



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0119694  
(43) 공개일자 2022년08월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
 A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)

(52) CPC특허분류  
 C07K 16/2818 (2013.01)  
 A61K 39/0011 (2021.08)

(21) 출원번호 10-2022-7025578  
 (22) 출원일자(국제) 2022년12월18일  
 심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2022년07월22일  
 (86) 국제출원번호 PCT/US2020/065873  
 (87) 국제공개번호 WO 2021/133653  
 국제공개일자 2021년07월01일

(30) 우선권주장  
 62/952,878 2019년12월23일 미국(US)  
 (뒷면에 계속)

(71) 출원인  
 마크로제닉스, 인크.  
 미국 메릴랜드주 20850 록빌 메디칼 센터 드라이브 9704

(72) 발명자  
 셉로우 브래들리 제임스  
 미국 메릴랜드 20850 록빌 메디컬 센터 드라이브 9704 마크로제닉스 인크 내  
 라 모트-모스 로스  
 미국 메릴랜드 20850 록빌 메디컬 센터 드라이브 9704 마크로제닉스 인크 내  
 (뒷면에 계속)

(74) 대리인  
 특허법인와이에스장

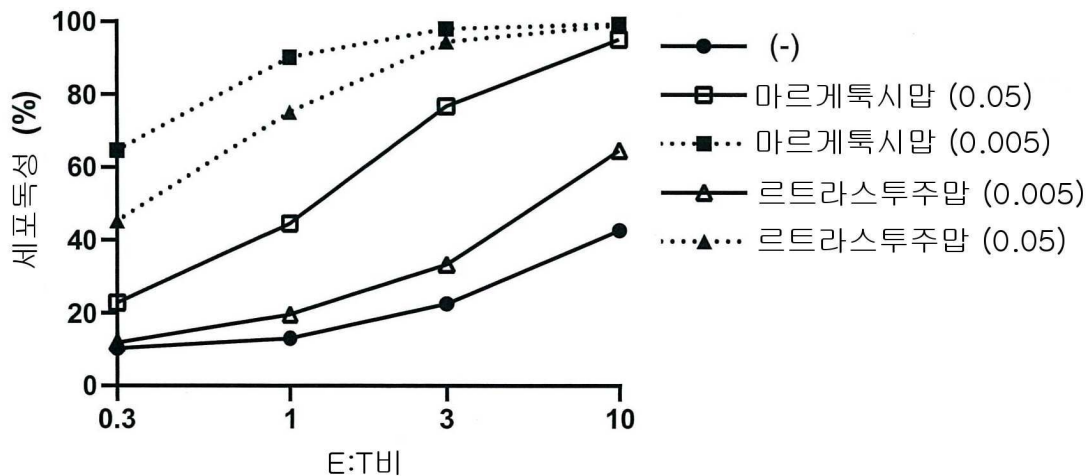
전체 청구항 수 : 총 45 항

(54) 발명의 명칭 암 치료를 위한 요법

(57) 요약

본 발명은 암 치료를 위해 단독으로, 또는 중앙 항원 (TA)에 결합하는 항체-기반 분자와 조합으로 PD-1 또는 PD-L1, 및 LAG-3에 결합하는 항체-기반 분자 (예를 들어, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자) 중 하나 이상을 투여하기 위한 양생법에 관한 것이다. 본 발명은 특히 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자와 함께 이러한 양생법의 사용과 관련이 있다. 본 발명은 이러한 분자의 사용, 및 이러한 분자를 함유하고 암 치료시 이러한 주입 양생법의 사용을 용이하게 하는 약학적 조성물 및 약학적 키트의 사용에 관한 것이다.

대표도 - 도10



(52) CPC특허분류

*A61P 35/00* (2018.01)  
*C07K 16/2803* (2013.01)  
*C07K 16/32* (2013.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*C07K 2317/31* (2013.01)  
*C07K 2317/64* (2013.01)  
*C07K 2317/72* (2013.01)  
*C07K 2317/732* (2013.01)  
*C07K 2317/92* (2013.01)

(72) 발명자

**위강턴 존 마크**

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디컬 센터 드라이브  
 9704 마크로제닉스 인크 내

**본비니 에지오**

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디컬 센터 드라이브  
 9704 마크로제닉스 인크 내

**무어 폴 에이.**

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디컬 센터 드라이브  
 9704 마크로제닉스 인크 내

**코닉 스코트**

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디컬 센터 드라이브  
 9704 마크로제닉스 인크 내

**장 샤오유**

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디컬 센터 드라이브  
 9704 마크로제닉스 인크 내

(30) 우선권주장

|            |             |        |
|------------|-------------|--------|
| 63/031,453 | 2020년05월28일 | 미국(US) |
| 62/952,859 | 2019년12월23일 | 미국(US) |
| 63/019,857 | 2020년05월04일 | 미국(US) |
| 63/123,581 | 2020년12월10일 | 미국(US) |
| 63/021,556 | 2020년05월07일 | 미국(US) |

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

암을 치료하는 방법으로서, 필요로 하는 대상체에게 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함하며, 상기 방법은 상기 대상체에게 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 약 120 mg 내지 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 2

제1 항에 있어서, 상기 암은 종양 항원 (TA)의 발현을 특징으로 하고, 상기 방법은 상기 대상체에게 종양 항원 (TA) 결합 분자 (TA-결합 분자)를 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 3

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 암은 TA의 발현을 특징으로 하고, 상기 방법은 상기 대상체에게 TA-결합 분자 및 다음을 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

- (a) 이중특이적 (PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자); 또는
- (b) LAG-3에 면역특이적으로 결합하는 분자 (LAG-3-결합 분자)와 조합된 PD-1에 면역특이적으로 결합하는 분자 (PD-1-결합 분자); 또는
- (c) PD-L1 및 LAG-3 둘 다에 면역특이적으로 결합하는 이중특이적 분자 (PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자); 또는
- (d) LAG-3-결합 분자와 조합된 PD-L1에 면역특이적으로 결합하는 분자 (PD-L1-결합 분자).

#### 청구항 4

제2 항 또는 제3 항에 있어서, 상기 TA-결합 분자는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 5

제2 항 내지 제4 항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 각각의 분자는 별개의 조성물 내에 있거나; 또는
- (b) 각각의 분자는 동일한 조성물 내에 있거나; 또는
- (c) 상기 PD-1-결합 분자 및 상기 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고, 상기 TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있거나; 또는
- (d) 상기 PD-L1-결합 분자 및 상기 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고, 상기 TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 6

제2 항 내지 제5 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TA-결합 분자는 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 7

제2 항 내지 제6 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1-결합 분자는 항체이고, 상기 PD-L1-결합 분자는 항체이고, 상기 LAG-3-결합 분자는 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 8

제3 항 내지 제6 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적

분자를 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 9**

제4 항 내지 제8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 다음을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

- (A) 조작된 글리코폼; 및/또는
- (B) 야생형 Fc 영역에 대한 아미노산 치환.

**청구항 10**

제9 항에 있어서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 다음을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법:

- (A) 푸코스를 함유하지 않고, 및/또는 이등분 O-GlcNAc를 포함하는 복합 N-글리코시드-연결된 당 사슬인 조작된 글리코폼; 및/또는
  - (B) 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환:
    - (a) F243L, R292P, Y300L, V305I, I332E, 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 치환;
    - (b) (1) F243L 및 P396L;
    - (2) F243L 및 R292P;
    - (3) R292P 및 V305I; 및
    - (4) S239D 및 I332E로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 치환;
    - (c) (1) F243L, R292P 및 Y300L;
    - (2) F243L, R292P 및 V305I;
    - (3) F243L, R292P 및 P396L; 및
    - (4) R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 3개의 치환;
    - (d) (1) F243L, R292P, Y300L 및 P396L; 및
    - (2) F243L, R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 4개의 치환; 또는
    - (e) (1) F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P396L; 및
    - (2) L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 5개의 치환.
- 여기서 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.

**청구항 11**

제9 항 또는 제10 항에 있어서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 아미노산 치환, L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L을 포함하며, 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 12**

제2 항 내지 제11 항 중 어느 한 항에 있어서,

- (A) 상기 TA는 표 6A 또는 표 6B로부터 선택되고; 및/또는
- (B) 상기 TA-결합 분자는 표 7로부터 선택된 항체의 VL 및 VH 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 13**

제3 항 내지 제7 항, 또는 제9 항 내지 제12 항 중 어느 한 항에 있어서,

- (A) 상기 PD-1-결합 분자는:
  - (a) 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는

PD-1 VH 도메인;

(b) 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는

(c) 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체이고;

(B) 상기 PD-L1-결합 분자는:

(a) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VL 도메인, 및 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VH 도메인;

(b) 표 2로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는

(c) 표 2로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체이고; 및

(C) 상기 LAG-3-결합 분자는:

(a) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인;

(b) 표 3으로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는

(c) 표 3으로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 14

제1 항 내지 제6 항, 또는 제8 항 내지 제12 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는

(a) 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VH 도메인, 또는 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 및/또는

(b) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인, 또는 표 3로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는

(c) 표 4-5로부터 선택된 이중특이적 항체-기반 분자를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 15

제1 항 내지 제6 항, 제8 항 내지 제12 항 또는 제14 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는

(a) 상기 PD-1-결합 도메인 중 2개; 및

(b) 상기 LAG-3-결합 도메인 중 2개를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 16

제1 항 내지 제6 항, 제8 항 내지 제12 항, 제14 항 또는 제15 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 서열 번호: 35의 PD-1 VL 도메인, 서열 번호: 39의 PD-1 VH 도메인, 서열 번호: 51의 LAG-3 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 LAG-3 VH 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 17

제1 항 내지 제6 항, 제8 항 내지 제12 항, 또는 제14 항 내지 제16 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 Fc 영역 및 힌지 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 18

제17 항에 있어서, 상기 Fc 영역 및 상기 힌지 도메인은 둘 다 IgG4 아이소타입의 것이고, 상기 힌지 도메인은 안정화 돌연변이를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 19

제17 항 또는 제18 항에 있어서, 상기 Fc 영역은

- (a) Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 변형; 및/또는
- (b) 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 변이체 Fc 영역인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 20**

제19 항에 있어서,

- (a) Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 변형은 L234A; L235A; 또는 L234A 및 L235A의 치환을 포함하고;
- (b) 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 변형은 M252Y; M252Y 및 S254T; M252Y 및 T256E; M252Y, S254T 및 T256E; 또는 K288D 및 H435K의 치환을 포함하며,

상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 21**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 또는 제14 항 내지 제20 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 **서열 번호: 59**의 2개의 폴리펩타이드 사슬 및 **서열 번호:60**의 2개의 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 22**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 또는 제14 항 내지 제21 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 300 mg의 일정한 용량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 23**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 또는 제14 항 내지 제21 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 24**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 또는 제14 항 내지 제22 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 일정한 용량은 약 2주마다 1회 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 25**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 또는 제14 항 내지 제21 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 일정한 용량은 약 3주마다 1회 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 26**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 제14 항 내지 제21 항, 제23 항, 또는 제24 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 2주마다 1회 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 27**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 제14 항 내지 제21 항, 제23 항, 또는 제25 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 28**

제1 항 내지 제6 항, 제9 항 내지 제12 항, 또는 제14 항 내지 제27 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 29**

제1 항 내지 제28 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 부신암, AIDS-관련된 암, 포상 연부육종, 항문암 (항문관의 편평 세포 암종 (SCAC) 포함), 방광암, 골암, 뇌암 및 척수암, 유방암 (HER2+ 유방암 또는 삼중 음성 유방암 (TNBC) 포함), 경동맥체 종양, 자궁경부암 (HPV-관련된 자궁경부암 포함), 연골육종, 척색종, 난염성 신장 세포 암종, 투명 세포 암종, 결장암, 결장직장암, 결합조직성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 자궁내막암 (비선 택 자궁내막암, 고빈도 MSI 자궁내막암, dMMR 자궁내막암, 및/또는 POLE 엑소뉴클레아제 도메인 돌연변이 양성 자궁내막암 포함), 유잉 육종, 골외 점액성 연골육종, 담낭암 또는 담관암 (담관암종 담관암 포함), 위암, 위 식도 접합부 (GEJ) 암, 임신성 영양막 질환, 생식 세포 종양, 교아종, 두경부암 (두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) 포함), 혈액학적 악성 종양, 간세포 암종, 섬세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 백혈병 (급성 골수성 백혈병 포함), 지방육종/악성 지방종성 종양, 간암 (간세포 암종 간암 (HCC) 포함), 림프종 (미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 비-호지킨 림프종 (NHL) 포함), 폐암 (소세포 폐암 (SCLC), 비-소세포 폐암 (NSCLC) 포함), 수모세포종, 흑색종 (포도막 흑색종 포함), 수막종, 메르켈 세포 암종, 중피종 (중피성 인두암 포함), 다발성 내분비선 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경아세포종, 신경 내분비 종양, 난소암, 췌장암, 유두 상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아 암, 말초 신경집 종양, 인두암, 크롬 친화성 세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암 (전이성 거세저항성 전립선암 (mCRPC) 포함), 후부 포도막 흑색종, 전이성 신장암, 간상소체 종양, 횡문근육종, 육종, 피부암, 아동기 소원형 파란 세포 종양 (신경아세포종 및 횡문근육종 포함), 연조직 육종, 편평 세포 암, 위암, 활막육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선암, 및 자궁암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 30**

제29 항에 있어서, 상기 암은 항문암, 유방암, 담관암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막암, 위암, GEJ 암, 두 경부암, 간암, 폐암, 림프종, 흑색종, 난소암 및 전립선암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 31**

제28 항 또는 제29 항에 있어서, 상기 암은 HER2<sup>+</sup> 유방암, TNBC, 담관암종 담관암, HPV-관련된 자궁경부암, SCCHN, HCC, SCLC 또는 NSCLC, NHL, 전립선암, 위암 및 GEJ 암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 32**

제2 항 내지 제31 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>) 및 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)을 포함하는 HER2-결합 도메인을 포함하는 HER2-결합 분자이며,

- (A) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 서열 번호: 61의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 마르케특시맵의 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 서열 번호: 66의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 마르케특시맵의 중쇄 가변 도메인을 포함하거나;
- (B) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맵의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맵의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나;
- (C) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맵의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맵의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나; 또는
- (D) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인

(VH<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 33**

제2 항 내지 제32 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HER2-결합 분자는 항-HER2 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 34**

제33 항에 있어서, 상기 항-HER2 항체는 마르케특시맵이고, 상기 방법은 마르케특시맵을 약 6 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 35**

제32 항 내지 제34 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 화학치료제를 투여하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 36**

제2 항 내지 제35 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 HER2 발현 암인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 37**

제36 항에 있어서, 상기 HER2 발현 암은 유방암, 전이성 유방암, 방광암, 위암, GEJ 암, 난소암, 췌장암, 및 위암으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 38**

제2 항 내지 제31 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는 B7-H3-결합 도메인을 포함하는 B7-H3-결합 분자이며,

상기 VL은 **서열 번호: 71**의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고, 상기 VH는 **서열 번호: 76**의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 39**

제2 항 내지 제31 항 또는 제38 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TA-결합 분자는 에노블리투주맵이고 상기 방법은 에노블리투주맵을 약 6 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 40**

제2 항 내지 제31 항, 제38 항 또는 제39 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 B7-H3 발현 암인 것으로 하는 방법.

**청구항 41**

제40 항에 있어서, 상기 B7-H3 발현 암은 항문암, SCAC, 유방암, TNBC, 두경부암, SCCHN, 폐암, NSCLC, 흑색종, 포도막 흑색종, 전립선암, 및 mCRPC로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 42**

제2 항 내지 제41 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TA-결합 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 43**

제1 항 내지 제42 항 중 어느 한 항에 있어서, LAG-3를 발현하는 세포는 상기 치료 전에 상기 암의 생검에 존재하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 44**

제1 항 내지 제43 항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1을 발현하는 세포는 상기 치료 전에 상기 암의 생검에 존재하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 45**

제2 항 내지 제44 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료 전에, 상기 암의 세포의 표면 상에서의 PD-L1 발현은 복합 양성 점수 (CPS) 또는 중앙 비율 점수 (TPS)를 사용하여 결정된 바와 같이 1% 미만인 것을 특징으로 하는 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

- [0001] 관련 출원에 대한 교차-참조
- [0002] 본 출원은 미국 특허 출원 일련 번호 63/123,581 (2020년 12월 10일에 출원됨; 계류 중), 63/031,453 (2020년 5월 28일에 출원됨; 계류 중), 63/021,556 (2020년 5월 7일에 출원됨; 계류 중), 63/019,857 (2020년 5월 4일에 출원됨; 계류 중), 62/952,878 (2019년 12월 23일에 출원됨; 계류 중), 및 62/952,859 (2019년 12월 23일에 출원됨; 계류 중)에 대한 우선권을 주장하며, 이 출원들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록에 대한 언급
- [0004] 본 출원은 37 C.F.R. 1.821 et seq.에 따라 하나 이상의 서열 목록을 포함하며, 이것들은 컴퓨터로 판독 가능한 매체 (파일명: 1301\_0166PCT\_ST25.txt, 2020년 12월 18일에 생성되고, 70,042 바이트의 크기를 가짐)로 개시되며, 이 파일은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0005] 발명의 분야
- [0006] 본 발명은 암의 치료를 위해 PD-1 또는 PD-L1, 및 LAG-3에 결합하는 하나 이상의 항체-기반 분자 (예를 들어, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자)를 단독으로, 또는 중앙 항원 (TA) 에 결합하는 항체-기반 분자와 조합으로 투여하기 위한 양생법에 관한 것이다. 본 발명은 특히 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자와 함께 이러한 양생법의 사용에 관한 것이다. 본 발명은 이러한 분자의 사용, 및 이러한 분자를 함유하고 암 치료시 이러한 주입 양생법의 사용을 용이하게 하는 약학적 조성물 및 약학적 키트의 사용에 관한 것이다.

**배경 기술**

- [0007] I. 세포-매개된 면역 반응
- [0008] 항원에 대한 면역 반응을 최적으로 매개하는 T-세포의 능력은 2개의 별개의 신호전달 상호작용을 필요로 한다 (Viglietta, V. et al. (2007) "Modulating Co-Stimulation," Neurotherapeutics 4:666-675; Korman, A.J. et al. (2007) "Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy," Adv. Immunol. 90:297-339). 첫 번째로, 항원-제공 세포 (APC)의 표면 상에 배열된 항원은 항원-특이적 나이브(naive) CD4<sup>+</sup> T-세포에 제공되어야 한다. 이러한 제공은 T-세포 수용체 (TCR)를 통해 T-세포에게 제공된 항원에 특이적인 면역 반응을 시작하도록 지시하는 신호를 전달한다. 두 번째로, APC와 별개의 T-세포 표면 분자 사이의 상호작용을 통해 매개되는 일련의 자극 및 억제 신호는 먼저 T-세포의 활성화 및 증식을 촉발시키고 궁극적으로는 그것들의 억제를 촉발시킨다. 따라서, 첫 번째 신호는 면역 반응에 대한 특이성을 부여하는 반면에 두 번째 신호는 반응의 성질, 규모 및 기간을 결정하는 역할을 한다. 면역 반응은 종종 "면역 체크포인트(immune checkpoint)"라고 불리는 동시 자극 및 동시 억제 리간드 및 수용체에 의해 엄격하게 제어된다 (Chen et al., (2013) "Molecular Mechanisms of T Cell Co-Stimulation And Co-Inhibition," Nature Rev. Immunol. 13:227-242; Pardoll, D.M., (2012) "The Blockade Of Immune Checkpoints In Cancer Immunotherapy," Nat. Rev. Cancer 12(4):252-264). 이들 분자는 T-세포 활성화를 위한 두 번째 신호를 제공하고 감염 및 암에 대한 보호를 제공하기 위해 면역 반응을 조절하는 양성 및 음성 신호의 균형잡힌 네트워크를 제공한다. 하지만, 일부 암 세포는 T-세포가 지속적인 항원 및/또는 염증 신호에 노출되는 T-세포 탈진의 상태를 야기함으로써 면역 시스템에서 벗어날 수 있다 (Wherry E.J. (2010) "T Cell Exhaustion," Nat. Immunol. 12(6):492-499). T-세포 탈진에 수반되는 2개의 면역 체크포인트 분자, 예정된 사멸-1 ("PD-1") 및 림프구 활성화 유전자 3 ("LAG-3") (Wherry, J.E. (2015) "Molecular And Cellular

*Insights Into T Cell Exhaustion*," *Nat. Rev. Immunol.* 15(8):486-499)는 하기 더 상세히 기재된다.

