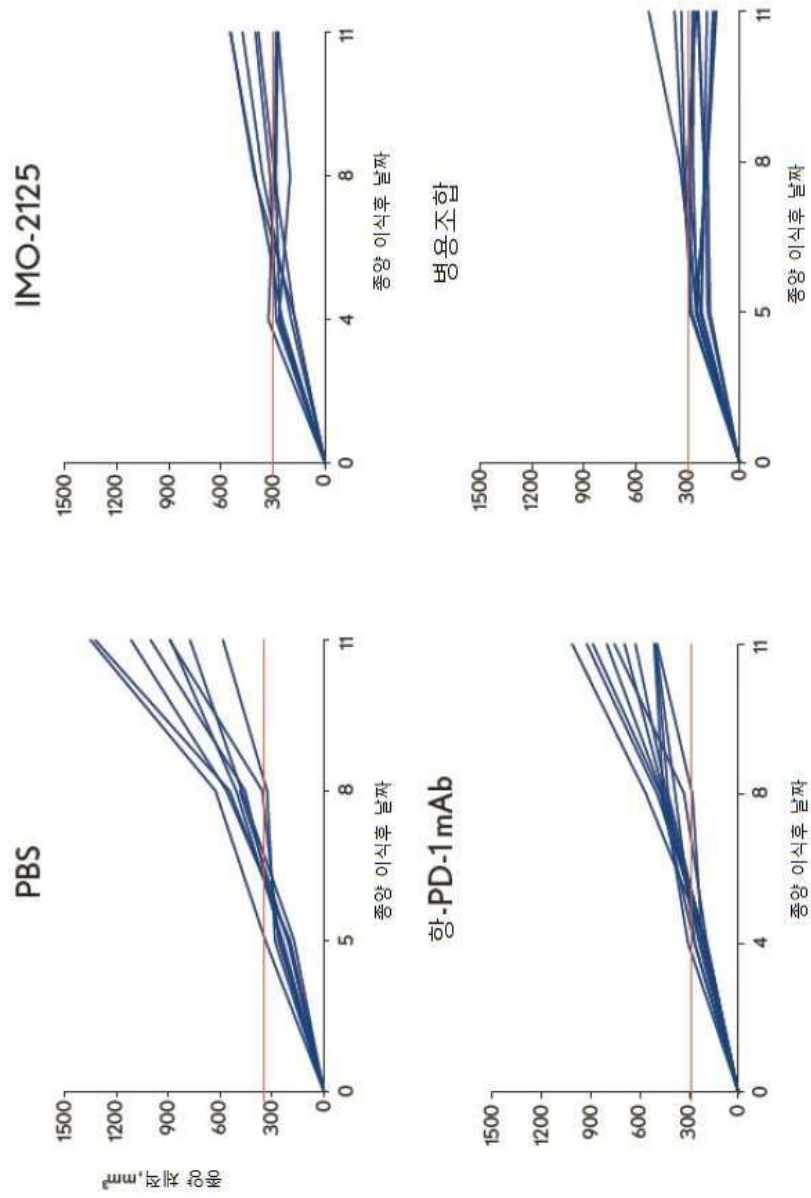


도면11a



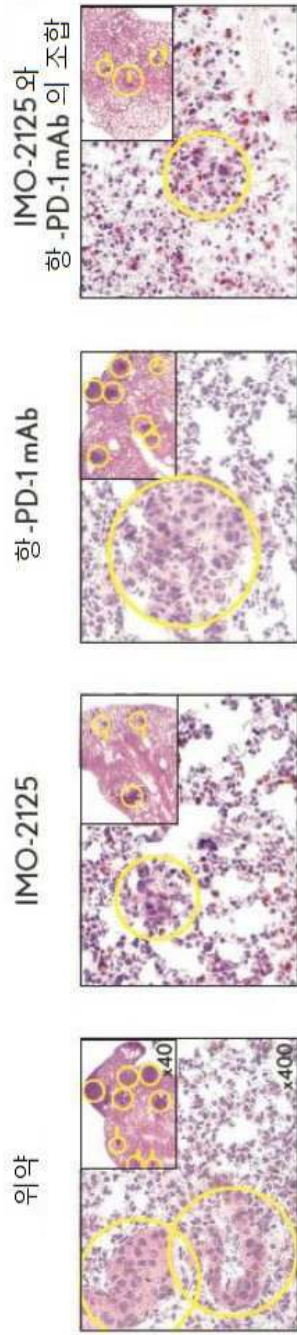
도면11b

B.



도면11d

D.



범례

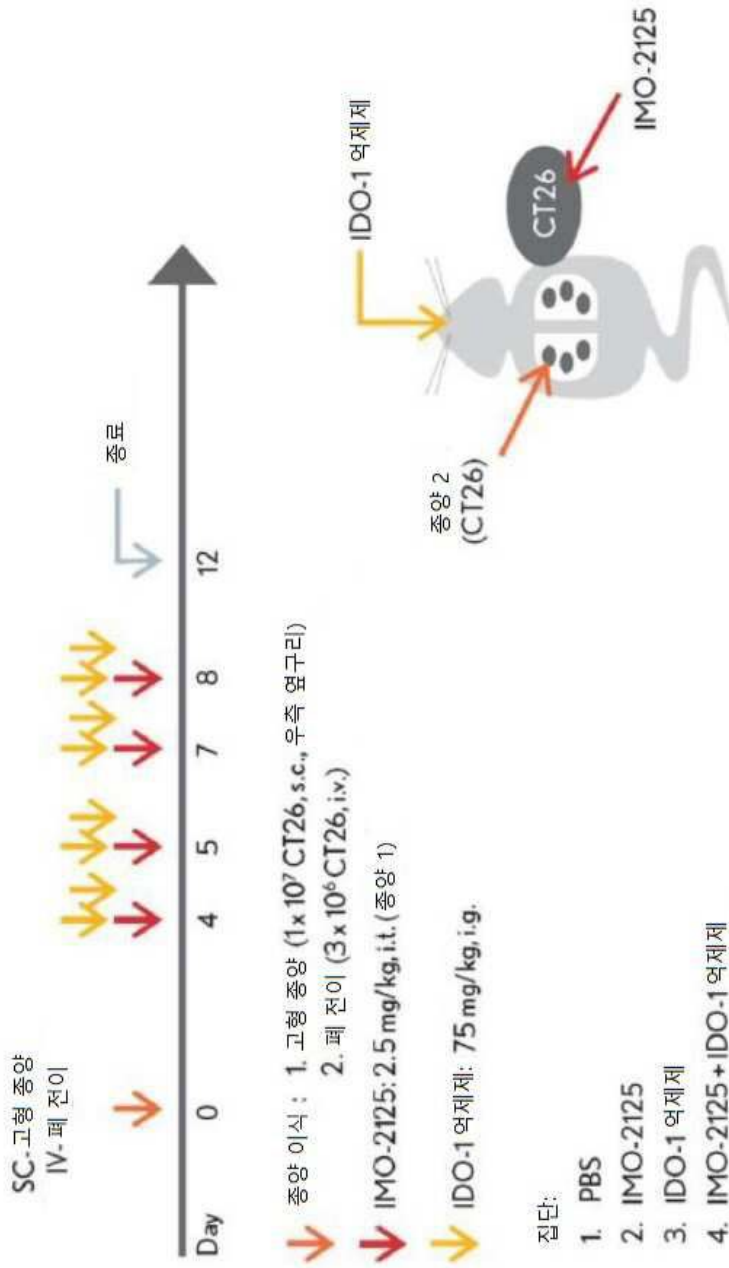
원: 큰 종양 노들

화살표: 작은 종양 노들