[0009]

**II. 예정된 사멸-1 ("PD-1")**

[0010]

예정된 사멸-1 ("PD-1", "CD279"로도 알려져 있음)은 활성화된 T-세포, B-세포 및 단핵구의 표면 상에서 발현되는 면역 체크포인트 단백질이다. 그것은 면역 반응을 광범위하게 음성으로 조절하는 T-세포 조절자의 확장된 CD28/CTLA-4 패밀리의 대략 31 kD I형 막 단백질 구성원이다 (Ishida, Y. *et al.* (1992) "*Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death*," *EMBO J.* 11:3887-3895; 미국 특허 공개 번호 2007/0202100; 2008/0311117; 및 2009/00110667; 미국 특허 번호 6,808,710; 7,101,550; 7,488,802; 7,635,757; 및 7,722,868; PCT 공개 번호 WO 01/14557). PD-1은 막관통 단백질 리간드, 예정된 사멸-리간드 1 ("PD-L1", "B7-H1"으로도 알려져 있음) 및 예정된 사멸-리간드 2 ("PD-L2", "B7-DC"로도 알려져 있음)에 결합하여 면역 시스템의 억제를 매개한다 (Flies, D.B. *et al.* (2007) "*The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity*," *J. Immunother.* 30(3):251-260; 미국 특허 번호 6,803,192 및 7,794,710; 미국 특허 공개 번호 2005/0059051; 2009/0055944; 및 2009/0274666; 2009/0313687; PCT 공개 번호 WO 01/39722 및 WO 02/086083). 정상적인 상황에서 면역 체크포인트 단백질은 T 세포의 과활성화를 억제하기 위한 작용 표적의 역할을 하며, 따라서 자가면역 손상을 방지하는 작용을 한다. 하지만, 그것의 리간드가 종양 세포에 의해 발현될 때, 결합은 면역 시스템 세포가 종양에 접근하는 것을 방지하는 역할을 하며, 따라서 종양 세포를 인식하고 파괴하는 면역 시스템의 능력을 약화시킨다 (Tan, S. *et al.* (2020) "*Cancer Immunotherapy: Pros, Cons And Beyond*," *Biomed. Pharmacother.* 124:109821:1-11). 따라서, 종양 세포 상에서 PD-L1의 과발현은 종종 불량한 예후와 관련이 있다.

[0011]

T-세포 활성화 및 증식을 억제하는데 있어서 PD-1 리간드 상호작용의 역할은 이들 생체 분자가 염증 및 암의 치료를 위한 치료 표적의 역할을 할 수 있다는 것을 시사하였다. 따라서, 감염 및 종양을 치료하고 적응성 면역 반응을 상향 조절하기 위해 PD-1 및 그것의 리간드에 대한 항체를 사용하는 것이 제안되었다 (Chocarro de Erauso, L. (2020) "*Resistance to PD-L1/PD-1 Blockade Immunotherapy. A Tumor-Intrinsic or Tumor-Extrinsic Phenomenon?*," *Front. Pharmacol.* 11:441:1-13; Jiang, Y. *et al.* (2020) "*Progress and Challenges in Precise Treatment of Tumors With PD-1/PD-L1 Blockade*," *Front. Immunol.* 11:339:1-7; Han, Y. *et al.* (2020) "*PD-1/PD-L1 Pathway: Current Research In Cancer*," *Am. J. Cancer Res.* 10(3):727-742, 미국 특허 공개 번호 2010/0040614; 2010/0028330; 2004/0241745; 2008/0311117; 및 2009/0217401; 미국 특허 번호 7,521,051; 7,563,869; 및 7,595,048; PCT 공개 번호 WO 2004/056875 및 WO 2008/083174 참조). PD-1 및 PD-L1에 특이적으로 결합할 수 있는 항체가 보고되었다 (예를 들어, Agata, T. *et al.* (1996) "*Expression Of The PD-1 Antigen On The Surface Of Stimulated Mouse T And B Lymphocytes*," *Int. Immunol.* 8(5):765-772; 및 Berger, R. *et al.* (2008) "*Phase I Safety And Pharmacokinetic Study Of CT-011, A Humanized Antibody Interacting With PD-1, In Patients With Advanced Hematologic Malignancies*," *Clin. Cancer Res.* 14(10):3044-3051; 미국 특허 번호 8,008,449 및 8,552,154; 미국 특허 공개 번호 2007/0166281; 2012/0114648; 2012/0114649; 2013/0017199; 2013/0230514 및 2014/0044738; 및 PCT 특허 공개 번호 WO 2003/099196; WO 2004/004771; WO 2004/056875; WO 2004/072286; WO 2006/121168; WO 2007/005874; WO 2008/083174; WO 2009/014708; WO 2009/073533; WO 2012/135408, WO 2012/145549; 및 WO 2013/014668 참조).

[0012]

**III. 림프구 활성화 유전자 3 ("LAG-3")**

[0013]

림프구 활성화 유전자 3 ("LAG-3", "CD223"으로 알려져 있음)는 활성화된 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T-세포 및 NK 세포에 의해 발현되는 세포-표면 수용체 단백질이고, 형질세포양 수지상세포에 의해 구성적으로 발현되며; LAG-3은 B-세포, 단핵구 또는 테스트된 임의의 다른 세포 유형에 의해서는 발현되지 않는다 (Workman, C.J. *et al.* (2009) "*LAG-3 Regulates Plasmacytoid Dendritic Cell Homeostasis*," *J. Immunol.* 182(4):1885-1891).

[0014]

연구에서 LAG-3는 T-세포 증식, 기능 및 항상성을 음성으로 조절하는 것과 T-세포 탈진에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다 (Workman, C.J. *et al.* (2002) "*Cutting Edge: Molecular Analysis Of The Negative Regulatory Function Of Lymphocyte Activation Gene-3*," *J. Immunol.* 169:5392-5395; Workman, C.J. *et al.* (2003) "*The CD4-Related Molecule, LAG-3 (CD223) Regulates The Expansion Of Activated T-Cells*," *Eur. J. Immunol.* 33:970-979; Workman, C.J. (2005) "*Negative Regulation Of T-Cell Homeostasis By Lymphocyte Activation Gene-3 (CD223)*," *J. Immunol.* 174:688-695; Hannier, S. *et al.* (1998) "*CD3/TCR Complex-Associated Lymphocyte Activation Gene-3 Molecules Inhibit CD3/TCR Signaling*," *J. Immunol.* 161:4058-4065, Blackburn, S.D., *et al.* (2009) "*Coregulation of CD8+ T Cell Exhaustion By Multiple Inhibitory*

*Receptors During Chronic Viral Infection*" Nature Immunol. 10: 29-37).

[0015] 연구에서는 항체 차단을 통해 LAG-3 기능을 억제하는 것이 LAG-3-매개된 면역 시스템 억제를 반전시키고 효과기 기능을 부분적으로 회복시킬 수 있다는 것이 시사되었다 (Grosso, J.F. *et al.* (2009) "*Functionally Distinct LAG-3 and PD-1 부분집합s on Activated and Chronically Stimulated CD8 T-Cells*," J. Immunol. 182(11):6659-6669; Grosso, J.F. *et al.* (2007) "*LAG-3 Regulates CD8<sup>+</sup> T-Cell Accumulation And Effector Function During Self And Tumor Tolerance*," J. Clin. Invest. 117:3383-3392). LAG-3에 특이적으로 결합할 수 있는 항체가 보고되었다 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2014/140180, WO 2015/138920, WO 2015/116539, WO 2016/028672, WO 2016/126858, WO 2016/200782 및 WO 2017/015560 참조).

[0016] **IV. 이중특이적 분자**

[0017] 이중특이적 분자 (예를 들어, 이중특이적 항체, 이중특이적 디아바디, 등)의 공급은 단일특이적인 천연 항체보다 상당한 이점을 제공한다: 상이한 에피토프를 발현하는 세포를 동시-결찰하고 동시-국소화하는 능력. 따라서 이중특이적 분자는 요법을 포함하는 광범위한 용도를 갖는다. 이중특이성은 다양한 용도에서 디자인 및 조작에 있어 큰 유연성을 허용하여, 멀티머 항원에 대한 향상된 결합성, 상이한 항원의 교차-결합, 및 두 표적 항원 모두의 존재에 의존하는 특이적 세포 유형에 대한 유도된 표적화를 제공한다. 암 및/또는 병원체와 관련된 질환의 치료에 사용하기 위한 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 PCT 공개 번호 WO 2015/200119, WO 2017/025498, WO 2018/083087, WO 2018/185043, WO 2018/134279, 및 WO 2018/217940에 기재되어 있다. 특히, 신규한 PD-1-결합 도메인 및 LAG-3-결합 도메인 및 예시의 활성을 가진 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 WO 2017/019846에 기재되어 있다.

[0018] **V. 종양 항원**

[0019] 종양 항원 ("TA")은 종양 세포에만 존재하고 임의의 다른 세포에는 존재하지 않거나 (즉, 종양-특이적 항원) 또는 종양 세포에 특징적으로 존재하지만, 특정 일반 세포에도 존재하는 (즉, 종양-관련된 항원) 세포 막 단백질을 포함한다. 종양 항원은 항체에 의해 표적화되고 면역 시스템의 세포를 자극하여 종양 탈출을 극복하고, 종양 감시 및 클리어런스(clearance)에서 새로운 역할을 하는데 사용될 수 있다 (Tan, S. *et al.* (2020) "*Cancer Immunotherapy: Pros, Cons And Beyond*," Biomed. Pharmacother. 124:109821:1-11; Finn, O.J. (2017) "*Human Tumor Antigens Yesterday, Today, and Tomorrow*," Cancer Immunol. Res. 5(5):347-354; Barros, L. *et al.* (2018) "*Immunological-Based Approaches For Cancer Therapy*," Clinics 73(suppl 1):e429s:1-11; Smith, C.C. *et al.* (2019) "*Alternative Tumour-Specific Antigens*," Nat. Rev. Cancer 19(8):465-478; Ehx, G. *et al.* (2019) "*Discovery And Characterization Of Actionable Tumor Antigens*," Genome Med. 11:29:1-3).

**발명의 내용**

[0020] 신체의 면역 시스템이 암 세포를 공격하도록 더 활발하게 지시할 수 있는 양생법이 본원에서 제공된다. 적응성 면역 시스템은 암 및 질환에 대한 강력한 방어 메커니즘일 수 있지만, 그것은 종종 PD-1/PD-L1 상호작용 또는 LAG-3의 억제 활성에 의해 매개되는, 종양 미세 환경에서의 면역 억제/회피 메커니즘에 의해 방해된다. 본원에서 제공된 바와 같이, 이러한 면역 억제/회피 메커니즘은 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여에 의해 극복될 수 있다. 본원에서 추가로 제공된 바와 같이, PD/PD-L1 및 LAG-3 체크포인트 경로의 이중 체크포인트 억제는 TA-결합 분자 (특히 향상된 ADCC 활성을 가진 것)의 항-종양 활성과 시너지 작용할 수 있다.

[0021] 본 발명은 암의 치료를 위해 단독으로, 또는 종양 항원 (TA)에 결합하는 항체-기반 분자와 조합으로 PD-1 또는 PD-L1, 및 LAG-3에 결합하는 하나 이상의 항체-기반 분자 (예를 들어, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자)를 투여하기 위한 양생법에 관한 것이다. 본 발명은 특히 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자와 함께 이러한 양생법을 사용하는 것과 관련이 있다. 본 발명은 이러한 분자의 사용, 및 이러한 분자를 함유하고 암의 치료시 이러한 주입 양생법의 사용을 용이하게 하는 약학적 조성물 및 약학적 키트의 사용과 관련이 있다.

[0022] 본 발명은 특히 필요로 하는 대상체에게 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법과 관련이 있으며, 방법은 대상체에게 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 약 120 mg 내지 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여하는 단계를 포함한다.

[0023] 본 발명은 추가적으로 이러한 방법의 구체예와 관련이 있으며, 암은 종양 항원 (TA)의 발현을 특징으로 하고, 방법은 대상체에게 종양 항원 (TA) 결합 분자 (TA-결합 분자)를 투여하는 단계를 더 포함한다.

- [0024] 본 발명은 대상체에서 암을 치료하는 방법과 더 관련이 있으며, 암은 TA의 발현을 특징으로 하고, 방법은 대상체에게 TA-결합 분자 및 다음을 투여하는 단계를 포함한다:
- [0025] (a) 이중특이적 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는
- [0026] (b) LAG-3에 면역특이적으로 결합하는 분자 (LAG-3-결합 분자)와 조합된, PD-1에 면역특이적으로 결합하는 분자 (PD-1-결합 분자); 또는
- [0027] (c) PD-L1 및 LAG-3 둘 다에 면역특이적으로 결합하는 이중특이적 분자 (PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자); 또는
- [0028] (d) LAG-3-결합 분자와 조합된, PD-L1에 면역특이적으로 결합하는 분자 (PD-L1-결합 분자).
- [0029] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, TA-결합 분자는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함한다.
- [0030] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며,
- [0031] (a) 각각의 분자는 별개의 조성물 내에 있거나; 또는
- [0032] (b) 각각의 분자는 동일한 조성물 내에 있거나; 또는
- [0033] (c) PD-1-결합 분자 및 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고, TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있거나; 또는
- [0034] (d) PD-L1-결합 분자 및 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고, TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있다. 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, TA-결합 분자는 항체이다.
- [0035] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1-결합 분자는 항체이고, PD-L1-결합 분자는 항체이고, LAG-3-결합 분자는 항체이다.
- [0036] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 방법은 TA-결합 분자 및 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0037] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, ADCC-향상된 Fc 도메인은 다음을 포함한다:
- [0038] (A) 조작된 글리코폼(glycoform); 및/또는
- [0039] (B) 야생형 Fc 영역에 대한 아미노산 치환.
- [0040] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, ADCC-향상된 Fc 도메인은
- [0041] (A) 푸코스를 함유하지 않고, 및/또는 이등분 O-GlcNAc를 포함하는 복합 N-글리코시드-연결된 당 사슬인 조작된 글리코폼을 포함하고; 및/또는
- [0042] (B) (a) F243L, R292P, Y300L, V305I, I332E, 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 치환;
- [0043] (b) (1) F243L 및 P396L;
- [0044] (2) F243L 및 R292P;
- [0045] (3) R292P 및 V305I; 및
- [0046] (4) S239D 및 I332E로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 치환;
- [0047] (c) (1) F243L, R292P 및 Y300L;
- [0048] (2) F243L, R292P 및 V305I;
- [0049] (3) F243L, R292P 및 P396L; 및
- [0050] (4) R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 3개의 치환;
- [0051] (d) (1) F243L, R292P, Y300L 및 P396L; 및
- [0052] (2) F243L, R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 4개의 치환; 또는
- [0053] (e) (1) F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P396L; 및

- [0054] (2) L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 5개의 치환으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환을 포함하며,
- [0055] 넘버링(numbering)은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0056] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, ADCC-향상된 Fc 도메인은 아미노산 치환, L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L을 포함하고, 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다
- [0057] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며,
- [0058] (A) TA는 **6A 또는 표 6B**로부터 선택되고; 및/또는
- [0059] (B) TA-결합 분자는 **표 7**로부터 선택된 항체의 VL 및 VH 도메인을 포함한다.
- [0060] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며,
- [0061] (A) PD-1-결합 분자는
- [0062] (a) **서열 번호: 35**의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 **서열 번호: 39**의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VH 도메인;
- [0063] (b) **표 1**로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0064] (c) **표 1**로부터 선택된 항-PD-1 항체의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체이고;
- [0065] (B) PD-L1-결합 분자는
- [0066] (a) **서열 번호: 43**의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VL 도메인, 및 **서열 번호: 47**의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VH 도메인;
- [0067] (b) **표 2**로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0068] (c) **표 2**로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체이고;
- [0069] (C) LAG-3-결합 분자는
- [0070] (a) **서열 번호: 51**의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 **서열 번호: 55**의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인;
- [0071] (b) **표 3**으로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0072] (c) **표 3**으로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 경쇄 및 중쇄를 포함하는 항체이다.
- [0073] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는
- [0074] (a) **서열 번호: 35**의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 **서열 번호: 39**의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VH 도메인, 또는 **표 1**로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 및/또는
- [0075] (b) **서열 번호: 51**의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 **서열 번호: 55**의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인, 또는 **표 3**으로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0076] (c) **표 4-5**로부터 선택된 이중특이적 항체-기반 분자를 포함한다.
- [0077] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는
- [0078] (a) PD-1-결합 도메인 중 2개; 및
- [0079] (b) LAG-3-결합 도메인 중 2개를 포함한다.
- [0080] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 **서열 번호: 35**의 PD-1 VL 도메인, **서열 번호: 39**의 PD-1 VH 도메인, **서열 번호: 51**의 LAG-3 VL 도메인, 및 **서열 번호: 55**의 LAG-3 VH 도메인을 포함한다.
- [0081] 본 발명은 추가적으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자가 Fc 영역 및 힌지 (Hinge) 도메인을 포함하는 상기 기재된 방법의 구체예, 및 Fc 영역 및 힌지 도메인이 둘 다 IgG4 아이소타입 (isotype)이고, 힌지 도메인이 안정화 돌연변이를 포함하는 구체예와 관련이 있다.

- [0082] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, Fc 영역은
- [0083] (a) Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 변형; 및/또는
- [0084] (b) 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 변이체 Fc 영역이다.
- [0085] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며,
- [0086] (a) Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 변형은 L234A; L235A; 또는 L234A 및 L235A의 치환을 포함하고;
- [0087] (b) 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 변형은 M252Y; M252Y 및 S254T; M252Y 및 T256E; M252Y, S254T 및 T256E; 또는 K288D 및 H435K의 치환을 포함하고,
- [0088] 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0089] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 **서열 번호: 59**의 2개의 폴리펩타이드 사슬 및 **서열 번호: 60**의 2개의 폴리펩타이드 사슬을 포함한다.
- [0090] 본 발명은 추가적으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자가 약 300 mg의 일정한 용량으로 투여되는 상기 기재된 방법의 구체예, 및 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자가 약 600 mg의 일정한 용량으로 투여되는 구체예와 관련이 있다.
- [0091] 본 발명은 추가적으로 일정한 용량이 약 2주마다 1회 투여되는 상기 기재된 방법의 구체예, 및 일정한 용량이 약 3주마다 1회 투여되는 구체예와 관련이 있다.
- [0092] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 2주마다 1회 투여된다.
- [0093] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0094] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여된다.
- [0095] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 암은 부신암, AIDS-관련된 암, 포상 연부육종, 항문암 (항문관의 편평 세포 암종 (squamous cell carcinoma of the anal canal: SCAC) 포함), 방광암, 골암, 뇌암 및 척수암, 유방암 (HER2<sup>+</sup> 유방암 또는 삼중 음성 유방암 (Triple-Negative Breast Cancer: TNBC) 포함), 경동맥체 종양, 자궁경부암 (HPV-관련된 자궁경부암 포함), 연골육종, 척색종, 난염성 신장 세포 암종, 투명 세포 암종, 결장암, 결장직장암, 결합조직성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 자궁내막암 (비선택 자궁내막암, 고빈도 MSI 자궁내막암, dMMR 자궁내막암, 및/또는 POLE 엑소뉴클레아제 도메인 돌연변이 양성 자궁내막암 포함), 윙 육종(Ewing's sarcoma), 골의 점액성 연골육종, 담낭암 또는 담관암 (담관암종 담관암 포함), 위암, 위 식도 접합부 (GEJ) 암, 임신성 영양막 질환, 생식 세포 종양, 교아종, 두경부암 (두경부의 편평 세포 암종 (squamous cell carcinoma of head and neck: SCCHN) 포함), 혈액학적 악성 종양, 간세포 암종, 섬 세포 종양, 카포시 육종(Kaposi's Sarcoma), 신장암, 백혈병 (급성 골수성 백혈병 포함), 지방육종/악성 지방종성 종양, 간암 (간세포 암종 간암 (HCC) 포함), 림프종 (미만성 거대 B-세포 림프종 (diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL), 비-호지킨 림프종 (non-Hodgkin's lymphoma: NHL) 포함), 폐암 (소세포 폐암 (small cell lung cancer: SCLC), 비-소세포 폐암 (non-small cell lung cancer: NSCLC) 포함), 수모세포종, 흑색종 (포도막 흑색종 포함), 수막종, 메르켈 세포 암종(Merkel cell carcinoma), 중피종 (중피성 인두암 포함), 다발성 내분비선 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경아세포종, 신경 내분비 종양, 난소암, 췌장암, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아 암, 말초 신경집 종양, 인두암, 크롬 친화성 세포종, 뇌하수체 종양, 전립선 암 (전이성 거세저항성 전립선암 (metastatic castration resistant prostate cancer: mCRPC) 포함), 후부 포도막 흑색종, 전이성 신장암, 간상소체 종양, 횡문근육종, 육종, 피부암, 아동기 소원형 과란 세포 종양 (신경아세포종 및 횡문근육종 포함), 연조직 육종, 편평 세포 암, 위암, 활막육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선암, 및 자궁암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0096] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 암은 항문암, 유방암, 담관암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막암, 위암, GEJ 암, 두경부암, 간암, 폐암, 림프종, 흑색종, 난소암 및 전립선암으로 이루어

어진 군으로부터 선택된다.

- [0097] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 암은 HER2<sup>+</sup> 유방암, TNBC, 담관암종, 담관암, HPV-관련된 자궁경부암, SCCHN, HCC, SCLC 또는 NSCLC, NHL, 전립선암, 위암 및 GEJ 암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0098] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>) 및 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)을 포함하는 HER2-결합 도메인을 포함하는 HER2-결합 분자이고;
- [0099] (A) 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 서열 번호: 61의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 마르케특시맵의 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 및 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 서열 번호: 66의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 마르케특시맵의 중쇄 가변 도메인을 포함하거나;
- [0100] (B) 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맵의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맵의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나;
- [0101] (C) 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맵의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맵의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나; 또는
- [0102] (D) 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함한다.
- [0103] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, HER2-결합 분자는 항-HER2 항체이다.
- [0104] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 항-HER2 항체는 마르케특시맵이고, 방법은 마르케특시맵을 약 6 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여하는 단계를 포함한다.
- [0105] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 방법은 화학치료를 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0106] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 암은 HER2 발현 암이며, 특히, HER2 발현 암은 유방암, 전이성 유방암, 방광암, 위암, GEJ 암, 난소암, 췌장암, 및 위암으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0107] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는 B7-H3-결합 도메인을 포함하는 B7-H3-결합 분자이고, 여기서
- [0108] VL은 서열 번호: 71의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고, VH는 서열 번호: 76의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함한다.
- [0109] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, TA-결합 분자는 에노블리투주맵이고 방법은 에노블리투주맵을 약 6 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여하는 단계를 포함한다.
- [0110] 제2 항 내지 제33 항, 제40 항 또는 제41 항 중 어느 한 항의 방법으로서, 암은 B7-H3 발현 암이며, 특히 B7-H3 발현 암은 항문암, SCAC, 유방암, TNBC, 두경부암, SCCHN, 폐암, NSCLC, 흑색종, 포도막 흑색종, 전립선암, 및 mCRPC로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0111] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, TA-결합 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여된다.
- [0112] 본 발명은 추가적으로 LAG-3를 발현하는 세포가 치료 전 암의 생검에 존재하는 상기 기재된 방법의 구체예, 미 PD-1을 발현하는 세포가 치료 전 암의 생검에 존재하는 구체예와 관련이 있다.
- [0113] 본 발명은 추가적으로 치료 전 암의 생검에서 LAG-3 및 PD-1의 동시-발현이 이러한 환자가 이러한 방법에 대한 후보임을 나타내는 상기 기재된 방법의 구체예, 및 발현이 유전자 발현인 구체예와 관련이 있다.
- [0114] 본 발명은 추가적으로 상기 기재된 방법의 구체예와 관련이 있으며, 치료 전 암의 세포의 표면 상에서의 PD-L1 발현은 복합 양성 점수 (Combined Positive Score: CPS) 또는 종양 비율 점수 (Tumor Proportion Score: TPS)

를 사용하여 결정될 때 1% 미만이다.

**도면의 간단한 설명**

[0115]

**도 1**은 폴리펩타이드 사슬의 2개의 쌍 (즉, 총 4개의 폴리펩타이드 사슬)으로 구성된 4개의 에피토프-결합 부위를 가진 대표적인 공유 결합된 4가 디아바드를 나타내는 개략도를 제공한다. 각각의 쌍의 하나의 폴리펩타이드는 E-코일 헤테로다이머-촉진 도메인을 갖고 각각의 쌍의 다른 폴리펩타이드는 K-코일 헤테로다이머-촉진 도메인을 갖는다. 나타난 바와 같이, 시스테인 잔기는 링커 및/또는 헤테로다이머-촉진 도메인에 존재할 수 있다. 각각의 쌍의 하나의 폴리펩타이드는 시스테인을 포함하는 링커 (이 링커는 힌지 영역의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다) 및 CH2 및/또는 CH3 도메인을 소유하며, 이로써 회합된 사슬은 Fc 영역의 전부 또는 일부를 형성한다. 동일한 에피토프를 인식하는 VL 및 VH 도메인은 동일한 명암(shading) 또는 충전 패턴을 사용하여 나타난다. 폴리펩타이드 사슬의 2개의 쌍은 같은 것이고 VL 및 VH 도메인이 상이한 에피토프를 인식하는 (나타난 바와 같이) 이러한 구체예에서, 결과로 생성된 분자는 4개의 에피토프-결합 부위를 소유하고 각각의 결합된 에피토프에 관하여 이중특이적이고 2가이다. 대안으로, 폴리펩타이드의 2개의 쌍이 상이할 수 있고 폴리펩타이드의 각각의 쌍의 VL 및 VH 도메인이 상이한 에피토프를 인식하는 이러한 구체예에서, 결과로 생성된 분자는 4개의 에피토프-결합 부위를 소유하고 각각의 결합된 에피토프에 관하여 사중특이적이고 1가이다.

**도 2**는 1 mg 내지 1200 mg의 용량 범위에 걸쳐 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, DART-I의 관찰된 PK 프로파일 및 모델-맞춤형 PK 프로파일을 나타낸다. 부호는 개개의 환자에서 관찰된 데이터를 나타내고 실선은 용량 군에 대한 모델-맞춤형 중간값 곡선을 나타낸다. 수평 점선은 다른 PD-1 표적화 작용제를 이용한 임상 실험에 기초하여 표적 임계치 농도를 나타낸다.

**도 3A-3D**는 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, DART-I의 투여가 끝날 때 및 상기 주기의 다음 용량의 투여 전에 주기 1 (**도 3A 및 3B**) 또는 주기 2 (**도 3C 및 3D**)의 제1 일에 DART-I에 의한 CD4+ 세포 (**도 3A 및 3C**) 및 CD8+ 세포 (**도 3B 및 3D**)의 평균 (SD) 퍼센트 수용체 점유율 (RO)을 플롯팅한다(plot). EOI = 주기 1 또는 주기 2의 최초 용량의 투여 후 주입의 끝. PRE = 주기 1 또는 주기 2의 다음 용량의 투여 전 사전 용량. 없어진 오차 막대는 N=1인 것을 나타낸다.

**도 4A-4C**는 Q2W (**도 4A**), Q3W (**도 4B**), 및 Q4W (**도 3C**) 양생법을 사용하여, 400, 600, 800, 1000, 및 1200 mg 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, DART-I의 투여에 대해 자극된 다회수 용량 중간값 PK 프로파일을 나타낸다. 상단 수평 점선은 다른 PD-1 표적화 작용제를 이용한 임상 실험에 기초하여 23 µg/mL의 표적 임계치 트로프(trough) 농도를 나타내며, 중간 수평 점선은 RO EC<sub>50</sub> x 100을 나타내고, 바닥 수평 점선은 RO EC<sub>50</sub> x 10을 나타낸다.

**도 5**는 종양 유형에 의해 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, DART-I으로 처리된 반응-평가 가능한 코호트(cohort) 확장 환자 중에서 표적 병변의 감소 퍼센트의 폭포 플롯(waterfall plot)을 제공한다 (베이스라인으로부터의 % 변화로서 플롯팅됨).

**도 6A-6E**는 소급적(retrospective) 면역조직화학 검정으로부터의 LAG-3 및 PD-L1 점수를 플롯팅한다. TNBC, EOC, 및 NSCLC 코호트로부터의 개개의 환자의 LAG-3 (**도 6A**) 및 PD-L1 (**도 6B**) 점수는 높은 것에서 낮은 것의 순서로 플롯팅된다. TNBC, EOC, 및 NSCLC 코호트로부터의 합계 LAG-3 점수는 임상 반응에 의해 플롯팅된다 (**도 6C**). DLBCL 코호트로부터의 개개의 환자의 LAG-3 (**도 6D**) 점수는 높은 것에서 낮은 것의 순서로 플롯팅되고, PD-L1 점수는 아래 제공된다. DLBCL 코호트로부터의 합계 LAG-3 점수는 임상 반응에 의해 플롯팅된다 (**도 6E**). PR=부분적 반응; SD=안정한 질환; PD=진행성 질환; CR=완전한 반응.

**도 7**은 소급적 NanoString PanCancer IO 360™ 검정으로부터 LAG-3 vs PD-1 (PDCD1)의 유전자 발현을 플롯팅한다. 암 유형은 다음과 같이 나타난다: 원 (●) = NSCLC; 다이아몬드 (◆) = P-NSCLC; 삼각형 (▲) = EOC; 및 정사각형 (■) = TNBC. 임상 반응은 다음과 같이 나타난다: "R" = 반응자 (부분적 반응); "P" = 진행성 질환; "S" = 안정한 질환; 부호 단독은 미지/미결정을 나타낸다.

**도 8**는 소급적 NanoString PanCancer IO 360™ 검정으로부터의 IFN-γ Gene Signature 점수를 플롯팅한다 (PR - 부분적 반응; SD - 안정한 질환; PD - 진행성 질환). 암 유형은 다음과 같이 나타난다: 원 (●) = NSCLC; 다이아몬드 (◆) = P-NSCLC; 삼각형 (▲) = EOC; 및 정사각형 (■) = TNBC.

**도 9**은 ADCC-향상된 Fc 도메인 또는 야생형 Fc 도메인을 가진 TA-결합 분자에 대한 노출에 의해 조절되는 NK 세포의 표면 상에서 체크포인트 분자의 발현의 변화의 비교를 제공한다. 각각 0.005 µg/ml 또는 0.05 µg/ml로

완충액 (-), 마르케특시맵 (ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 항-HER2 항체), 또는 르트라스투주맵(rtrastuzumab) (야생형 Fc 도메인을 가진 항-HER2)의 존재시 N87 HER2+ 표적 세포와 함께 인큐베이션된 PBMC로부터의 NK 세포 상에서 CD137 (상단 열), LAG-3 (제2 열), PD-1 (제3 열), 및 PD-L1 (바닥 열)의 발현의 유동 세포 분석. 양성 세포의 퍼센트 (박스 내)가 표시된다.

**도 10**은 ADCC-향상된 Fc 도메인 또는 야생형 Fc 도메인을 가진 TA-결합 분자에 대한 노출에 의해 사전 조절되는 PBMC의 세포독성을 나타낸다. 대체로 마르케특시맵 0.005 µg/ml 또는 0.05 µg/ml (개방 및 폐쇄 정사각형), 르트라스투주맵 0.005 µg/ml 또는 0.05 µg/ml (개방 및 폐쇄 삼각형), 완충액 (폐쇄 원)으로 사전 조절된 NK 세포에 의해 매개되는 K562 표적 세포에 대한 세포독성 곡선이 플롯팅된다.

**도 11**은 ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 TA-결합 분자에 대한 노출에 의해 조절되는 NK 세포, 단핵구, CD4<sup>+</sup>, 및 CD8<sup>+</sup> T 세포의 표면 상에서의 체크포인트 분자의 발현의 변화의 비교를 제공한다. 각각 µg/ml 또는 0.5 µg/ml 로 마르케특시맵 (ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 항-HER2 항체), 또는 대조군 항체의 존재시 N87 HER2+ 표적 세포와 함께 인큐베이션된 PBMC에 존재하는 상이한 면역 세포 유형에서 LAG-3 (상단 열), PD-1 (제2 열), PD-L1 (제3 열), 및 CD137 (바닥 열)의 발현의 유동 세포 분석. 양성 세포의 퍼센트 (박스 내)가 표시된다.

**도 12**는 항-PD-1 항체 (레티판리맵) 또는 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자 (DART-I)의 존재 또는 부재시, K562 표적 세포에 대한, ADCC-향상된 Fc 도메인 (마르케특시맵) 또는 야생형 Fc 도메인 (르트라스투주맵)을 가진 TA-결합 분자로 사전 조절된 PBMC의 세포독성 (대체로 NK 세포에 의해 매개되는 세포독성)을 나타낸다.

**도 13**은 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자 (DART-I)의 존재 또는 부재시, K562 (HER2 음성) 또는 N87 (HER2<sup>+++</sup>) 표적 세포에 대한, ADCC-향상된 TA-결합 분자 (마르케특시맵) 또는 대조군으로 사전 조절된 PBMC의 세포독성 (대체로 NK 세포에 의해 매개되는 세포독성)을 나타낸다.

**도 14**은 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, DART-I, 및 ADCC-향상된 TA-결합 분자, 마르케특시맵으로 처리된 28명의 평가 가능한 환자에 대한 예비 임상 결과의 폭포 플롯을 나타낸다. 종양 유형이 표시되어 있다. 단색 막대는 600 mg DART-I + 15 mg mg/kg을 받은 환자에서의 반응을 나타내고; 줄무늬 막대는 DART-I + 15 mg/kg 300 mg을 받은 환자에서의 반응을 나타낸다.

**도 15A-15C**는 마르케특시맵 및 DART-I로 처리된 코호트에서 19개의 베이스라인 생검 샘플로부터의 LAG3 및 PD-1 (PDCD1)의 베이스라인 유전자 발현을 플롯팅한다. 베이스라인에서의 이중 LAG3/PDCD1 발현은 **도 15A**에서 플롯팅된다. 표적 병변(들)에서의 % 변화에 대한 베이스라인에서의 LAG-3 (**도 15B**) 및 PDCD1 (**도 15C**) 발현이 플롯팅된다. CR = 완전한 반응; PR = 부분적 반응; SD = 안정한 질환; PD = 진행성 질환.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0116] 본 발명은 암 치료를 위해 단독으로, 또는 종양 항원 (TA)에 결합하는 항체-기반 분자와 조합으로 PD-1 또는 PD-L1, 및 LAG-3에 결합하는 항체-기반 분자 (예를 들어, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자) 중 하나 이상을 투여하기 위한 양생법에 관한 것이다. 본 발명은 특히 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자와 함께 이러한 양생법의 사용과 관련이 있다. 본 발명은 이러한 분자의 사용, 및 이러한 분자를 함유하고 암 치료시 이러한 주입 양생법의 사용을 용이하게 하는 약학적 조성물 및 약학적 키트의 사용에 관한 것이다.

[0117] **I. 항체 및 항체-기반 분자**

[0118] 항체는 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 "에피토프-결합 도메인"을 통해 분자의 표적 영역 ("에피토프") (예컨대 종양 항원 ("TA")의 에피토프, PD-1의 에피토프, PD-L1의 에피토프, 또는 LAG-3의 에피토프)에 면역특이적으로 결합할 수 있는 에피토프-결합 도메인을 함유하는 면역글로불린 분자이다. 이러한 분자는 임의의 아이소타입 분류 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 분류 (예를 들어, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> 및 IgA<sub>2</sub>) 또는 하위분류일 수 있다.

[0119] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체" 및 "항체들"은 단클론성 항체, 다중특이적 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 합성 항체, 키메라 항체, 다클론성 항체, 및 카멜화된 항체(camelized)를 포함하도록 의도된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체-기반 분자"는 완전하거나 온전한 항체 분자와 완전하거나 온전한 항체는 아니지만, 항체의 에피토프-결합 도메인을 포함하는 분자 (예를 들어, 단일 사슬 Fv (scFv), 단일 사슬 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, 이황화물-연결된 이중특이적 Fv (sdFv), 인트라바디, 디아바디, 항체의 VL, VH 또는 VL 및 VH

도메인을 포함하는 분자 및 항체의 경쇄 CDR 도메인 중 1, 2 또는 3개, 항체의 중쇄 CDR 도메인 중 1, 2 또는 3개, 항체의 경쇄 및 중쇄 CDR 도메인 중 임의의 1, 2, 3, 4, 또는 5개, 또는 항체의 경쇄 및 중쇄 CDR 도메인의 6개 모두를 포함하는 분자) 둘 다를 나타내도록 의도된다. 이러한 항체-기반 분자는 추가적인 구성요소, 예를 들어, 펩타이드 링커, 다이머화 도메인, 등을 포함하는 융합 단백질일 수도 있다.

[0120] 본 발명의 항체-기반 분자는 이러한 에피토프-결합 도메인(들)의 존재로 인해 에피토프에 "면역특이적으로 결합"할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 항체 또는 그것의 에피토프-결합 단편은 또 다른 분자의 영역(즉, 에피토프)과, 대안의 에피토프(예를 들어, 1, 2, 3개 또는 3개 초과와 아미노산 치환을 함유하는 변이체 에피토프, 또는 50% 미만의 동일성을 갖거나 무관한 폴리펩타이드)에 비해 더 빈번하고, 더 빠르고, 더 긴 기간 및/또는 더 큰 친화도 또는 결합성으로 반응하거나 회합하면 상기 에피토프에 "면역특이적으로" 결합한다고 한다. 이 정의를 읽음으로써, 예를 들어, 제1 표적에 면역특이적으로 결합하는 항체-기반 분자가 제2 표적에 면역특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수 있거나 결합하지 않을 수도 있다는 것이 이해된다. 에피토프-함유 분자는 면역원성 활성을 가질 수도 있으며, 이로써 동물에서 항체 생산 반응을 유도하고; 이러한 분자는 "항원"이라고 불린다.

[0121] 천연 항체는 단 하나의 에피토프 종에 결합할 수 있지만(즉, 그것들은 "단일특이적"이다), 그것들은 상기 종의 다수의 카피에 결합할 수 있다(즉, "2가" 또는 "다원자가"를 나타냄). 이 점에 있어서, 자연 발생한 완전한 또는 온전한 IgG 항체의 기본 구조 단위는 4개의 조립된 폴리펩타이드 사슬로 구성된 테트라머이다: 2개의 더 긴 "중쇄"와 복합체를 형성한 2개의 더 짧은 "경쇄". 각각의 폴리펩타이드 사슬은 "가변 도메인"을 포함하는 아미노-말단("N-말단") 부분 및 적어도 하나의 "불변 도메인"을 포함하는 카르복시-말단("C-말단") 부분으로 구성된다. IgG 경쇄는 단일 "경쇄 가변 도메인"("VL") 및 단일 "경쇄 불변 도메인"("CL")으로 구성된다. 따라서, IgG 항체의 경쇄의 구조는 n-VL-CL-c이다(여기서 n 및 c는 각각 폴리펩타이드 사슬의 N-말단 및 C-말단을 나타낸다). IgG 중쇄는 단일 "중쇄 가변 도메인"("VH"), 3개의 "중쇄 불변 도메인"("CH1," "CH2" 및 "CH3"), 및 CH1과 CH2 도메인 사이에 위치한 "힌지" 영역("H")으로 구성된다. 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에서 기재된 단백질 분자의 도메인의 순서는 N-말단에서 C-말단 방향이다. 따라서, IgG 중쇄의 구조는 n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c이다(여기서 n 및 c는 각각 폴리펩타이드의 N-말단 및 C-말단이다). 온전하고 변형되지 않은 항체(예를 들어, IgG 항체)가 항원의 에피토프에 결합할 수 있는 능력은 가변 도메인의 존재 및 서열에 의존적이다.