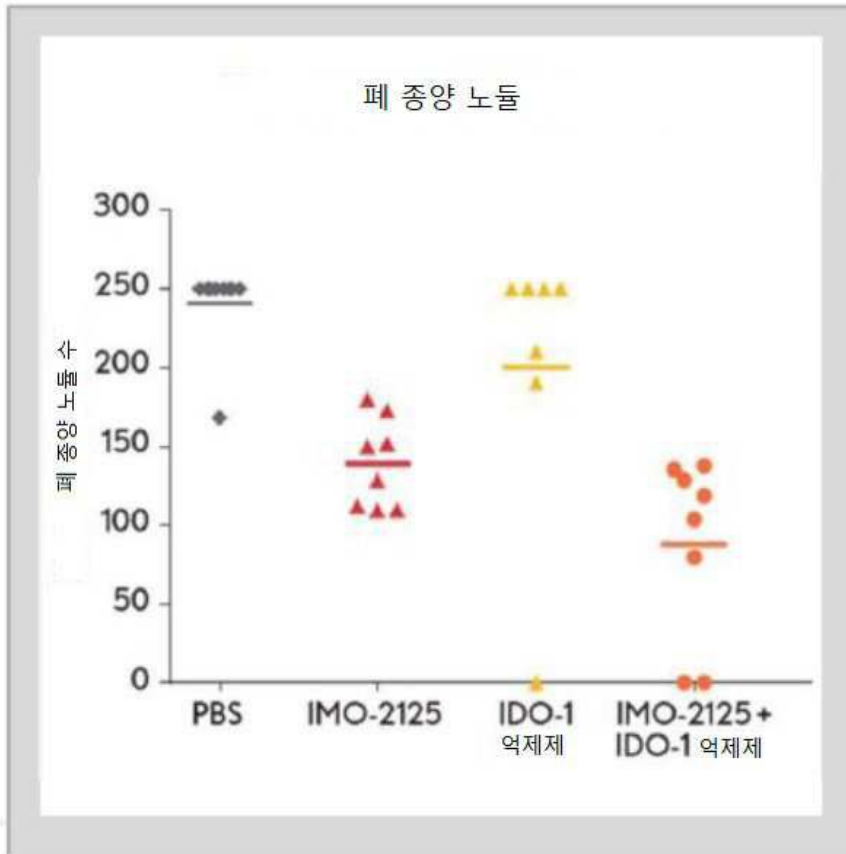
삽입 도면: HE 착색 (x40)

큰 도면: CD3 착색 (x400)

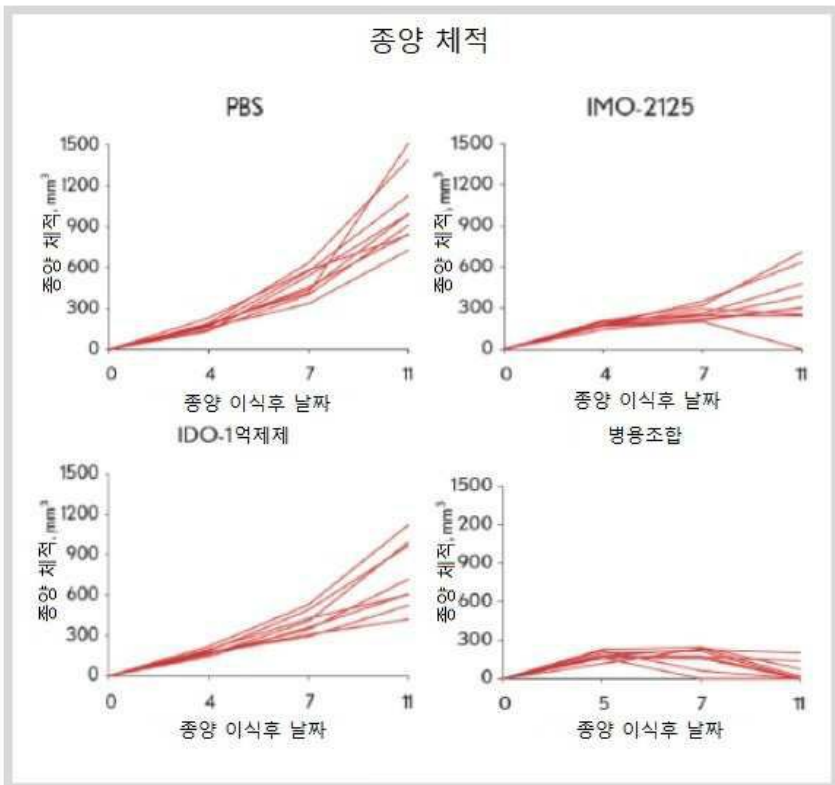
도면12



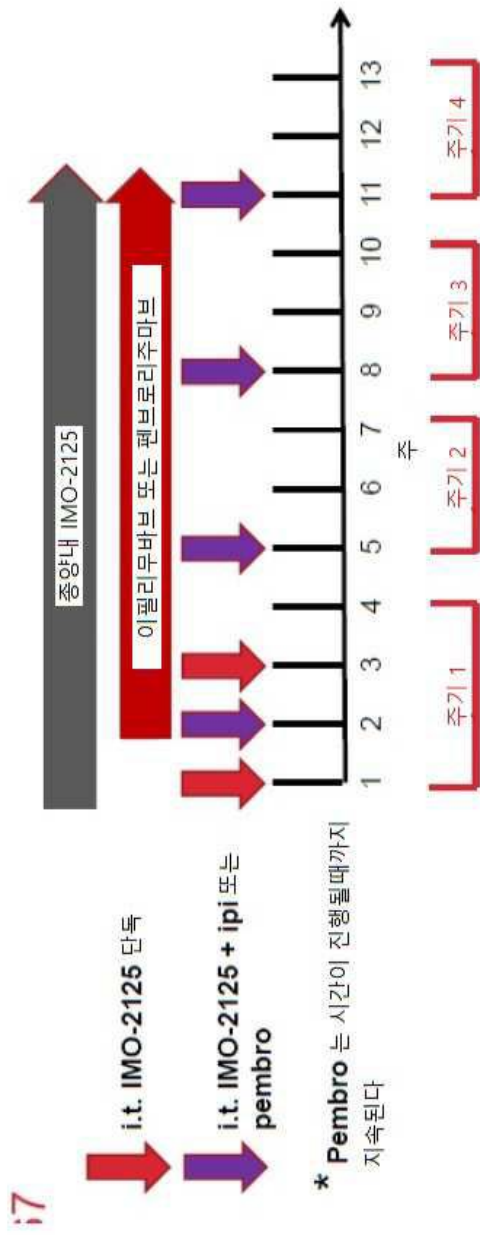
도면13a



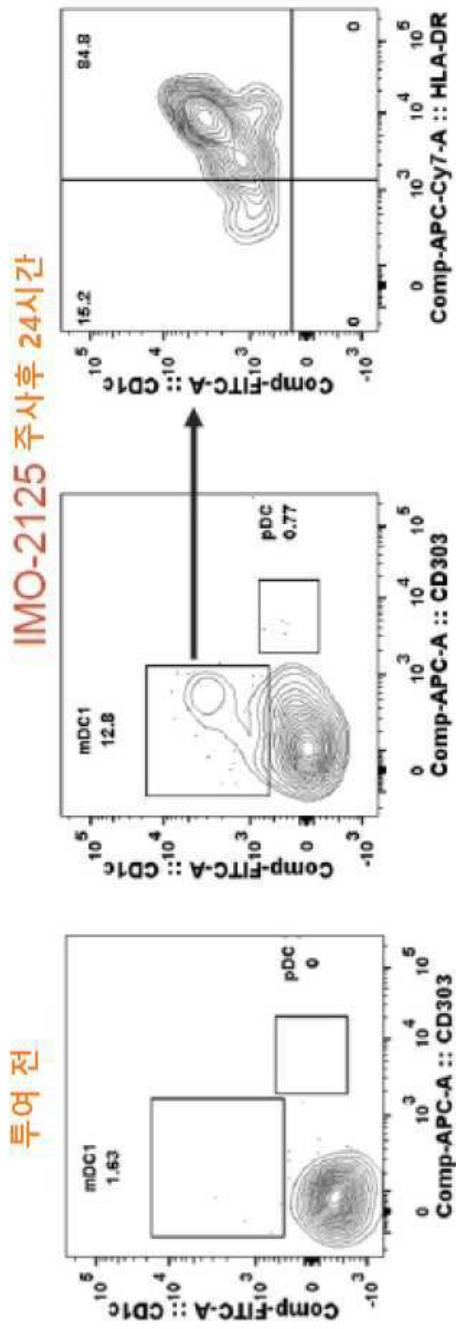
도면13b



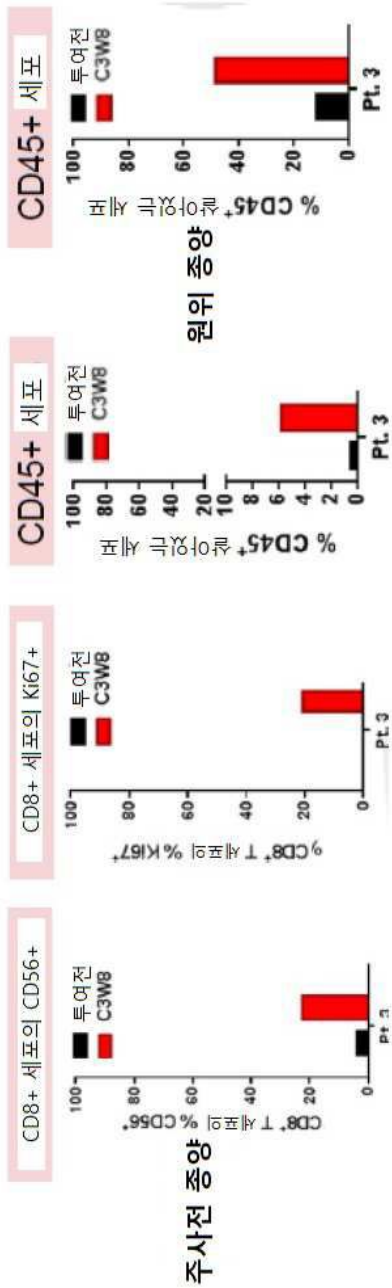
도면14



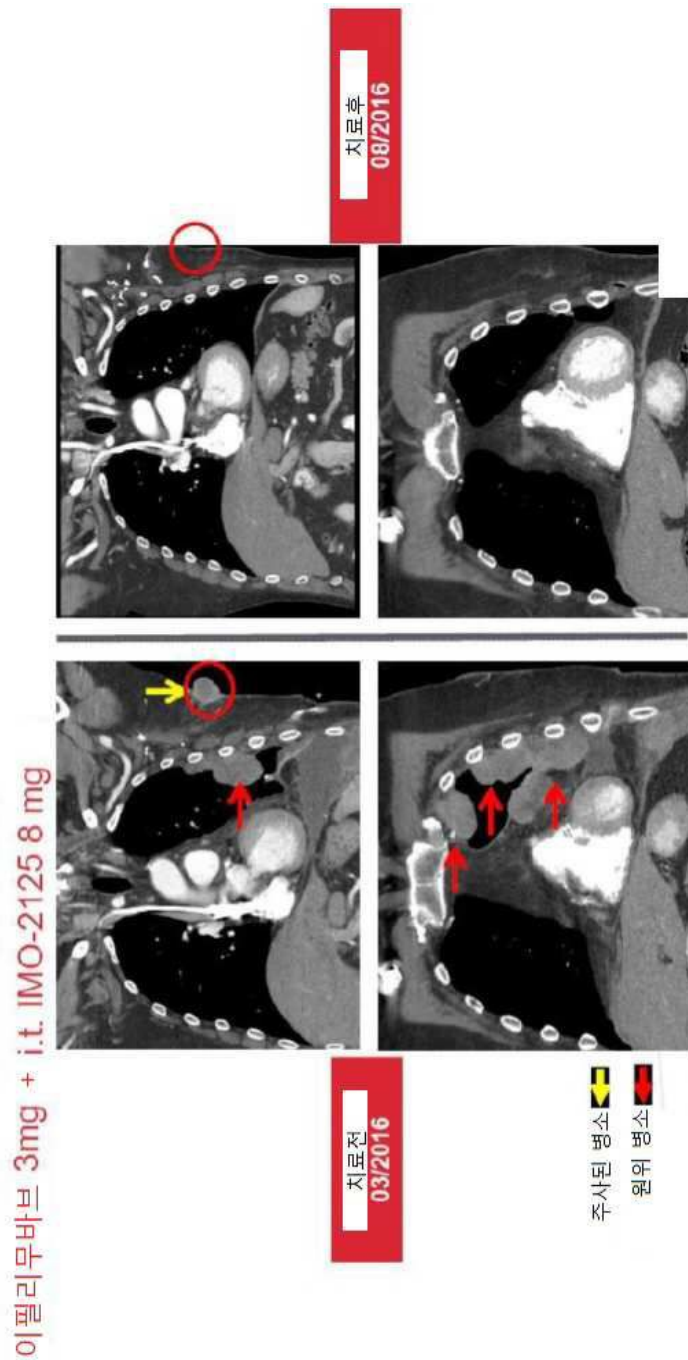
도면15a



도면15b



도면17



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Idera Pharmaceuticals Inc.

Agrawal, Sudhir

WANG, Daqing

JIANG, Wayne

<120> IMMUNE MODULATION WITH TLR9 AGONISTS FOR CANCER TREATMENT

<130> 105968-5001PC
 <140> PCT/US17/51742
 <141> 2017-09-15
 <150> 62/394,845
 <151> 2016-09-15
 <150> 62/486,738
 <151> 2017-04-18
 <160> 30
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220>
 ><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a glycerol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 1
 tctgacgttc ttcttgca ct
 <210> 2
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220>

22

<221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a glycerol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 2

tctgtcgttc ttcttgctgt ct 22

<210> 3
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><