[0122] A. 불변 도메인

[0123] 1. 경쇄 불변 도메인

[0124] 하나의 CL 도메인은 인간 IgG CL 카파 도메인이다. 대표적인 인간 CL 카파 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다(서열 번호: 1):

[0125] RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG  
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK  
SFNRGEC

[0126] 또 다른 CL 도메인은 인간 IgG CL 람다 도메인이다. 대표적인 인간 CL 람다 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다(서열 번호: 2):

[0127] QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA  
GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

[0128] 2. 중쇄 CH1 도메인

[0129] 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG1 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG1 CH1 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다(서열 번호: 3):

[0130] ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV  
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

[0131] 또 다른 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG2 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG2 CH1 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다(서열 번호: 4):

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV  
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTV

[0132]

[0133] 또 다른 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG3 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG3 CH1 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 5):

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV  
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHNKPS NTKVDKRV

[0134]

[0135] 또 다른 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG4 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG4 CH1 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 6):

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV  
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRV

[0136]

[0137] **3. 중쇄 힌지 영역**

[0138] 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG1 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG1 힌지 영역의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 7):

EPKSCDKTHT CPPCP

[0139]

[0140] 또 다른 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG2 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG2 힌지 영역의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 8):

ERKCCVECPP CP

[0141]

[0142] 또 다른 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG3 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG3 힌지 영역의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 9):

ELKTPPLGDTT HTCPRCPEPK SCDTPPPCPR CPEPKSCDTP PPCPRCPEPK  
SCDTPPPCPR CP

[0143]

[0144] 또 다른 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG4 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG4 힌지 영역의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 10):

ESKYGPPCPS CP

[0145]

[0146] 본원에서 기재된 바와 같이, IgG4 힌지 영역은 안정화 돌연변이, 예컨대 S228P 치환 (Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링됨)을 포함할 수 있다. 특정 안정화된 IgG4 힌지 영역의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 11):

ESKYGPPCPP CP

[0147]

[0148] **4. 중쇄 CH2 및 CH3 도메인 및 Fc 도메인**

[0149] 2개의 중쇄의 CH2 및 CH3 도메인은 상호작용하여, 제한되는 것은 아니지만, Fc 감마 수용체 (FcγR)를 포함하는 세포 Fc 수용체에 의해 인식되는 IgG 항체의 "Fc 영역"을 형성한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "Fc 영역"은 IgG 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. Fc 영역의 일부 (전체 Fc 영역을 포함하는 일부를 포함함)는 본원에서 "Fc 도메인"이라고 불린다. Fc 도메인은 그 아미노산 서열이 다른 IgG 아이소타입에 비해 특정 아이소타입에 대해 가장 상동성이면 상기 IgG 아이소타입, 분류 또는 하위분류의 것이지만, 상이한 아이소타입의 일부를 포함하는 하이브리드(hybrid) Fc 도메인이 고려된다.

[0150] 대표적인 인간 IgG1의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 12):

```

231      240      250      260      270      280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD

      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

      340      350      360      370      380
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

      440      447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
    
```

[0151]

[0152] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0153] 대표적인 인간 IgG2의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 13):

```

231      240      250      260      270      280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD

      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA

      340      350      360      370      380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE

      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

      440      447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
    
```

[0154]

[0155] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0156] 대표적인 인간 IgG3의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 14):

```

231      240      250      260      270      280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD

      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

      340      350      360      370      380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

      390      400      410      420      430
WESSGQPENN YNTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE

      440      447
ALHNRFTQKS LSLSPGX
    
```

[0157]

[0158] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0159] 대표적인 인간 IgG4의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 15):

```

231      240      250      260      270      280
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD

      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS

      340      350      360      370      380
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTPPVLDL DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE

      440      447
ALHNHYTQKS LSLSLGX
    
```

[0160]

[0161] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0162] 본 명세서 전반에 걸쳐, IgG 중쇄의 불변 영역에서 잔기의 넘버링은 Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5<sup>th</sup> Ed. Public Health Service, NIH, MD (1991)에서와 같이 EU 지수의 넘버링이며, 명확하게 본원에 참조로 포함된다. 용어 "Kabat에서와 같은 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 넘버링을 나타낸다.

[0163] 항체 불변 영역 내의 많은 상이한 위치 (예를 들어, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 제한되는 것은 아니지만, 위치 192, 193, 및 214를 포함하는 CH1 위치; 제한되는 것은 아니지만, 위치 270, 272, 312, 315, 356, 및 358을 포함하는 Fc 위치)에서 다형성이 관찰되었으며, 따라서 제공된 서열과 선행 기술의 서열의 약간의 차이가 존재할 수 있다. 인간 면역글로불린의 다형성 형태는 잘 특성화되어 있다. 현재는, 18개의 Gm 알로타입(allo type)이 공지되어 있다: G1m (1, 2, 3, 17) 또는 G1m (a, x, f, z), G2m (23) 또는 G2m (n), G3m (5, 6, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 26, 27, 28) 또는 G3m (b1, c3, b3, b0, b3, b4, s, t, g1, c5, u, v, g5) (Lefranc, *et al.*, "The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation." Pergamon, Oxford, pp. 43-78 (1990); Lefranc, G. *et al.*, 1979, Hum. Genet.: 50, 199-211). 본 발명의 항체는 임의의 면역글로불린 유전자의 임의의 알로타입, 아이소알로타입, 또는 하플로타입을 포함할 수 있으며, 본원에서 제공된 서열의 알로타입, 아이소알로타입 또는 하플로타입(haplotype)에 제한되는 것은 아니라는 것이 구체적으로 고려된다. 게다가, 일부 발현 시스템에서 CH3 도메인의 C-말단 아미노산 잔기 (상기 볼드체)는 번역 후에 제거될 수 있다. 따라서, CH3 도메인의 C-말단 잔기는 본 발명의 분자에서 선택적인 아미노산 잔기이다. CH3 도메인의 C-말단 잔기가 없는 분자가 본 발명에 구체적으로 포함된다. 또한 CH3 도메인의 C-말단 리신 잔기를 포함하는 이러한 분자가 본 발명에 구체적으로 포함된다.

[0164] 본 발명의 Fc 도메인-함유 항체-기반 분자의 Fc 도메인은 완전한 Fc 도메인 (예를 들어, 완전한 IgG Fc 영역) 또는 Fc 영역의 단지 일부일 수 있다. 선택적으로, 본 발명의 Fc 도메인-함유 분자의 Fc 도메인은 야생형 IgG CH3 도메인의 C-말단 리신 아미노산 잔기가 없다.

[0165] 전통적인 면역 기능에서, 항체-항원 복합체와 면역 시스템의 세포의 상호작용은 효과기 기능, 예컨대 항체 의존적 세포독성, 비만 세포 탈과립화, 및 식균 작용에서부터 면역 조절 신호, 예컨대 림프구 증식 및 항체 분비 조절까지의 다양한 반응을 발생시킨다. 이들 상호작용은 모두 조절 세포 상의 전문화된 세포-표면 수용체로의 항체 또는 면역 복합체의 Fc 도메인의 결합을 통해 시작된다.

[0166] 항체 및 면역 복합체에 의해 촉발된 다양한 세포 반응은 3개의 Fc 수용체, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), 및 FcγRIII (CD16)의 구조적 이질성으로부터 발생한다. FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32A) 및 FcγRIII (CD16)는 활성화 (즉, 면역 시스템 향상) 수용체이고; FcγRIIB (CD32B)는 억제 (즉, 면역 시스템 약화) 수용체이다. 이에 더하여, 신생아 Fc 수용체 (FcRn)와의 상호작용은 엔도솜에서 세포 표면으로의 IgG 분자의 재활용을 매개하고 혈액으로 방출시킨다. 대표적인 야생형 IgG1 (서열 번호: 12), IgG2 (서열 번호: 13), IgG3 (서열 번호:

14), 및 IgG4 (서열 번호: 15)의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 상기 제공된다.

- [0167] Fc 도메인의 아미노산 서열은 변화된 표현형, 예를 들어, 변화된 혈청 반감기, 변화된 안정성, 세포 효소에 대한 변화된 민감성, 변화된 효과기 기능, 또는 이러한 표현형들의 조합을 제공하기 위해 변형될 수 있다. 특히, 본 발명은 야생형 Fc 도메인, 또는 이러한 변형이 없는 Fc 도메인을 함유하는 이러한 항체-기반 분자에 의해 매개되는 ADCC에 비해 항체-의존적 세포독성 (ADCC)을 매개하는 그 능력을 향상시키도록 변형된 Fc 도메인을 포함하는 항체-기반 분자를 고려한다. 이러한 변형된 Fc 도메인은 본원에서 "ADCC-향상된 Fc 도메인"이라고 불린다. 본 발명은 또한 ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 Fc 도메인을 포함하는 항체-기반 분자를 고려한다. 따라서, 특정 구체예에서, 본 발명의 항체-기반 분자는 ADCC-향상된 Fc 도메인, 또는 ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 또는 전혀 나타내지 않는 Fc 도메인을 포함하도록 조작될 수 있다. 본 발명의 항체-기반 분자의 Fc 도메인은 하나 이상의 Fc 수용체 (예를 들어, Fc $\gamma$ R(들))에 결합하는 능력을 소유할 수 있지만, 특정 구체예에서, 이러한 Fc 도메인은 Fc $\gamma$ RIA (CD64), Fc $\gamma$ RIIA (CD32A), Fc $\gamma$ RIIB (CD32B), Fc $\gamma$ RIIIA (CD16a) 또는 Fc $\gamma$ RIIIB (CD16b)로의 변화된 결합을 갖는 변형된 Fc 도메인이다 (이러한 변형이 없는 Fc 도메인에 의해 나타나는 결합에 관하여). 예를 들어, 이러한 변이체 Fc 도메인은 활성화 수용체(들)로의 향상된 결합을 나타낼 수 있고 및/또는 억제 수용체(들)에 결합하는 능력이 실질적으로 감소되거나 또는 없고 향상된 ADCC 활성을 나타낼 것이다. 대안으로, 이러한 변이체 Fc 도메인은 활성화 수용체(들)에 결합하는 능력이 실질적으로 감소되거나 또는 없을 수 있고 및/또는 억제 수용체(들)로의 향상된 결합을 나타내고 ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 또는 전혀 나타내지 않을 것이다.
- [0168] Fc $\gamma$ R 결합 (및 ADCC 활성)을 감소시키거나 제거하는 변형이 해당 분야에 널리 공지되어 있으며, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 위치 234 및 235에서의 아미노산 치환, 위치 265에서의 치환 또는 위치 297에서의 치환을 포함한다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,624,821 참조). 한 구체예에서, 본 발명의 항체-기반 분자는 다음 치환 중 1, 2, 3, 또는 4개를 포함하는, ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 Fc 도메인을 포함한다: L234A, L235A, D265A, N297Q, 및 N297G. 특정 구체예에서 본 발명의 항체-기반 분자는, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 위치 234에서 알라닌으로의 치환 및 위치 235에서 알라닌으로의 치환 (234A, 235A)을 포함하는, ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 Fc 도메인을 포함한다. 대안으로, 이러한 분자는 Fc $\gamma$ RIIIA (CD16a)로의 감소된 결합 (또는 실질적으로 결합하지 않음) 및/또는 감소된 효과기 기능 (야생형 IgG1 Fc 도메인에 의해 나타나는 결합 및 효과기 기능에 비해)을 선천적으로 나타내는 자연 발생한 Fc 도메인을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 Fc-함유 분자는 IgG2 Fc 도메인 (서열 번호: 13) 또는 IgG4 Fc 도메인 (서열 번호: 15)을 포함한다. IgG4 Fc 도메인이 활용될 때, 본 발명은 또한 안정화 돌연변이, 예컨대 상기 기재된 힌지 영역 S228P 치환의 도입을 포함한다 (예를 들어, 서열 번호: 11 참조).
- [0169] 본 발명의 ADCC-향상된 Fc 도메인은 완전한 Fc 도메인의 CH2 도메인의 일부 또는 전부 및/또는 CH3 도메인의 일부 또는 전부를 포함할 수 있거나, 또는 변이체 CH2 및/또는 변이체 CH3 서열 (예를 들어, 완전한 Fc 도메인의 CH2 또는 CH3 도메인에 관하여 하나 이상의 치환 및/또는 삽입 및/또는 하나 이상의 결실을 포함할 수 있는)을 포함할 수 있다. 이러한 Fc 도메인은 비-Fc 폴리펩타이드 부분을 포함할 수 있거나, 또는 비-자연적으로 완전한 Fc 도메인의 일부를 포함할 수 있거나, 또는 CH2 및/또는 CH3 도메인 (예를 들어, 2개의 CH2 도메인 또는 2개의 CH3 도메인, 또는 N-말단에서 C-말단 방향으로, CH2 도메인에 연결된 CH3 도메인, 등)의 비-자연 발생한 방향을 포함할 수 있다.
- [0170] 억제 Fc 수용체에 비해 활성화 Fc 수용체 (예를 들어, Fc $\gamma$ RIIA (CD16A))로의 결합을 증가시키는 변형을 포함하는, 효과기 기능 (예를 들어, ADCC)을 변화시키는 것으로 확인된 ADCC-향상된 Fc 도메인은 해당 분야에 공지되어 있다 (예를 들어, Fc $\gamma$ RIIB (CD32B)) (예를 들어, Stavenhagen, J.B. et al. (2007) "Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fc $\gamma$  Receptors," Cancer Res. 57(18):8882-8890 참조). ADCC 활성을 향상시키는 많은 단일, 이중, 삼중, 사중, 및 오중 치환이 기재되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 번호 6,737,056; 7,317,091; 7,355,008; 7,960,512; 8,217,147; 8,652,466 참조).
- [0171] 한 구체예에서, ADCC-향상된 Fc 도메인은, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, S239D, F243L, D270E, R292G, R292P, Y300L, V305I, I332E 또는 P396L 치환으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환 (야생형 IgG Fc 도메인에 관하여)을 포함하는 Fc 도메인을 포함한다. 이들 아미노산 치환은 임의의 조합으로 인간 IgG Fc 도메인 (예를 들어, IgG1 Fc 도메인)에 존재할 수 있다. 한 구체예에서, 변이체 인간 IgG Fc 도메인은 S239D 및 I332E 치환을 함유한다. 또 다른 구체예에서, 변이체 인간 IgG Fc 도메인은 F243L, R292P 및

Y300L 치환을 함유한다. 추가의 구체예에서, 변이체 인간 IgG Fc 도메인은 F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P296L 치환을 함유한다. 특정 구체예에서, 이러한 인간 IgG **ADCC-향상된 Fc 도메인**은 다음을 포함할 것이다:

- [0172] (a) 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 치환:
- [0173] (1) F243L;
- [0174] (2) R292P;
- [0175] (3) Y300L;
- [0176] (4) V305I;
- [0177] (5) I332E; 및
- [0178] (6) P396L
- [0179] (b) (1) F243L 및 P396L;
- [0180] (2) F243L 및 R292P;
- [0181] (3) R292P 및 V305I; 및
- [0182] (4) S239D 및 I332E로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 치환;
- [0183] (c) (1) F243L, R292P 및 Y300L;
- [0184] (2) F243L, R292P 및 V305I;
- [0185] (3) F243L, R292P 및 P396L; 및
- [0186] (4) R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 3개의 치환;
- [0187] (d) (1) F243L, R292P, Y300L 및 P396L; 및
- [0188] (2) F243L, R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 4개의 치환; 또는
- [0189] (e) (1) F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P396L; 및
- [0190] (2) L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 5개의 치환;

[0191] 여기서 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.

[0192] 특정 구체예에서, **ADCC-향상된 Fc 도메인**은 다음을 포함할 것이다:

- [0193] (1) F243L, R292P, Y300L, V305I, 및 P396L 치환을 포함하는 "**FcMT1**" **ADCC-향상된 Fc 도메인**. FcMT1 변이체 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 항체-기반 분자는 야생형 IgG1 Fc 도메인으로 관찰된 결합에 비해 인간 CD16A (Fc $\gamma$ RIIIA)로의 결합의 10배 증가를 나타내고, CD16-158Phe로의 결합은 CD16-158Val로의 결합보다 비례적으로 더 큰 방식으로 향상된다. "**FcMT1**" **ADCC-향상된 Fc 도메인**의 아미노산 서열은 다음과 같다 (**서열 번호: 16**):

```

APELLGGPSV FLLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PPEEQYNSTL RVVSILTVLH
QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTPLVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NWFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX
    
```

[0194] 여기서, **X**는 리신 (K)이거나 또는 없거나,

- [0196] (2) L235V, F243L, R292P, Y300L, 및 P396L 치환을 포함하는 "**FcMT2**" **ADCC-향상된 Fc 도메인**. FcMT2 변이체 IgG1 Fc 도메인은 FcMT1 변이체 IgG1 Fc 도메인의 추가의 개선이고, 유사한 CD16A 결합 성질을 갖지만, CD32B (Fc $\gamma$ RIIB)로의 결합의 감소가 더 유리하다. "**FcMT2**" **DCC-향상된 Fc 도메인**의 아미노산 서열은 다음과 같다 (**서열 번호: 17**):

APELVGGPSV FLLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED  
 PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PPEEQYNSTL RVVSVLTVLH  
 QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT  
 LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN  
 YKTTPLVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE  
 ALHNHYTQKS LSLSPGX

[0197]

[0198]

여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없거나,

[0199]

또는

[0200]

(3) F243L, R292P, 및 Y300L 치환을 포함하는 "FcMT3" ADCC-향상된 Fc 도메인. FcMT3 변이체 IgG1 Fc 도메인은 FcMT1 변이체 IgG1 Fc 도메인의 추가의 개선이고, 유사한 CD16A 결합 성질을 갖지만, CD32B (FcγRIIB)로의 결합의 감소가 더 유리하다. "FcMT3" ADCC-향상된 Fc 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 18):

APELLGGPSV FLLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED  
 PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PPEEQYNSTL RVVSVLTVLH  
 QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT  
 LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN  
 YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE  
 ALHNHYTQKS LSLSPGX

[0201]

[0202]

여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0203]

대안의 구체예에서, ADCC-향상된 Fc 도메인은 푸코스를 함유하지 않고, 및/또는 이등분 O-GlcNAc를 포함하는 복합 N-글리코시드-연결된 당 사슬인 조각된 글리코폼을 포함한다. 이러한 글리코폼은 푸코실라트랜스퍼라제가 없는 세포주 (예를 들어, POTELLIGENT® 세포주, BioWa, Inc.; Matsushita, T. (2011) "Engineered Therapeutic Antibodies With Enhanced Effector Functions: Clinical Application Of The Potelligent® Technology," Korean J. Hematol. 46(3):148-150), 및/또는 O-GlcNAc 트랜스퍼라제를 발현하는 세포주 (Roche GlycArt AG; Satoh, M. et al. (2006) "Non-Fucosylated Therapeutic Antibodies As Next-Generation Therapeutic Antibodies," Exp. Opin. Biol. Ther. 6(11):1161-1173)에서 재조합으로 항체-기반 분자를 발현시킴으로써 얻어질 수 있다. 특정 구체예에서, ADCC-향상된 Fc 도메인은 하나 이상의 아미노산 치환 및 하나의 조각된 글리코폼을 포함한다.

[0204]

추가적으로, Fc 도메인을 포함하는 분자의 혈청 반감기는 FcRn에 대한 Fc 도메인의 결합 친화도를 증가시킴으로써 증가될 수 있다. 용어 "반감기"는 본원에서 사용된 바와 같이 투여 후 분자의 평균 생존 시간의 측정값인 약동학적 성질을 의미한다. 반감기는, 예를 들어, 혈청, 즉, 순환 반감기, 또는 다른 조직에서 측정된 바와 같이, 대상체 (예를 들어, 인간 환자 또는 다른 포유동물)의 신체 또는 그것들의 특정 구획으로부터 분자의 공지된 양의 50 퍼센트 (50%)를 제거하는데 필요한 시간으로 표현될 수 있다. 일반적으로, 반감기의 증가는 투여된 분자에 대해 순환에서 평균 체류 시간 (MRT)을 증가시킨다. Fc 도메인-함유 분자의 반감기를 증가시킬 수 있는 변형은 해당 분야에 공지되어 있고, 예를 들어, 아미노산 치환 M252Y, S254T, T256E, 및 그것들의 조합을 포함한다. (예를 들어, 미국 특허 번호 6,277,375, 7,083,784; 7,217,797, 및 8,088,376; 미국 공개 번호 2002/0147311; 및 2007/0148164; 및 PCT 공개 번호 WO 98/23289; WO 2009/058492; 및 WO 2010/033279에서 기재된 변형 참조).

[0205]

한 구체예에서, 본 발명의 항체-기반 분자는, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 위치 252에서 티로신으로의 치환, 위치 254에서 트레오닌으로의 치환, 및 위치 256에서 글루타메이트로의 치환 (252Y, 254T 및 256E)을 포함하는 변이체 Fc 도메인을 포함한다.

[0206]

본 발명은 또한 다음을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 본 발명의 항체-기반 분자를 포함한다:

[0207]

(a) 효과기 기능 및/또는 FcγR 결합을 변화시키는 하나 이상의 돌연변이; 및/또는

[0208]

(b) 혈청 반감기를 연장시키는 하나 이상의 돌연변이.

[0209]

한 구체예에서, 본 발명의 항체-기반 분자는 다음을 포함하는 Fc 도메인을 포함한다:

[0210]

(a) ADCC를 감소시키거나 제거하는 하나 이상의 돌연변이; 및/또는

[0211] (b) 혈청 반감기를 연장시키는 하나 이상의 돌연변이.

[0212] ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않고 혈청 반감기가 연장된 변이체 Fc 도메인의 CH2 및 CH3 도메인에 대한 대표적인 IgG1 서열은 치환 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E를 포함한다 (서열 번호: 19):

```
APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

[0213]

[0214] 여기서 X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0215] 연장된 반감기를 갖는 변이체 Fc 도메인의 CH2 및 CH3 도메인에 대한 대표적인 IgG4 서열은 치환 M252Y/S254T/T256E를 포함한다 (서열 번호: 20):