221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a glycerol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 3

tcgtcgttct ggtcttgctg ct 22

<210> 4
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by is a glycerol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 4

tcgaacgttc ggcttgcaag ct

22

<210> 5
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)
 <223> 2'-deoxy-arabinoguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a glycerol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-deoxy-arabinoguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> Phosphodiester linkage
 <400> 5
 ctgtcgttct cctcttgctg tc

22

<210> 6
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-deoxy-arabinoguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a glycerol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<400> 6

ctgtcgttct cctcttgctg tc

22

<210> 7

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a glycerol linker

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<400> 7

tcgaacgttc gtcttgctgt ct

22

<210> 8

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222>

> (11)..(12)

<223> Linked by a C3-linker

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 8

tcgaacgttc ggacagctgt ct

22

<210> 9

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a glycerol linker

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<400> 9

cagtcgttca ggacttgctg ac

22

<210> 10

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a glycerol linker

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 10

cagtcgttca ggacttgctg ac

22

<210> 11

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-methylribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a 1,3,5-pentanetriol linker

<220><221> misc_feature

<222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-methylribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 11
 tcgaacgttc ggcttgcaag ct
 <210> 12
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence

 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a 1,3-propanediol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature

22

<222> (21)..(21)

<223> 2'-O-methylribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 12

tcgaacgttc gtcttgctgt cttgct

26

<210> 13

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<

222> (11)..(12)