```
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME
ALHNHYTQKS LSLSLGX
```

[0216]

[0217] 여기서 X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0218] **5. 가변 도메인**

[0219] IgG 분자의 가변 도메인은 3개의 "상보성 결정 영역" ("CDR")을 포함하며, 이것은 에피토프와 접촉되는 항체, 뿐만 아니라 이러한 접촉을 허용하기 위해 (어떤 프레임워크 잔기가 또한 에피토프에 결합할 수 있지만) 일반적으로 CDR 잔기의 구조를 유지하고 위치를 결정하는, "프레임워크 영역" ("FR")이라고 불리는 개재(intervening) 비-CDR 세그먼트의 아미노산 잔기를 함유한다. 따라서, VL 및 VH 도메인은 구조 n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c를 갖는다. CDR 서열의 아미노산 서열은 항체가 특정 에피토프에 결합할 수 있는지 여부를 결정한다. 항체 경쇄와 항체 중쇄의 상호작용, 및 특히, 그것들의 VL 도메인과 VH 도메인의 상호작용은 항체의 에피토프-결합 도메인을 형성한다.

[0220] 면역글로불린의 성숙한 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인의 아미노산은 사슬 내 아미노산의 위치에 의해 지정된다. Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5<sup>th</sup> Ed. Public Health Service, NIH, MD (1991))는 항체에 대한 많은 아미노산 서열을 기재하고, 각각의 부분군에 대한 아미노산 공통 서열을 확인하고, 각각의 아미노산에 대해 잔기 번호를 할당하였고, Kabat에 의해 정의된 바와 같이 CDR 및 FR이 확인된다 (Chothia, C. & Lesk, A. M. ((1987) "Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins," J. Mol. Biol. 196:901-917)에 의해 정의된 CDR<sub>H1</sub>이 5개의 잔기를 더 빨리 시작한다는 것이 이해될 것이다). Kabat의 넘버링 계획은 보존된 아미노산에 관하여 문제의 항체를 Kabat의 공통 서열 중 하나와 정렬시킴으로써 그의 개요서에 포함되지 않는 항체로 확장 가능하다. 잔기 번호를 할당하기 위한 이 방법은 해당 분야에서 표준이 되었고 키메라 또는 인간화된 변이체를 포함한 상이한 항체의 동등한 위치에서 아미노산을 쉽게 확인한다. 예를 들어, 인간 항체 경쇄의 위치 50에서의 아미노산은 마우스 항체 경쇄의 위치 50에서의 아미노산에 대한 동등한 위치를 점유한다. 따라서 CDR이 시작되고 끝나는 VL 및 VH 도메인 내의 위치가 잘 정의되어 있고 VL 및 VH 도메인의 서열의 점검에 의해 확인될 수 있다 (예를 들어, Martin, C.R. (2010) "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," In: Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann, R. and Dubel, S. (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Chapter 3 (pages 33-51) 참조).

[0221] 항체의 경쇄의 제1, 제2 및 제3 CDR인 (또는 그 역할을 할 수 있는) 폴리펩타이드는 본원에서 각각 다음과 같이 지정된다: CDR<sub>L1</sub> 도메인, CDR<sub>L2</sub> 도메인, 및 CDR<sub>L3</sub> 도메인. 유사하게, 항체의 중쇄의 제1, 제2 및 제3 CDR인 (또는 그 역할을 할 수 있는) 폴리펩타이드는 본원에서 각각 다음과 같이 지정된다: CDR<sub>H1</sub> 도메인, CDR<sub>H2</sub> 도메인, 및 CDR<sub>H3</sub> 도메인. 따라서, 용어 CDR<sub>L1</sub> 도메인, CDR<sub>L2</sub> 도메인, CDR<sub>L3</sub> 도메인, CDR<sub>H1</sub> 도메인, CDR<sub>H2</sub> 도메인, 및

CDR<sub>H3</sub> 도메인은 단백질에 통합될 때 이러한 단백질이 경쇄 및 중쇄를 가진 항체이거나 디아바디 또는 단일 사슬 결합 분자 (예를 들어, scFv, BiTe, 등)이거나, 또는 또 다른 유형의 단백질인지 여부에 관계없이 상기 단백질이 특이적 에피토프에 결합할 수 있게 하는 폴리펩타이드에 관한 것이다. 따라서, 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "**에피토프-결합 도메인**"은 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있는 본 발명의 항체-기반 분자의 일부를 나타낸다. 에피토프-결합 도메인은 항체의 CDR 도메인의 임의의 1, 2, 3, 4, 또는 5개를 함유할 수 있거나, 또는 항체의 CDR 도메인의 6개 모두를 함유할 수 있고, 이러한 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있지만, 이러한 에피토프에 대하여 이러한 항체와 상이한 면역특이성, 친화도 또는 선택성을 나타낼 수 있다. 하지만, 전형적으로, 에피토프-결합 도메인은 이러한 항체의 CDR 도메인의 6개 모두를 함유할 것이다.

[0222] 에피토프-결합 도메인은 불변 도메인에 융합된 완전한 가변 도메인 또는 적절한 프레임워크 영역에 이식된 이러한 가변 도메인의 상보성 결정 영역 (CDR) 단독을 포함할 수 있다. 에피토프-결합 도메인은 야생형이거나 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다.

[0223] **항체-기반 분자의 인간화**

[0224] 본 발명은 특히 인간화된 항체의 VL 및/또는 VH 도메인을 포함하는 항체-기반 분자를 포함한다. 용어 "**인간화된**" 항체는 일반적으로 재조합 기술을 사용하여 제조된, 비-인간 종의 면역글로불린의 에피토프-결합 도메인 및 인간 면역글로불린의 구조 및/또는 서열을 기반으로 하는 분자의 나머지 면역글로불린 구조를 가진 키메라 분자를 나타낸다. 이러한 항체의 가변 도메인의 폴리뉴클레오타이드 서열은 이러한 유도체를 생성하고 이러한 항체의 친화도, 또는 다른 특성을 개선하기 위해 유전자 조작에 사용될 수 있다. 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 도메인은 주어진 종에서 상대적으로 보존적이고 추정상 CDR에 스캐폴딩(scaffolding)을 제공하는 4개의 프레임워크 영역(FR)에 의해 플랭킹된(flanked), 문제의 항원에 반응하여 달라지고 결합 능력을 결정하는 3개의 상보성 결정 영역 (CDR)을 함유하는 것으로 알려져 있다. 비-인간 항체가 특정 항원에 관하여 제조될 때, 가변 도메인은 "재형상화되거나(reshaped)" 또는 "인간화"될 수 있다. 항체를 인간화하는데 있어서 일반적인 원리는 항체의 비-인간 나머지를 인간 항체 서열로 바꾸면서, 항체의 에피토프-결합 부분의 기본적인 서열을 유지하는 것을 수반한다. 단클론성 항체를 인간화하기 위해 일반적으로 4개의 단계가 있다. 이것들은 다음과 같다: (1) 시작 항체 경쇄 및 중쇄 가변 도메인의 뉴클레오타이드 및 예측된 아미노산 서열을 결정하는 단계, (2) 인간화된 항체 또는 개화된(caninized) 항체를 디자인하는 단계, 즉, 인간화 또는 개화 공정 동안에 사용하기 위한 항체 프레임워크 영역을 결정하는 단계, (3) 실제 인간화 또는 개화 방법론/기술, 및 (4) 인간화된 항체의 트랜스펙션 및 발현. 예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567; 5,807,715; 5,866,692; 및 6,331,415; Lobuglio *et al.* (1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989)를 참조하면 된다. 다른 참고문헌에서는 적절한 인간 항체 불변 도메인과의 융합 전에 인간 지지 프레임워크 영역 (FR)으로 이식된 설치류 CDR이 기재되어 있다 (예를 들어, Riechmann, L. *et al.* (1988) "*Reshaping Human Antibodies for Therapy*," Nature 332:323-327; and Jones *et al.* (1986) "*Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse*," Nature 321:522-525 참조. 이용될 수도 있는 항체를 인간화하는 다른 방법은 Daugherty *et al.* (1991) "*Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins*," Nucl. Acids Res. 19:2471-2476 및 미국 특허 번호 6,180,377; 6,054,297; 5,997,867; 및 5,866,692에 의해 개시될 수 있다). 일부 구체예에서, 인간화된 항체는 모든 CDR 서열을 보존한다 (예를 들어, 마우스 항체의 6개의 CDR 모두를 함유하는 인간화된 마우스 항체). 다른 구체예에서, 인간화된 항체는 원래의 항체에 관하여 서열이 상이한 하나 이상 (1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)의 CDR을 갖는다.

[0225] **B. 이중특이적 분자**

[0226] 일부 구체예에서, 본 발명의 항체-기반 분자는 이중특이적이며, 예컨대 이중특이적 항체 또는 이중특이적 디아바디이다. 이러한 이중특이적 항체-기반 분자는 제공되는 PD-1 및 LAG-3의 에피토프-결합 도메인 (즉, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자) 또는 제공되는 PD-L1 및 LAG-3의 에피토프-결합 도메인 (즉, PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자)을 포함할 수 있다. 이러한 이중특이적 항체-기반 분자의 공급은 단일특이적 항체보다 상당한 이점을 제공한다: PD-1 및 LAG-3를 동시-발현하는 세포 상에서 PD-1 및 LAG-3를 동시-결찰시키고 및/또는 PD-1을 발현하는 세포 및 LAG-3를 발현하는 세포를 동시-국소화시키는 능력, 또는 PD-L1 및 LAG-3를 동시-발현하는 세포 상에서 PD-L1 및 LAG-3를 동시-결찰시키고 및/또는 PD-L1을 발현하는 세포 및 LAG-3를 발현하는 세포를 동시-국소화시키는 능력. 특정 구체예에서, 이러한 이중특이적 항체-기반 분자는 2개의 상이한 TA에 결합할 수 있다.

[0227] 1. 이중특이적 항체

[0228] 다양한 재조합 이중특이적 항체 포맷이 개발되었으며 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2008/003116, WO 2009/132876, WO 2008/003103, WO 2007/146968, WO 2009/018386, WO 2012/009544, 및 WO 2013/070565 참조), 이것들 중 대부분은 링커 펩타이드를 사용하여 항체 코어 (IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM)에, 또는 그 안에서 추가의 에피토프-결합 단편 (예를 들어, scFv, VL, VH, 등)을 융합시키거나, 또는 다수의 에피토프-결합 단편 (예를 들어, 2개의 Fab 단편 또는 scFv)을 융합시킨다. 대안의 포맷은 에피토프-결합 단편 (예를 들어, scFv, VL, VH, 등)을 CH2-CH3 도메인 또는 대안의 폴리펩타이드와 같은 다이머화 도메인에 융합시키기 위해 링커 펩타이드를 사용한다 (PCT 공개 번호 WO 2005/070966, WO 2006/107786A WO 2006/107617A, 및 WO 2007/046893). PCT 공개 번호 WO 2013/174873, WO 2011/133886 및 WO 2010/136172에서는 CL 및 CH1 도메인이 그것들 각각의 천연의 위치로부터 바뀌고 VL 및 VH 도메인이 다양화되어 (PCT 공개 번호 WO 2008/027236; WO 2010/108127) 그것들을 하나 초과항원에 결합시키는 삼중특이적 항체가 개시되어 있다. PCT 공개 번호 WO 2013/163427 및 WO 2013/119903에서는 결합 도메인을 포함하는 융합 단백질 부가물을 함유하도록 CH2 도메인을 변형시키는 것이 개시되어 있다. PCT 공개 번호 WO 2010/028797, WO2010028796 및 WO 2010/028795에서는 3가 결합 분자를 형성하기 위해 FC 영역이 추가적인 VL 및 VH 도메인으로 대체된 재조합 항체가 개시되어 있다. PCT 공개 번호 WO 2003/025018 및 WO2003012069에서는 개개의 사슬이 scFv 도메인을 함유하는 재조합 디아바디가 개시되어 있다. PCT 공개 번호 WO 2013/006544에서는 단일 폴리펩타이드 사슬로서 합성된 다음 헤테로다이머 구조를 수득하기 위해 단백질 가수분해되는 다원자가 Fab 분자가 개시되어 있다. PCT 공개 번호 WO 2014/022540, WO 2013/003652, WO 2012/162583, WO 2012/156430, WO 2011/086091, WO 2008/024188, WO 2007/024715, WO 2007/075270, WO 1998/002463, WO 1992/022583 및 WO 1991/003493에서는 추가적인 결합 도메인 또는 작용기를 항체 또는 항체 일부에 추가하는 것 (예를 들어, 디아바디를 항체의 경쇄에 추가하거나, 또는 VL 및 VH 도메인을 항체의 경쇄 및 중쇄에 추가하거나, 또는 이중성 융합 단백질을 추가하거나 또는 다수의 Fab 도메인을 서로 연결하는 것)이 개시되어 있다. 디아바디 및 디아바디-유사 도메인을 포함하는 3가 분자를 공유 결합시키는 것은 PCT 공개 번호 WO 2015/184207, WO 2015/184203, WO 2012/162068; WO 2012/018687; WO 2010/080538; 및 WO 2006/113665에 개시되어 있고, 본원에서 기재되어 있다. 따라서, 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 상기 기재된 포맷의 구조를 가질 수 있고 상기 기재된 방법에 의해 생산될 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다.

[0229] 2. 이중특이적 디아바디

[0230] 본 발명의 디아바디는 안정한, 공유 결합된 헤테로다이머 비-단일특이적 디아바디이며, 예를 들어, Chichili, G.R. et al. (2015) "A CD3xCD123 Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia: Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates," Sci. Transl. Med. 7(289):289ra82; Veri, M.C. et al. (2010) "Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fcγ Receptor IIB (CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold," Arthritis Rheum. 62(7):1933-1943; Moore, P.A. et al. (2011) "Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T cell Killing Of B-Cell Lymphoma," Blood 117(17):4542-4551; 미국 특허 공개 번호 2007/0004909; 2009/0060910; 2010/0174053; 20130295121; 2014/0099318; 2015/0175697; 2016/0017038; 2016/0194396; 2016/0200827; 및 2017/0247452를 참조하면 된다. 이러한 디아바디는 2개 이상의 공유결합에 의해 복합체가 형성된 폴리펩타이드 사슬을 포함하고 이용된 하나 이상의 시스테인 잔기를 폴리펩타이드 중 각각으로 조작하는 것을 수반한다. 예를 들어, 이러한 작제물의 C-말단으로의 시스테인 잔기의 추가는 폴리펩타이드 사슬 사이에서 이황화 결합을 허용하여, 2가 분자의 결합 특성을 방해하지 않으면서 결과로 생성된 헤테로다이머를 안정화시키는 것으로 나타났다. 이러한 디아바디는 또한 폴리펩타이드 사슬의 헤테로다이머화를 촉진하는 역할을 하는 도메인 ("**헤테로다이머-촉진 도메인**")을 포함한다.

[0231] 본 발명의 디아바디 작제물은 폴리펩타이드로 구성된, 공유결합에 의해 복합체가 형성된 디아바디이고, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 폴리펩타이드 사슬로 구성될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "**~로 구성된**"은 개방형이며, 이로써 2개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된 본 발명의 디아바디가 추가적인 폴리펩타이드 사슬을 소유할 수 있다. 이러한 사슬은 디아바디의 또 다른 폴리펩타이드 사슬과 동일한 서열을 가질 수 있거나, 디아바디의 임의의 다른 폴리펩타이드 사슬과 서열이 상이할 수도 있다. 본 발명의 디아바디는 Fc 도메인을 포함하도록 디자인될 수 있다.

[0232] 특정 구체예에서, 본 발명의 디아바디는 4개의 사슬이며, Fc 도메인-함유 디아바디는 제1 에피토프에 특이적인 2개의 결합 부위, 제2 에피토프에 특이적인 2개의 결합 부위, Fc 도메인, 및 시스테인-함유 E/K-코일 헤테로다

이며-촉진 도메인을 갖는다. 이러한 디아바디의 일반적인 구조는 도 1에서 제공된다.

- [0233] 본 발명의 이중특이적 디아바디는 이러한 제1 및 제2 폴리펩타이드가 그것들의 길이를 따라 시스테인 잔기를 통해 서로 공유결합하도록 조작된다. 이러한 시스테인 잔기는 폴리펩타이드의 VL 및 VH 도메인을 분리하는 개재 링커 (링커 1; 예를 들어, GGGSGGGG (서열 번호: 21))로 도입될 수 있다. 대안으로, 및 더 바람직하게는, 시스테인 잔기 (링커 2)를 포함하는 제2 펩타이드는, 예를 들어, 이러한 폴리펩타이드 사슬의 VL 도메인에 대한 N-말단 또는 VH 도메인의 C-말단의 위치에서 각각의 폴리펩타이드 사슬로 도입된다. 이러한 링커 2에 대해 바람직한 서열은 서열 번호: 22: GGCGGG이다. 추가적으로 또는 선택적으로, 시스테인 잔기는 다른 도메인으로 도입될 수 있으며, 그 예는 하기 제공된다.
- [0234] 특정 구체예에서, 본 발명의 헤테로다이머-촉진 도메인은 반대 전하의 나란히(tandemly) 반복되는 코일 도메인을 포함할 것이다. 따라서, 한 구체예에서, 폴리펩타이드 사슬 중 하나는 잔기가 pH 7에서 음전하를 형성하는 "E-코일" 도메인 (서열 번호: 23: ~~EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK~~)을 함유하도록 조작되는 한편, 2개의 폴리펩타이드 사슬 중 다른 하나는 잔기가 pH 7에서 양전하를 형성하는 "K-코일" 도메인 (서열 번호: 24: ~~KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE~~)을 함유하도록 조작될 것이다. 이러한 대전된 도메인의 존재는 제1 및 제2 폴리펩타이드 사이의 회합을 촉진하며, 따라서 헤테로다이머화를 촉진한다. 어느 코일이 제1 또는 제2 폴리펩타이드 사슬에 제공되지는 중요하지 않다.
- [0235] 또 다른 구체예에서, 서열 번호: 23의 4개의 나란한(tandem) "E-코일" 나선 도메인 중 하나가 시스테인 잔기를 함유하도록 변형된 헤테로다이머-촉진 도메인 (예를 들어, ~~EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK~~ (서열 번호: 25))이 이용된다. 유사하게, 또 다른 구체예에서, 서열 번호: 24의 4개의 나란한 "K-코일" 나선 도메인 중 하나가 시스테인 잔기를 함유하도록 변형된 헤테로다이머-촉진 도메인 (예를 들어, ~~KVAACKK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE~~ (서열 번호: 26))이 이용된다. 이러한 구체예는 서열 번호: 25의 헤테로다이머-촉진 도메인 및 서열 번호: 26의 헤테로다이머-촉진 도메인이 이용되도록 유리하게 조합된다.
- [0236] 따라서 이러한 디아바디는 폴리펩타이드 사슬의 쌍이 하나 이상의 시스테인 잔기를 통해 그것들의 길이를 따라 서로 공유 결합하도록 조작되어 공유결합에 의해 회합된 분자 복합체를 생산한다. 이러한 시스테인 잔기는 폴리펩타이드의 VL 및 VH 도메인을 분리하는 개재 링커로 도입될 수 있다. 대안으로, 하나 이상의 링커 (예를 들어, 링커 2, 링커 3, 등)는 시스테인 잔기를 함유할 수 있다. 특정 구체예에서, 코일-함유 헤테로다이머-촉진 도메인의 하나 이상의 코일 도메인은 서열 번호: 25 또는 서열 번호: 26에서와 같이 시스테인 잔기를 포함하는 아미노산 치환을 포함할 것이다. 대안으로, 시스테인 잔기가 없는 링커 2 서열은 서열 번호: 27: ASTKG이며 시스테인 잔기 함유 헤테로다이머-촉진 도메인과 함께 이용될 수 있다.
- [0237] 본 발명의 이중특이적 디아바디는 바람직하게는 Fc 영역을 형성하기 위해 함께 복합체를 형성할 수 있는 IgG CH2-CH3 도메인을 소유하도록 조작된다. 특정 구체예에서, 본 발명의 이중특이적 디아바디는 인간 IgG CH2-CH3 도메인을 포함한다. 대표적인 인간 IgG CH2-CH3 도메인은 상기 제공되고 효과기 기능 및/또는 혈청 반감기를 조절하도록 조작된 CH2-CH3 도메인을 포함한다.
- [0238] 특정 구체예에서, 본 발명의 이중특이적 디아바디는 CH2 및 CH3 도메인을 헤테로다이머-촉진 도메인에 연결하는 개재 링커 펩타이드 (링커 3)로 조작된다. 바람직하게는 링커 3는 헤테로다이머-촉진 도메인의 C-말단의 위치에 있다. 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디에서 이용될 수 있는 링커는 다음을 포함한다: GGGG (서열 번호: 28), LGGGSG (서열 번호: 29), ASTKG (서열 번호: 27), LEPKSS (서열 번호: 30), APSSS (서열 번호: 31), 및 APSSSPME (서열 번호: 32), GGC, 및 GGG. 링커 3는 단독으로 또는 다른 링커 서열에 더하여 IgG 힌지 영역의 일부를 포함할 수 있다. 대표적인 힌지 영역은 다음을 포함한다: IgG1의 DKHTCPPCP (서열 번호: 33) 또는 EPKSCDKHTCPPCP (서열 번호: 7), IgG2의 ERKCCVECPPCP (서열 번호: 8), IgG4의 ESKYGPPCPSPC (서열 번호: 10), 및 ESKYGPPCP (서열 번호: 11) 및 가닥 교환을 감소시키기 위해 안정화 S228P 치환을 포함하는 IgG4 힌지 변이체 (가닥 교환의 발생률을 감소시키기 위해 (Lu et al., (2008) "The Effect Of A Point Mutation On The Stability Of IgG4 As Monitored By Analytical Ultracentrifugation," J. Pharmaceutical Sciences 97:960-969)). 특정 구체예에서, 링커 3는 GGG, 예를 들어 GGGDKHTCPPCP (서열 번호: 34)를 더 포함할 수 있다.
- [0239] II. PD-1 (또는 PD-L1) 및/또는 LAG-3에 결합하는 항체-기반 분자
- [0240] 본 발명은 구체적으로 다음을 포함하거나 이용하는 조성물 및 방법을 고려한다:
- [0241] (1) PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자;

- [0242] (2) 단일특이적 PD-1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자;
- [0243] (3) PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는
- [0244] (4) 단일특이적 PD-L1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자;
- [0245] 여기서 이러한 단일특이적 결합 분자는 온전한 항체이고, 이러한 이중특이적 분자는 디아바디 또는 이중특이적 항체이다.
- [0246] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 인간 PD-1에 면역특이적으로 결합하는 항체-기반 분자 (예를 들어, 단일특이적 PD-1-결합 분자 또는 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자)는 PD-1의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 적어도 하나의 에피토프-결합 도메인 (PD-1-결합 도메인)을 포함할 것이다.
- [0247] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 인간 PD-L1에 면역특이적으로 결합하는 항체-기반 분자 (즉, 단일특이적 PD-L1-결합 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자)는 PD-1의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 적어도 하나의 에피토프-결합 도메인 (PD-L1-결합 도메인)을 포함할 것이다.
- [0248] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 인간 LAG-3에 면역특이적으로 결합하는 항체-기반 분자 (즉, 단일특이적 LAG-3-결합 분자, PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자)는 LAG-3의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 적어도 하나의 에피토프-결합 도메인 (LAG-3-결합 도메인)을 포함할 것이다.
- [0249] 특정 구체예에서, 본 발명은 PD-1-결합 도메인, PD-L1-결합 도메인, 및/또는 LAG-3-결합 도메인을 포함하며, Fc 도메인을 더 포함하는 항체-기반 분자를 고려한다. 한 구체예에서, 이러한 분자의 Fc 도메인은 야생형 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 Fc 도메인이다.
- [0250] 본 발명은 PD-1-결합 도메인, PD-L1-결합 도메인, 또는 LAG-3-결합 도메인을 포함하는 단일특이적 항체-기반 분자가 ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 변이체 Fc 도메인을 포함한다는 것을 고려한다. 본 발명은 또한 ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 Fc 도메인을 포함하는, PD-1 및 LAG-3에 면역특이적이거나, 또는 PD-L1 및 LAG-3에 면역특이적인 에피토프-결합 도메인을 포함하는 이중특이적 항체-기반 분자 (예를 들어, 디아바디)를 고려한다. 한 구체예에서, 이러한 분자는, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 위치 234에서 알라닌으로의 치환 및 위치 235에서 알라닌으로의 치환 (234A, 235A)을 포함하는 변이체 IgG1 Fc 도메인을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 이러한 분자는 IgG4 Fc 도메인을 포함하고, 선택적으로 안정화된 IgG4 힌지 영역을 포함한다 (예를 들어, **서열 번호: 11** 참조).
- [0251] 특정 구체예에서, PD-1-결합 도메인, PD-L1-결합 도메인, 및/또는 LAG-3-결합 도메인을 포함하는 항체-기반 분자는 혈청 반감기를 연장시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 변이체 Fc 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, 이러한 분자는, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 위치 252에서 티로신으로의 치환, 254에서 트레오닌으로의 치환, 및 256에서 글루타메이트로의 치환 (252Y, 254T 및 256E)을 포함하는 변이체 Fc 도메인을 포함한다.
- [0252] 본 발명은 또한 PD-1-결합 도메인, PD-L1-결합 도메인, 및/또는 LAG-3-결합 도메인을 포함하며, Fc 도메인을 더 포함하는 항체-기반 분자를 포함하며 이러한 Fc 도메인은 다음을 포함한다:
- [0253] (a) ADCC를 감소시키거나 제거하는 하나 이상의 돌연변이; 및/또는
- [0254] (b) 혈청 반감기를 연장시키는 하나 이상의 돌연변이.
- [0255] 한 구체예에서, PD-1-결합 도메인, PD-L1-결합 도메인, 및/또는 LAG-3-결합 도메인을 포함하는 항체-기반 분자는, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 다음 치환을 포함하는 변이체 IgG1 Fc 도메인을 포함한다: L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E (**서열 번호: 19**).
- [0256] 또 다른 구체예에서, PD-1-결합 도메인, PD-L1-결합 도메인, 및/또는 LAG-3-결합 도메인을 포함하는 항체-기반 분자는, Kabat에서와 같이 EU 지수에 의해 넘버링된 바와 같이, 다음 치환을 포함하는 변이체 IgG4 Fc 도메인을 포함한다: M252Y/S254T/T256E (**서열 번호: 20**).
- [0257] **A. PD-1-결합 도메인 및 분자**
- [0258] 한 구체예에서, PD-1-결합 도메인은 **서열 번호: 35** 및 **서열 번호: 39**의 VL 및 VH 도메인의 CDR을 포함한다. 또 다른 구체예에서, PD-1-결합 도메인은 **서열 번호: 36** 및 **서열 번호: 39**의 인간화된 VL 및 VH 도메인을 포함한다.

[0259] 이러한 인간화된 VL<sub>PD-1</sub> 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 35):

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL  
 LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY  
TFGGGTKVEI K

[0260]

[0261] 이러한 VL<sub>PD-1</sub>의 CDR은 다음과 같다:

[0262] CDR<sub>L1</sub> 서열 번호: 36: RASESVDNYGMSFMN;

[0263] CDR<sub>L2</sub> 서열 번호: 37: AASNQGS; 및

[0264] CDR<sub>L3</sub> 서열 번호: 38: QQSKEVPYT.

[0265] 이러한 인간화된 VH<sub>PD-1</sub> 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 39):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWIGV  
IHPSDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH  
YGTSPFAYWG QGTLVTVSS

[0266]

[0267] 이러한 VH<sub>PD-1</sub> 도메인의 CDR은 다음과 같다:

[0268] CDR<sub>H1</sub> 서열 번호: 40: SYWMN;

[0269] CDR<sub>H2</sub> 서열 번호: 41: VIHPSDSETWLDQKFKD; 및

[0270] CDR<sub>H3</sub> 서열 번호: 42: EHYGTSPFAY.

[0271] 대안의 PD-1-결합 도메인, 및 그것을 포함하는 분자가 기재되어 있고, 표 1에서 제공되는 것들을 포함하지만, 이것들에 제한되는 것은 아니며, 이것들은 본원에서 일반 명칭 또는 INN 명칭으로 불릴 수 있다.

표 1

| 표 1<br>PD-1-결합 도메인/분자   |   |
|---|---|
| 명칭  | 참고문헌(들)   |
| 발스틸리맵 (CAS Reg. No.: 2148321-77-9, AGEN2034 로도 알려져 있으며, Agemus 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 82, 33(3):611-612  |
| 부디갈리맵 (CAS Reg. No.: 2098225-93-3, ABBV-181, PR-1648817 로도 알려져 있으며, Abbvie 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 81, 33(1): 56-57   |
| 캄헬리주맵 (CAS Reg. No.: 1798286-48-2, SHR-1210 으로도 알려져 있으며, 중국에서 Shanghai Hengrui Pharmaceuticals 에 의해 AiRuiKa <sup>™</sup> 으로 판매된다)       | WHO Drug Information 2017, Recommended INN: List 77, 31(1): 73-74   |
| 세미플리맵 (CAS Reg. No.:1801342-60-8, REGN-2810, SAR-439684 로도 알려져 있으며, Sanofi &Regeneron Pharmaceuticals 에 의해 LIBTAYO <sup>®</sup> 로 판매된다) | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 81, 33(1): 57-58   |
| 세트렐리맵 (CAS Reg. No.:2050478-92-5, JNJ-63723283 로도 알려져 있으며, Janssen Biotech 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 80, 32(3): 436-437 |
| 도스탈리맵 (CAS Reg. No.: 2022215-59-2, ANB-011, TSR-042 로도 알려져 있으며, Tesero 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 81, 33(1): 65-66   |
| 에자베리맵 (CAS Reg. No.: 2249882-54-8, BI754091 로도 알려져 있으며, Boehringer Ingelheim 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 122, 33(4):834-835    |
| 로다플리맵 (CAS Reg. No.: 2118349-31-6, LY3300054 로도 알려져 있으며, Eli Lilly 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2): 287-288   |
| 니블루맵 (CAS Reg. No.:946414-94-4, 5C4, BMS-936558, ONO-4538, MDX-1106 으로도 알려져 있으며, Bristol-Myers Squibb 에 의해 OPDIVO <sup>®</sup> 로 판매된다)  | WHO Drug Information, 2013, Recommended INN: List 69, 27(1):68-69   |
| 멤브롤리주맵 (이전에는 램브롤리주맵으로 알려져 있었음), CAS Reg. No.:1374853-91-4, MK-3475, SCH-900475 로도 알려져 있으며, Merck 에 의해 KEYTRUDA <sup>®</sup> 로 판매된다)     | WHO Drug Information, 2014, Recommended INN: List 75, 28(3):407     |
| 프롤골리맵 (CAS Reg. No.: 2093956-19-3, BCD-100 으로도 알려져 있으며, CJSC Biocad 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 81, 33(1): 102-103 |

[0272]

| 표 1<br>PD-1-결합 도메인/분자  |   |
|--|---|
| 명칭   | 참고문헌(들)   |
| 레티판리맵 (CAS Reg. No.: 2079108-44-2, MGA012, INCMGA-00012 로도 알려져 있으며, Incyte 및 MacroGenics 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 82, 33(1):611-612  |
| 사산리맵 (CAS Reg. No.: 2206792-50-7, PF-06801591, mAb7 로도 알려져 있으며, Pfizer 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):330-331    |
| 세트클루리맵 (CAS Reg. No.: 2231029-82-4, HLX10 로도 알려져 있으며, Henlix 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):332-333    |
| 신틸리맵 (CAS Reg. No.: 2072873-06-2, IBI-308, IBI308 로도 알려져 있으며, 중국에서 Innovent Biologics 및 Eli Lilly 에 의해 TYVYT*로 판매중이다)  | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 81, 33(1):112-113  |
| 스파르탈리주맵 (CAS Reg. No.: 1935694-88-4, NPVPDR001, NVS240118, PDR001 로도 알려져 있으며, Novartis 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2018, Recommended INN: List 79, 32(1): 161-162 |
| 티슬렐리주맵 (CAS Reg. No.: 1858168-59-8, BGB-A317 로도 알려져 있으며, Beigene 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2018, Recommended INN: List 79, 32(1): 174-175 |
| 토리팔리맵 (CAS Reg. No.: 1924598-82-2, JS001 로도 알려져 있으며, Shanghai Junshi Biosciences 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 81, 33(1): 124-125 |
| PD1-17; PD1-28; PD1-33; PD1-35; 및 PD1-F2   | US 7,488,802  |
| 17D8; 2D3; 4H1; 5C4; 4A11; 7D3; 및 5F4  | US 8,008,449  |
| hPD-1.08A; hPD-1.09A; 109A; K09A; 409A; h409A11; h409A16; h409A17; 코돈 최적화된 109A; 및 코돈 최적화된 409A  | US 8,354,509  |
| 1B8; 20B3.1; 7G3; 3H4; 2.3A9; 1G7; 1.8A10; 28.11; 6D10   | US 8,168,757  |
| 1E3; 1E8; 및 1H3  | US 2014/0044738   |
| 9A2; 10B11; 6E9; APE1922; APE1923; APE1924; APE1950; APE1963; 및 APE2058  | US 9,815,897  |
| EH12.2H7   | US 9,102,727  |
| GA1; GA2; GB1; GB6; GH1; A2; C7; H7; SH-A4; SH-A9; RG1H10; RG1H11; RG2H7; RG2H10; RG3E12; RG4A6; RG5D9; RG1H10-H2A-22-1S; RG1H10-H2A-27-2S; RG1H10-3C; RG1H10-16C; RG1H10-17C; RG1H10-19C; RG1H10-21C; 및 RG1H10-23C2 | US 2014/0356363   |
| H1M7789N; H1M7799N; H1M7800N; H2M7780N; H2M7788N; H2M7790N; H2M7791N; H2M7794N; H2M7795N; H2M7796N; H2M7798N; H4H9019P; H4H7798N; H4xH9034P2; H4xH9035P2; H4xH9037P2;  | US 2015/0203579   |

[0273]

| 표 1<br>PD-1-결합 도메인/분자  |                 |
|--|-----------------|
| 명칭   | 참고문헌(들)         |
| H4xH9045P2; H4xH9048P2; H4H9057P2; H4H9068P2; H4xH9119P2; H4xH9120P2; H4Xh9128p2; H4Xh9135p2; H4Xh9145p2; H4Xh8992p; H4Xh8999p; 및 H4Xh9008p;   |                 |
| mAb1; mAb2; mAb3; mAb4; mAb7; mAb8; mAb9; mAb10; mAb11; mAb12; mAb13; mAb14; mAb15; 및 mAb16  | US 2016/0159905 |
| 246A10; 244C8; 413D2; 393C5; 388D4; 413E1; 244C8-1; 244C8-2; 244C8-3; 388D4-1; 388D4-2; 및 388D4-3  | US 2016/0319019 |
| Mu317; mu326; 317-4B6; 326-4A3; 317-4B2; 317-4B5; 317-1; 326-3B1; 326-3G1; 326-1; 317-3A1; 317-3C1; 317-3E1; 317-3G1; 317-3H1; 317-3I1; 317-4B1; 317-4B3; 317-4B4; 317-4A2; 326-3A1; 326-3C1; 326-3D1; 326-3E1; 326-3F1; 326-3B N55D; 326-4A1; 326-4A2BGB-A317   | US 8,735,553    |
| 22A5; 6E1; 10D1, 4C1; 7D3; 13F1; 14A6; 15H5; 5A8; 7A4; 및 이것들의 인간화된 버전  | US 2017/267762  |
| 1E9; h1E9-1; h1E9-2; h1E9-4; h1E9-5; 4B10; h4B10-1; h4B10-2; h4B10-3; 1B10; 10B4; A09; C07; F09; G08; G10; H08; H09; 및 1353-G10  | US 2018/142022  |
| M136-M13-MHC723; m136-M14-MHC724; m136-M19-MHC725; m245-M3-MHC728; m245-M5-MHC729; A1.0; A1.6; Ba2; Bb2/C1.1; 및 D4   | US 2017/0044259 |
| PD-1 mAb 1; PD-1 mAb 2; PD-1 mAb 3; PD-1 mAb 4; PD-1 mAb 5; PD-1 mAb 6; PD-1 mAb 7; PD-1 mAb 8; PD-1 mAb 9; PD-1 mAb 10; PD-1 mAb 11; PD-1 mAb 12; PD-1 mAb 13; PD-1 mAb 14; PD-1 mAb 15; 및 이것들의 인간화된 버전: hPD-1 mAb 2; hPD-1 mAb 7; hPD-1 mAb 9; hPD-1 mAb 15;   | US 2017/019846  |
| PD1B11; PD1B70; PD1B71; PD1B114 및 이것들의 친화도-성숙화된 변이체: PD1B149; PD1B160; PD1B162; PD1B164; PD1B183; PD1B184; PD1B185; PD1B187; PD1B192; PD1B175; PD1B177; PD1B194; PD1B195; PD1B196; PD1B197; PD1B198; PD1B199; PD1B200; PD1B201   | US 20017/079112 |
| BAP049-hum01; BAP049-hum02; BAP049-hum03; BAP049-hum04; BAP049-hum05; BAP049-hum06; BAP049-hum07; BAP049-hum08; BAP049-hum09; BAP049-hum10; BAP049-hum11; BAP049-hum12; BAP049-hum13; BAP049-hum14; BAP049-hum15; BAP049-hum16; BAP049-Clone-A; BAP049-Clone-B; BAP049-Clone-C; BAP049-Clone-D; 또는 BAP049-Clone-E; PDR-001 | US 2018/0371093 |
| AGEN-2034; AGEN-2034w; AGEN2033w; AGEN2046w; AGEN2047w; AGEN2001w; AGEN2002w; EPI 1 p11_B03; EPI1 p11_B05; EPI1 p11_C02; EPI1 p11_C03  | US 2017/081409  |

[0274]

| 표 1<br>PD-1-결합 도메인/분자   |                                |
|---|--------------------------------|
| 명칭  | 참고문헌(들)                        |
| m136-M13- MHC723; m136-M19- MHC725; m245-M3- MHC728; m245-M5- MHC729; m136-M14- MHC724; 및 인간화된 변이체 PD-1 A; PD-1 Ab; PD-1 Ae; PD-1 Af; PD-1 Ba; PD-1 Bb; PD-1 C; PD-1 Ca; PD-1 D; PD-1 1.0; PD-1 1.1; PD-1 1.2; PD-1 1.4; PD-1 1.5; PD-1 1.6; PD-1 1.7; PD-1 1.9; PD-1 1.10; PD-1 2; PD-1 4; CX188 | US 2017/044259                 |
| 244C8; 388D4; 413E1; 246A10; 413D2; 및 인간화된 변이체 D4-HC3+LC1; D4-HC1+LC3; D4-HC3+LC3; C8-HC1+LC1; C8-HC1+LC3; C8-HC2+LC1   | US 10,239,942                  |
| PRS-332; 서열 번호: 59-84 및 112-117 로부터 선택된 VH; 및 서열 번호: 85-111 및 118-123 으로부터 선택된 VL   | US 2019/010231                 |
| H005-1  | US 2016/376367                 |
| BA08-1  | US 2017/210806                 |
| R3A1; R3A2; R4B3; R3B7; R3D6; A2 #1; A2 #2  | US 2018/244779                 |
| BY18.1  | WO 2016/180034                 |
| 항체 A, 항체 B, 항체 C, 항체 D, 항체 E, 항체 F, 항체 G, 항체 H, 항체 I; 11430   | US 2017/0044260                |
| SHB-128; SHB-152; SHB-168; SHB-617; 및 인간화된 변이체 SSI-361  | US 2018/346569                 |
| E8-3; C2-3; E1-3; F3-3; H8-3; C10-2; G2-1; G3-2; H2-1; H4-2; C8-1; G10-2; 135C12; 136B4; 139D6; 136E10; 122F10; 139D6; 137F2  | US 9,982,052                   |
| AB12M3; AB12M4; AB12M5; AB12M6; AB12M7; AB12M8; AB12M9  | US 2018/113258                 |
| 1.7.3 hAb; 1.49.9 hAb; 1.103.11 hAb; 1.139.15 hAb; 1.153.7 hAb  | US 2017/024515; US 2017/025051 |
| 949 및 949 VK1 gL9 gH8b 를 포함하는 인간화된 변이체  | US 9,102,728                   |
| 948 및 인간화된 변이체  | US 8,993,731                   |
| STM-432   | US 2019/077866                 |

[0275]

[0276]

본원에서 제공된 PD-1-결합 분자가 본 발명의 방법에서 직접 사용될 수 있거나, 또는 서열 또는 폴리펩타이드 사슬이 대안의 PD-1-결합 분자, 또는 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 구성에 이용될 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다.

[0277]

**B. PD-L1-결합 도메인 및 분자**

[0278]

한 구체예에서 PD-L1-결합 도메인은 서열 번호: 43 및 서열 번호: 47의 VL 및 VH 도메인의 CDR을 포함한다. 또 다른 구체예에서, PD-L1-결합 도메인은 서열 번호: 43 및 서열 번호: 47의 인간화된 VL 및 VH 도메인을 포함한다.

[0279]

이러한 인간화된 VL<sub>PD-L1</sub> 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 43):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVITCKASQDVN TAVAWYQQKPGKAPKLLIYW  
**ASTRHT**GVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ** **HYNTPLT**FGQ  
 GTKVEIK

[0280]

이러한 VL<sub>PD-L1</sub>의 CDR은 다음과 같다:

[0282]

CDR<sub>L1</sub> 서열 번호: 44: KASQDVNTAVA;

[0283]

CDR<sub>L2</sub> 서열 번호: 45: WASTRHT; 및

[0284]

CDR<sub>L3</sub> 서열 번호: 46: QQHYNTPLT.

[0285] 이러한 VH<sub>PD-L1</sub> 인간화된 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 47):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SYTMSWVRQA** PGKGLEWVAY  
**ISIGGGTTY PDTVKGRFTI** SRDNAKNTLY LQMNSLKTED TAVYYCAR**QG**  
**LPYYFDYWGQ** GTLVTVSS

[0286]

[0287] 이러한 VH<sub>PD-L1</sub>의 CDR은 다음과 같다:

[0288] CDR<sub>H1</sub> 서열 번호: 48: SYTM;

[0289] CDR<sub>H2</sub> 서열 번호: 49: YISIGGGTTYYPDTVK; 및

[0290] CDR<sub>H3</sub> 서열 번호: 50: QGLPYYFDY.

[0291] 대안의 PD-L1-결합 도메인, 및 그것을 포함하는 분자가 기재되어 있고, 표 2에서 제공되는 것들을 포함하지만, 이것들에 제한되는 것은 아니며, 이것들은 본원에서 일반 명칭 또는 INN 명칭으로 불릴 수 있다.

표 2

| 표 2<br>PD-L1-결합 분자   |   |
|--|---|
| 명칭   | 참고문헌(들)   |
| 아테브렐리맵 (CAS Reg No.: 2247114-85-6, HTI-1088, SHR-1316 로도 알려져 있으며, Hengrui Therapeutics 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 122, 33(4):804-805    |
| 아테졸리주맵 (CAS Reg. No.: 2118349-31-6, MPDL3280A, RG7446 으로도 알려져 있으며, Genentech, Inc.에 의해 TECENTRIQ®로 판매된다)   | WHO Drug Information, 2015, Recommended INN: List 74, 29(3):387     |
| 아벨루맵 (CAS Reg. No.: 2118349-31-6, MSB-0010718C, MSB0010682, MSB0010718C 로도 알려져 있으며, EMD Serono 에 의해 BAVENCIO®로 판매된다)   | WHO Drug Information, 2016, Recommended INN: List 74, 30(1):100-101 |
| 빈트라푸스프 알파 (CAS Reg. No.: 1918149-01-5, PD-L1 에 대한 인간 IgG1 단클론성 항체에 융합된 TGF-βRII (TGF-β “트랩(trap)”)의 2 개의 세포외 도메인을 가진 이기능성 융합 단백질, M7824 로도 알려져 있으며, Merck 및 GSK 에 의해 개발 중이다) | WHO Drug Information, 2019, Recommended INN: List 81, 33(1):52-54   |
| 코시벨리맵 (CAS Reg No.: 2216751-26-5, CK-301 로도 알려져 있으며, Checkpoint Therapeutics 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):258-259    |
| 두르발루맵 (CAS Reg. No.: 2118349-31-6, MEDI4736 로도 알려져 있으며, AstraZeneca 에 의해 IMFINZI®로 판매된다)   | WHO Drug Information, 2015, Recommended INN: List 74, 29(3):393-394 |
| 엔바플리맵 (CAS Reg. No.: 2102192-68-5, N-035 로도 알려져 있는 단일 도메인 항체, Alphamab Co.에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information, 2019, Recommended INN: List 82, 33(3):634-635 |

[0292]

| 표 2<br>PD-L1-결합 분자  |  |
|---|--|
| 명칭  | 참고문헌(들)  |
| 마넬리맵 (CAS Reg No.: 2168561-26-8, BCD-135 로도 알려져 있으며, CJSC Biocad 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):289-290 |
| 오푸콜리맵 (CAS Reg. No.: 2251771-79-4, HLX20 으로서도 알려져 있으며, Henlix Biotech 에 의해 개발 중이다)  | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 122, 33(4):866-867 |
| 파크말리맵 (CAS Reg No.: 2145091-51-4, CX-072 로도 알려져 있는 PROBODY™, CytomX Therapeutics 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):312-313 |
| 수게말리맵 (CAS Reg. No.: 2256084-03-2, CS-1001, WBP-315, WBP 3155 로도 알려져 있으며, CStone Pharmaceuticals 에 의해 개발 중이다)   | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 122, 33(4):892-893 |
| A09-188-1, 및 친화도-성숙화된 및 최적화된 변이체: A09-204-1, A09-211-1, A09-212-1, A09-213-1, A09-214-1, A09-215-1, A09-216-1, A09-219-1, A09-220-1, A09-221-1, A09-222-1, A09-223-1, A09-202-1, A09-248-2, A09-239-2, A09-240-2, A09-241-2, A09-242-2, A09-243-2, A09-244-2, A09-245-2, A09-246-2, A09-247-2 | US 9,624,298   |
| YW243.55.S70; 243.55.H1; 243.55.H12; 243.55.H37; 243.55.H70; 243.55.H89; 243.55.S1; 243.55.5; 243.55.8; 243.55.30; 243.55.34; 243.55.S37; 243.55.49; 243.55.51; 243.55.62; 243.55.84  | US 8,217,149   |
| 2.9D10, 2.7A4, 2.14H9, 3.15G8, 2.20A8, 3.18G1, 2.7A4OPT, 또는 2.14H9OPT   | US 8,779,108B2   |
| 1B9.2E11.2, 4H1.G10.15, 1A8, 1E4, 8G2, 1D11, 3A2, 3B11, 3F4, 3H6, 4C1, 4E1, 5A6, 9C12, 1B4, 1B11, 1F6, 1H8, 1H12, 2D5, 2H11, 3D12, 4C8, 4C9, 5E10, 5H4, 5H5, 8A1, 9G9, 10A7, 및 10H6   | US 2015/0197571  |
| 1D05, 84G09, 411B08, 411C04, 411D07, 386H03, 386A03, 385F01, 413D08, 413G05, 413F09, 414B06   | US 9,617,338   |

[0293]

| 표 2<br>PD-L1-결합 분자   |                 |
|--|-----------------|
| 명칭   | 참고문헌(들)         |
| 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7, 및 13G4  | US 9,273,135    |
| A1, C2, C4, H12, 및 H12-GL  | US 2017/0319690 |
| Ab-14, Ab-16, Ab-22, Ab-30, Ab-31, Ab-32, Ab-38, Ab-42, Ab-46, Ab-50, Ab-52, Ab-55, Ab-56, 및 Ab-65   | US 9,828,434    |
| R2κA3, R2κA4, R2κA6, R2κF4, R2κH5, R2κH6, R2κH3, sR3κA8, sR3κA9, sR3κB2, sR3κB5, tccR3κA8, tccR3κA11, tccR3κB7, tccR3κD9, tccκF10, tctR3κA4, tctR3κF8, R2λA7, R2λB12, R2λ12, sR3λD7, sR3λE1, tccAF8, tccAD7, tctR3λH4, KD-033, 등   | US 2016/340429  |
| H2M8306N, H2M8307N, H2M8309N, H2M8310N, H2M8312N, H2M8314N, H2M8316N, H2M8317N, H2M8321N, H2M8323N, H2M8718N, H2M8718N2, and H2M8719N, H1H9323P, H1 H9327P, H1 H9329P, H1H9336P, H1H9344P2, 1H9345P2, H1H9351P2, H1H9354P2, H1 H9364P2, H1H9373P2, H1H9382P2, H1H9387P2, 및 H1H9396P2 | US 9,938,345    |
| 클론 8, 클론 12, 클론 16, 클론 18, 클론 60; 및 다음을 포함하는 그것들의 최적화된 변이체: cl; dl; g7; h9; b10; e10; a05; C05; C10; D08; G09; G10; G12; E11; D01; H06; C5H9; C5B10; C5E10; G12H9; G12B10; G12E10;   | US 2016/0311903 |

[0294]

| 표 2<br>PD-L1-결합 분자   |                 |
|--|-----------------|
| 명칭   | 참고문헌(들)         |
| BAP058 및 다음을 포함하는 그것들의 인간화된 변이체: BAP058-hum01, BAP058-hum02, BAP058-hum03, BAP058-hum04, BAP058-hum05, BAP058-hum06, BAP058-hum07, BAP058-hum08, BAP058-hum09, BAP058-hum10, BAP058-hum11, BAP058-hum12, BAP058-hum13, BAP058-hum14, BAP058-hum15, BAP058-hum16, 및 BAP058-hum17; FAZ-053 | US 9,988,452    |
| Mu333, Mu277, 및 다음을 포함하는 그것들의 인간화된 변이체: hu333-2B, hu333-3A2, hu333-3C2 및 hu333-3H2   | US 2018/215825  |
| 332M1 및 다음을 포함하는 그것들의 인간화된 변이체: 332M7, 332M72, 및 332M8   | US 2018/346571  |
| PDL1.1; PDL1.2   | US 8,741,295    |
| 13C5, 5G9, 5G11, 8C6, 7B4, 4D1, 4A8, 8H4, 8H3, 15F1; 및 hu5G11; hu13C5 를 포함하는 그것들의 인간화된 변이체:  | US 2017/0204184 |
| PDL1-56 dAb; Hu56V1; Hu56V2; Hu56V3; Hu56V4; Hu56V5; 및 KN035   | US 2018/0291103 |
| 1.4.1, 1.14.4, 1.20.15 및 1.46.11   | WO 2017/020858  |
| CTI-07, CTI-09, CTI-48, CTI-49, CTI-50, CTI-76, CTI-77, CTI-78, CTI-57, 또는 CTI-58  | US 2018/0002424 |
| 92; 24D5; 29H1; 9_2-1; 9_2-2; 9_2-3; 9_2-4; 9_2-5; 9_2-6; 9_2-7; 9_2-8; 9_2-9; 9_2-10; 24D5-H; HRP00049; HRP-00052   | US 2018/0334504 |
| 5F10; 9F6; 5C10 및 5C10H1L1; 5C10H1L2; 5C10H2L1; 및 5C10H2L2 를 포함하는 그것들의 인간화된 변이체  | US 2018/0305464 |
| 4B6, 26F5, 21F11, 23A11, 23F11 및 22C9; BM-GT, BM-ME, 4B6-H3L4, 4B6-H4L3, 23F11-H4L4, 23F11-H4L6, 23F11-H6L4, 23F11-H6L6, 23A11-H3L3, 23A11-H3L5, 23A11-H5L3 및 23A11-H5L5;  | WO 2017/161976  |

[0295]

| 표 2<br>PD-L1-결합 분자   |                |
|--|----------------|
| 명칭   | 참고문헌(들)        |
| 3C5-2G12 및 h3C5H1-h3C5L1; h3C5H2-h3C5L2; h3C5H3-h3C5L2; h3C5H4-h3C5L2 를 포함하는 그것들의 인간화된 변이체 | WO 2017/196867 |
| 29E.2A3 및 24F.10C12  | US 8,552,154   |
| PD-L1 MAB-1, PD-L1 MAB-2, PD-L1 MAB-3, 및 hPD-L1 MAB2, hPD-L1-MAB-3 를 포함하는 그것들의 인간화된 변이체    | WO 2020/041404 |

[0296]

[0297]

본원에서 제공된 PD-L1-결합 분자가 본 발명의 방법에서 직접 사용될 수 있거나, 또는 서열 또는 폴리펩타이드 사슬이 대안의 PD-L1-결합 분자, 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자의 구성에 이용될 수 있다는 것이 구체적

으로 고려된다.

[0298] **C. LAG-3-결합 도메인 및 분자**

[0299] 한 구체예에서, LAG-3-결합 도메인은 서열 번호: 51 및 서열 번호: 55의 VL 및 VH 도메인의 CDR을 포함한다. 또 다른 구체예에서, LAG-3-결합 도메인은 서열 번호: 51 및 서열 번호: 55의 인간화된 VL 및 VH 도메인을 포함한다.

[0300] 이러한 인간화된 VL<sub>LAG-3</sub> 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다: (서열 번호: 51):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS  
ASYRYTGVPS RFGSGSGSTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGG  
 GTKLEIK

[0301]

[0302] 이러한 VL<sub>LAG-3</sub> 도메인의 CDR은 다음을 포함한다:

[0303] CDR<sub>L1</sub> 서열 번호: 52: RASQDVSSVVA;

[0304] CDR<sub>L2</sub> 서열 번호: 53: SASRYT; 및

[0305] CDR<sub>L3</sub> 서열 번호: 54: QQHYSTPWT.

[0306] 이러한 인간화된 VH<sub>LAG-3</sub> 도메인의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 55):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYNMDWVRQA PGQGLEWMGD  
INPDNGVTIY NQKFEGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCAREA  
DYFYFDYWGQ GTTTLTVSS

[0307]

[0308] 이러한 VH<sub>LAG-3</sub> 도메인의 CDR은 다음을 포함한다:

[0309] CDR<sub>H1</sub> 서열 번호: 56: DYNMD;

[0310] CDR<sub>H2</sub> 서열 번호: 57: DINPDNGVTIYNQKFEG; 및

[0311] CDR<sub>H3</sub> 서열 번호: 58: EADYFYFDY.

[0312] 대안의 LAG-3-결합 도메인, 및 그것을 포함하는 분자가 기재되어 있고, 표 3에서 제공되는 것들을 포함하지만, 이것들에 제한되는 것은 아니며, 이것들은 본원에서 일반 명칭 또는 INN 명칭으로 불릴 수 있다.

표 3

| 표 3<br>LAG-3-결합 분자   |   |
|--|---|
| 명칭   | 참고문헌(들)   |
| 렐라틀리맵 (CAS Reg No.: 1673516-98-7, BMS-986016, ONO-4482 로도 알려져 있으며, Bristol-Myers Squibb 에 의해 개발 중이다) | WHO Drug Information, 2019, Recommended INN: List 81, 33(1):104-105 |
| 이에라밀리맵 (CAS Reg No.: 2137049-37-5, LAG-525, IMP-701 로도 알려져 있으며, Novartis 에 의해 개발 중이다)                | WHO Drug Information 2018, Proposed INN: List 120, 32(4):601-602    |
| 엔셀리맵 (CAS Reg No.: 2173096-82-5, TSR-033 으로도 알려져 있으며, Anaptysbio/Tessero 에 의해 개발 중이다)                | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):265-266    |
| 피안리맵 (CAS Reg No.: 2126132-98-5, REGN 3767 로도 알려져 있으며, Regneron 에 의해 개발 중이다)                         | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):271-272    |
| 마베첼리맵 (CAS Reg No.: 2231068-83-8, MK-4280 으로도 알려져 있으며, Merck 에 의해 개발 중이다)                            | WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2):290-291    |

[0313]

[0314]

본원에서 제공된 LAG-3-결합 분자가 본 발명의 방법에서 직접 사용될 수 있거나, 또는 서열 또는 폴리펩타이드 사슬이 대안의 LAG-3-결합 분자, 또는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자의 구성에 이용될 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다.

[0315]

**D. PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자**

[0316]

본 발명에 따라 사용될 수 있는, 인간 PD-1 (또는 PD-L1) 및 인간 LAG-3 둘 다에 면역특이적으로 결합하는 항체-기반 분자 (즉, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자)는 PD-1 (또는 PD-L1)의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 적어도 하나의 에피토프-결합 도메인 및 LAG-3의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 적어도 하나의 에피토프-결합 도메인을 포함할 것이다.

[0317]

특정 구체예에서, 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함할 것이다:

[0318]

(I) PD-1-특이적 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub>, 및 CDR<sub>L3</sub> 도메인을 포함하는 VL 도메인 (VL<sub>PD-1</sub>), 및 PD-1-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub> 도메인을 포함하는 VH 도메인 (VH<sub>PD-1</sub>)을 포함하는 PD-1-결합 도메인; 및

[0319]

(II) LAG-3-특이적 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub>, 및 CDR<sub>L3</sub> 도메인을 포함하는 VL 도메인 (VL<sub>LAG-3</sub>), 및 LAG-3-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub>, 및 CDR<sub>H3</sub> 도메인을 포함하는 VH 도메인 (VH<sub>LAG-3</sub>)을 포함하는 LAG-3-결합 도메인;

[0320]

여기서 PD-1-결합 도메인 및 LAG-3-결합 도메인은 표 1 및 3에서 제공된 것들로부터 선택된다.

[0321]

다른 구체예에서, 본 발명의 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함한다:

[0322]

(I) PD-L1-특이적 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub>, 및 CDR<sub>L3</sub> 도메인을 포함하는 VL 도메인 (VL<sub>PD-L1</sub>), 및 PD-L1-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub> 도메인을 포함하는 VH 도메인 (VH<sub>PD-L1</sub>)을 포함하는 PD-L1-결합 도메인; 및

[0323]

(II) LAG-3-특이적 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub>, 및 CDR<sub>L3</sub> 도메인을 포함하는 VL 도메인 (VL<sub>LAG-3</sub>), 및 LAG-3-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub>, 및 CDR<sub>H3</sub> 도메인을 포함하는 VH 도메인 (VH<sub>LAG-3</sub>)을 포함하는 LAG-3-결합 도메인;

[0324]

여기서 PD-L1-결합 도메인 및 LAG-3-결합 도메인은 표 2 및 3에서 제공된 것들로부터 선택된다.

[0325] 본 발명의 한 구체예는 Fc 도메인을 포함하는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자에 관한 것이다. 한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자는 ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않는 Fc 도메인을 포함한다. 한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자는 ADCC 활성을 거의 나타내지 않거나 전혀 나타내지 않고 혈청 반감기를 연장시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함한다.

[0326] 특정 구체예에서, 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디, 바람직하게는 PD-1에 특이적인 2개의 결합 부위, LAG-3에 특이적인 2개의 결합 부위, Fc 도메인, 및 시스테인-함유 E/K-코일 헤테로다이머-촉진 도메인을 가진 4개의 사슬의 Fc 도메인-함유 디아바디이다. 대표적인 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디의 일반적인 구조는 도 1에서 제공된다. 이러한 분자는 PD-1에 결합하는 항체의 VL 및 VH 도메인 (각각 VL<sub>PD-1</sub> 및 VH<sub>PD-1</sub>) 및 또한 LAG-3에 결합하는 항체의 VL 및 VH 도메인 (각각 VL<sub>LAG-3</sub> 및 VH<sub>LAG-3</sub>)을 포함한다. 따라서, 이러한 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 PD-1의 에피토프 및 LAG-3의 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다.

[0327] 1. DART-I

[0328] "DART-I" ("MGD013" 및 테보텔리맘으로도 알려져 있다)은 본 발명의 대표적인 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자이다. DART-I은 PD-1에 특이적인 2개의 결합 부위, LAG-3에 특이적인 2개의 결합 부위, 연장된 반감기를 위해 조작된 변이체 IgG4 Fc 도메인, 및 시스테인-함유 E/K-코일 헤테로다이머-촉진 도메인을 가진 이중특이적이고 4개의 사슬의 Fc 도메인-함유 디아바디이다. DART-I은 표 4에서 요약된 아미노산 서열을 가진 4개의 폴리펩타이드 사슬을 포함한다. 아미노산 서열은 아래에 더 상세히 기재되어 있다.

표 4

| 표 4 - DART-I 서열 번호                 |   |
|------------------------------------|---|
| DART-I (테보텔리맘)                     | 치환되는 폴리펩타이드<br>(N-말단에서 C-말단 방향으로)   |
| 제 1 및 제 3 폴리펩타이드 사슬<br>(서열 번호: 59) | 서열 번호: 51<br>서열 번호: 21<br>서열 번호: 39<br>서열 번호: 22<br>서열 번호: 25<br>서열 번호: 11<br>서열 번호: 20 |
| 제 2 및 제 4 폴리펩타이드 사슬<br>(서열 번호: 60) | 서열 번호: 35<br>서열 번호: 21<br>서열 번호: 55<br>서열 번호: 22<br>서열 번호: 26                           |

[0329]

[0330] DART-I의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, 다음을 포함한다: N-말단, LAG-3에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL<sub>LAG-3</sub> 서열 번호: 51); 개재 링커 펩타이드 (링커 1: GGGSGGG (서열 번호: 21)); PD-1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH<sub>PD-1</sub>) (서열 번호: 39); 시스테인-함유 개재 링커 펩타이드 (링커 2: GGCGG (서열 번호: 22)); 시스테인-함유 헤테로다이머-촉진 (E-코일) 도메인 (EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호: 25)); 안정화된 IgG4 힌지 영역을 포함하는 개재 링커 펩타이드 (링커 3) (서열 번호: 11); 치환 M252Y/S254T/T256E를 포함하고 C-말단 잔기가 없는 변이체 IgG4 CH2-CH3

도메인 (서열 번호: 20); 및 C-말단.

[0331] DART-I의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 59):

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPV RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYSTPWTFFG
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLV QSGAEVKKPG ASVKVSKAS GYSFTSYWMN
WVRQAPGQGL EWIGVIHPSD SETWLDQKFK DRVTITVDKS TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY CAREHYGTSP FAYWGQGTLV TVSSGGCGGG EVAACEKEVA
ALEKEVAALE KEVAALEKES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT
LYITREPEVT CVVVDVSDQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLG
```