<223> Linked by a 1,3-propanediol linker

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> 2'-O-methylribonucleotide

<400> 13

tcgaacgttc gtcttgctgu ct

22

<210> 14

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature

 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-O-methylribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a cis,trans-1,3,5-cyclohexanetriol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-O-methylribonucleotide
 <220><221> misc_feature
 <
 <222> (13)..(13)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 14

tcgaacgttc ggcttgcaag ct

22

<210> 15

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-O-methylribonucleotide

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a 1,4-butanediol linker

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<400> 15

tcgaacgttc ggacttgctg ac

22

<210> 16

<211> 26

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> 2'-O-methylribonucleotide
 <220><221>
 > misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 16
 tcgaacgttc gtgttgctgt cttgct
 <210> 17
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-arabinoguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

26

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> 2'-deoxy-U

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(11)

<223> Linked by a cis,cis-1,3,5-cyclohexanetriol linker

<220><221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> 2'-deoxy-U

<220><221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<400> 17

tcgtcgttuy yuttgctgct

20

<210> 18

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a 1,4-butanediol linker

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 18

cagtcgttca gtcttgctgt ct

22

<210> 19
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature

 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a glycerol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 19
 tcgtacgtac ggcacatgctg ct

22

<210> 20
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a 1,3,5-pentanetriol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 20

tcgaacgttc ggcttgcaag ct

22

<210> 21
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)

<223> Linked by a 1,4-butanediol linker

<220><221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (23)..(23)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 21

tcgaacgttc gcttgctgac ttgct

25

<210> 22

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a isobutanetriol linker

<220><221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 22

tcgaacgttc ggcttgcaag ct

22

<210> 23

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a 1,5-pentandiol linker

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<400> 23

tcgaacgttc gcattgctgt cttgct

26

<210> 24

<211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <
 220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a cis,trans-1,3,5-cyclohexanetriol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <400> 24
 tcgaacgttc ggcttgcaag ct
 <210> 25
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature

22

<222> (2)..(2)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221>
 > misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a isobutanetriol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> a phosphodiester linkage

<400> 25

tcgaacgttc ggcttgcaag ct

22

<210> 26

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220
 ><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (9)..(10)
 <223> Linked by an isobutanetriol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature

 <222> (15)..(15)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature

<222> (18)..(18)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> a phosphodiester linkage
 <400> 26
 tcgaacgttc ggcttgcaag ct
 <210> 27
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence
 <220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> a phosphodiester linkage

22

<220><221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a cis,trans-1,3,5-cyclohexanetriol linker
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

 <220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> a phosphodiester linkage
 <400> 27
 tcgaacgttc ggcttgcaag ct
 <210> 28
 <211> 22

22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> 2'-deoxy-arabinoguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by an isobutanetriol linker

<220><221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> 2'-deoxy-arabino-guanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-arabino-guanosine

<220><221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-arabino-guanosine
 <220><221> misc_feature
 <222> (21)..(21)
 <223> a phosphodiester linkage

<400> 28

tcgaacgttc ggcttgcaag ct

22

<210> 29
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> Linked by a 1,3,5-pentanetriol linker

<220><221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> a phosphodiester linkage

<400> 29

tcgaacgttc ggcttgcaag ct

22

<210> 30

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> a phosphodiester linkage

<220>

><221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine

<220><221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> a phosphodiester linkage

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(11)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature
 <222> (11)..(12)
 <223> Linked by a 1,3,5-pentanetriol linker
 <220><221> misc_feature

<222> (12)..(12)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature

<222> (13)..(13)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature

<222> (16)..(16)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature

<222> (17)..(17)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)
 <223> a phosphodiester linkage
 <220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)
 <223> 2'-deoxy-7-deazaguanosine
 <220><221> misc_feature

<222> (21)..(21)
 <223>
 a phosphodiester linkage

<400> 30

tcgaacgttc ggettgcag ct

22