[0332]

[0333] DART-I의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, 다음을 포함한다: N-말단, PD-1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL<sub>PD-1</sub>) (서열 번호: 35); 개재 링커 펩타이드 (링커 1: GGGSGGG (서열 번호: 21)); LAG-3에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH<sub>LAG-3</sub>) (서열 번호: 55); 시스테인-함유 개재 링커 펩타이드 (링커 2: GGCGG (서열 번호: 22)); 시스테인-함유 헤테로다이머-촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호: 26)); 및 C-말단.

[0334] DART-I의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 다음과 같다 (서열 번호: 60):

```
EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI KGGGSGGGGQ VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGYTFTD
YNMDWVRQAP GQGLEWMGDI NPDNGVTIYN QKFEGRVTMT TDTSTSTAYM
ELRSLRSDDT AVYYCAREAD YFYFDYWGQG TLTIVSSGGC GGGKVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E
```

[0335]

[0336] DART-I의 변이체는 대안의 VH/VL 도메인, 개재 링커, Fc 도메인을 포함시키고, 및/또는 하나 이상의 아미노산 치환, 추가, 또는 결실을 도입함으로써 쉽게 생성될 수 있다. 예를 들어, Fc<sub>γ</sub>R 결합 및/또는 ADCC 활성을 감소/폐지시키고 연장된 반감기를 위해 조작된 변이체 IgG1 Fc 도메인은 서열 번호: 20 대신에 치환 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E를 포함하는 CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호: 19)을 포함시킴으로써 쉽게 생성된다. 이러한 변이체의 링커 3은 IgG1 힌지 (서열 번호: 33, 서열 번호: 35, 또는 서열 번호: 34)를 포함할 수 있다. 본 발명의 방법에서 사용될 수 있는 추가적인 링커 및 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 WO 2015/200119; 및 WO 2017/019846에 개시되어 있다 (특히 "DART-A", "DART-B", "DART-C", "DART-D", "DART-E", "DART-F", 및 "DART-G" 참조, 이것들의 서열은 표 14에서 기재되어 있다).

[0337] 2. 추가적인 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자

[0338] 본 발명의 방법에서 사용될 수 있는 다른 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자가 기재되어 있고, 표 5에서 제공되고 하기 추가로 기재된 것들을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

표 5

| 표 5<br>PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자   |                |
|---|----------------|
| 명칭  | 참고문헌(들)        |
| 보고된 서열 번호: 5 및 4; 6 및 4; 3 및 4; 3 및 7; 3 및 8; 9 및 4; 10 및 4; 3 및 11; 3 및 12의 조합을 포함하는 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자  | WO 2017/025498 |
| 다음과 같이 지정된 PD-L1 x LAG3 이중특이적 분자: FS18-7-9/84G09; FS18-7-32/84G09; FS18-7-33/84G09; FS18-7-36/84G09; FS18-7-58/84G09; FS18-7-62/84G09; FS18-7-65/84G09; FS18-7-78/84G09; FS18-7-88/84G09; FS18-7-95/84G09 | WO 2017/220569 |
| 57E02x51A09-188001 mAbdAb 로 지정된 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자; 및 많은 PD-1 및 LAG-3 에피토프 결합 도메인   | WO 2018/083087 |
| 보고된 서열 번호: 74 및 66; 61 및 75; 85 및 66; 61 및 86; 78 및 62; 65 및 79; 65 및 81; 78 및 79; 65 및 62; 61 및 66; 76 및 66; 61 및 77; 80 및 62; 65 및 81의 조합을 포함하는 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자                                    | WO 2018/134279 |
| 다음과 같이 지정된 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자: 0799, 0927, 0222, 0224, 8970, 8984, 9010, 8310, 8311, 1252, 8312, 8313, 1088, 0918, 0725   | WO 2018/185043 |
| 다음과 같이 지정된 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자: A, B, C, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U,  | WO 2018/217940 |
| 다음과 같이 지정된 PD-1 x LAG3 이중특이적 분자: 18ASS, 90ASU, 33ARK  | WO 2019/148412 |

[0339]

[0340] PD-1 x LAG3 이중특이적 항체-리포칼린 돌연변이 단백질(mutein) 융합 단백질은 WO 2017/025498 및 WO 2018/134279에 기재되어 있다. 이러한 항체-리포칼린 돌연변이 단백질 융합 단백질의 예는 중쇄의 C-말단에 유전적으로 융합된 LAG-3에 결합하도록 조작된 리포칼린 돌연변이 단백질을 가진 항-PD-1 항체를 포함한다.

[0341] PD-1 x LAG-3 이중특이적 항체-도메인 항체 (항체-dAb) 융합 단백질은 WO 2018/083087에서 기재되어 있다. 이러한 항체-dAb 융합 단백질의 예는 중쇄의 C-말단에 유전적으로 융합된 항-PD-1 dAb를 가진 항-LAG-3 항체를 포함한다. CH1/Ck 도메인 교환 (단독으로 또는 VH/VL 교환과 조합으로) 및/또는 CH1/CL 계면에서 대전된 아미노산 치환을 포함하는 PD-1 x LAG-3 이중특이적 항체는 WO 2018/185043에서 개시되어 있다. 이러한 이중특이적 항체의 예는 crossFab (VH/VL 도메인 교환을 가짐)를 포함하는 하나의 LAG-3-결합 도메인 및 하나의 PD-1-결합 도메인을 갖는 4개의 폴리펩타이드 사슬 항체 (1+1 항체), 및 CH1/CK에서 돌연변이를 갖는 2개의 Fab 도메인 및 각각의 중쇄의 C-말단에 융합된 2개의 crossFab 도메인을 포함하는 2개의 LAG-3-결합 도메인 및 2개의 PD-1-결합 도메인을 포함하는 3개의 상이한 폴리펩타이드 사슬을 가진 3개의 폴리펩타이드 사슬 항체 (2+2 항체)를 포함한다.

[0342] 3개의 폴리펩타이드 사슬 Fab x scFvFc 구조 또는 2개의 폴리펩타이드 사슬 scFvFc x scFvFc 구조를 가진 PD-1 x LAG-3 이중특이적 항체는 WO 2018/217944 및 WO 2018/217940에 기재되어 있다. 이러한 이중특이적 항체의 예는 항-LAG3 scFvFc 홀(hole)과 쌍 형성된 항-PD1 scFvFc, 및 항-LAG3 반(half) IgG와 쌍 형성된 항 PD1 scFvFc (중쇄 + 경쇄)를 포함한다.

[0343] 본원에서 제공되는 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 본 발명의 방법에서 직

접 사용될 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다. 본원에서 제공되는 PD-1, PD-L1, 및 LAG-3-결합 분자 중 어느 것의 6개의 CDR (또는 VL 및 VH 도메인)을 포함하는 대안의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자가 생성될 수 있다 (예를 들어, **서열 번호: 35-58**, 및 **표 1-5** 참조).

[0344] **II. TA에 결합하는 항체-기반 분자**

[0345] 본 발명에 따라 사용될 수 있는, 종양 항원 (TA)에 면역특이적으로 결합하는 항체-기반 분자 (즉, TA-결합 분자)는 이러한 TA의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 적어도 하나의 에피토프-결합 도메인 (TA-결합 도메인)을 포함할 것이다.

[0346] 특정 구체예에서, 본 발명은 Fc 도메인을 더 포함하는 TA-결합 도메인을 포함하는 항체-기반 분자를 고려한다. 한 구체예에서, TA-결합 분자의 Fc 도메인은 야생형 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 Fc 도메인이다. 또 다른 구체예에서, TA 분자의 Fc 도메인은 **ADCC-향상된 Fc 도메인**이다.

[0347] 본 발명은 또한 다음을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 TA-결합 분자를 포함한다:

[0348] (a) ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이 및/또는 변형; 및/또는

[0349] (b) 혈청 반감기를 연장시키는 하나 이상의 돌연변이.

[0350] 한 구체예에서, TA-결합 분자는 FcMT1 ADCC-향상된 Fc 도메인 (**서열 번호: 16**), FcMT2 ADCC-향상된 Fc 도메인 (**서열 번호: 17**), 또는 FcMT3 ADCC-향상된 Fc 도메인 (**서열 번호: 18**)을 포함한다.

[0351] **A. 종양 항원**

[0352] 본 발명은 TA-결합 분자 및 다음을 포함하거나 이용하는 조성물 및 방법을 구체적으로 고려한다:

[0353] (1) PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자;

[0354] (2) 단일특이적 PD-1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자;

[0355] (3) PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는

[0356] (4) 단일특이적 PD-L1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자,

[0357] 여기서 이러한 단일특이적 결합 분자는 온전한 항체이고, 이러한 이중특이적 분자는 디아바디 또는 이중특이적 항체이다. 특정 구체예에서 TA-결합 분자는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함한다.

[0358] 이러한 TA-결합 분자에 의해 결합될 수 있는 종양 항원은 **표 6A-6B**에서 제공된 것들을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니며, 이것들은 본원에서 일반 명칭, 약식 명칭, 및/또는 유전자 명칭으로 불릴 수 있다.

[0359] [표 6A]

| 표 6A<br>종양 항원                       |                      |                  |
|-------------------------------------|----------------------|------------------|
| 단백질 종양 항원                           | 유전자 명칭(들)            | UniProtKB ID No. |
| 알파-N-아세틸갈락토사미나이드 알파-2,6-시알릴트랜스퍼라제 6 | ST6GALNAC6; CA19-9   | Q969X2           |
| 5,6-디하이드록시인톨-2-카르복실산 옥시다제           | TYRP1; gp75          | P17643           |
| 활성화된 백혈구 세포 부착 분자                   | ALCAM ; CD166        | Q13740           |
| 알파-1,4-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제            | A4GNT                | Q9UNA3           |
| B 특색종 항원 1                          | BAGE; CT2.1          | Q13072           |
| 바시긴                                 | BSG; CD147           | P35613           |
| B-세포 항원 수용체 복합체-관련된 단백질 알파 사슬       | CD79A                | P11912           |
| B-세포 항원 수용체 복합체-관련된 단백질 베타 사슬       | CD79B                | P40259           |
| B-세포 수용체 CD22                       | BL-CAM; CD22         | P20273           |
| B-림프구 항원 CD19                       | CD19                 | P15391           |
| B-림프구 항원 CD20                       | MS4A1; CD20          | P11836           |
| 골수 기질 항원 2                          | BST2; CD317          | Q10589           |
| 캄파스-1 항원                            | CD52                 | P31358           |
| 탄산 탈수 효소 14                         | CA14                 | Q9ULX7           |
| 카르복시펩티다제 M                          | CPM                  | P14384           |
| 암종 배아 항원-관련된 세포 부착 분자 5             | CEACAM5; CD66e       | P06731           |
| 암종 배아 항원-관련된 세포 부착 분자 6             | CEACAM6; CD66c       | P40199           |
| 카테닌 베타-1                            | CTNNB1; 베타-카테닌       | P35222           |
| CD27 항원                             | CD27                 | P26842           |
| CD276 항원                            | CD276; B7-H3         | Q5ZPR3           |
| CD40 리간드                            | CD40LG; CD154        | P29965           |
| 세포 표면 A33 항원                        | GPA33                | Q99795           |
| 콘드로이틴 설페이트 프로테오글리칸 4                | CSPG4                | Q6UVK1           |
| C형 렉틴 도메인 패밀리 구성원 4 C               | CLEC4C; BDCA2; CD303 | Q8WTT0           |
| 사이클린-의존적 키나제 4                      | CDK4                 | P11802           |
| 세포독성 T-림프구 단백질 4                    | CTLA4                | P16410           |
| 디스인테그린 및 메탈로프로테아제 도메인-함유 단백질 9      | ADAM-9               | Q13443           |

[0360]

| 표 6A<br>종양 항원                                   |                      |                  |
|---|----------------------|------------------|
| 단백질 종양 항원                                       | 유전자 명칭(들)            | UniProtKB ID No. |
| 에프린 A 형 수용체 2                                   | EPHA2                | P29317           |
| 표피 성장 인자 수용체                                    | EGFR; ERBB1; HER1    | P00533           |
| 상피 세포 부착 분자                                     | EPCAM; CD326         | P16422           |
| G 항원 1  | GAGE1; CT4.1         | Q13065           |
| G 항원 2A   | GAGE2A               | Q6NT46           |
| G 항원 2B/C                                       | GAGE2B               | Q13066           |
| G 항원 2D   | GAGE2D               | Q9UEU5           |
| G 항원 2E   | GAGE2E               | Q4V326           |
| G2/유사분열-특이적 사이클린-B1                             | CCNB1                | P14635           |
| GDP-L-푸코스 신타제                                   | TSTA3                | Q13630           |
| 글루타메이트 카복시캡티다제 2                                | FOLH1; PSMA          | Q04609           |
| 히알루로니다제-2                                       | HYLA2; LUCA2         | Q12891           |
| 비활성 티로신-단백질 키나제 막관통 수용체 ROR1                    | ROR1; NTRKR1         | Q01973           |
| 인테그린 알파-E                                       | ITGAE; CD103         | P38570           |
| 인테그린 베타-6                                       | ITGB6                | P18564           |
| 인터류킨-13 수용체 서브유닛 알파-2 (CD123, 인터류킨-3 수용체의 서브유닛) | IL13RA2; CD213a2     | Q14627           |
| 인터류킨-2 수용체 서브유닛 알파                              | IL2RA; CD25          | P01589           |
| 접합부 부착 분자 C                                     | JAM3                 | Q9BX67           |
| 케라틴, II 형 세포골격 8                                | CK-8; KRT8           | P05787           |
| 락타드헤린   | MFG8                 | Q08431           |
| 저친화도 면역글로블린 엡실론 Fc 수용체                          | FCER2; CD23          | P06734           |
| 멜라노사이트 단백질 PMEL                                 | PMEL; gp100          | P40967           |
| T-세포 1 에 의해 인식된, L 흑색종 항원                       | MLANA; MART1         | Q16655           |
| 흑색종-관련된 항원 1                                    | MAGEA1; MAGE1        | P43355           |
| 흑색종-관련된 항원 3                                    | MAGEA3; MAGE3        | P43357           |
| 멜라노트랜스페린  | MELTF; MAAP97; CD228 | P08582           |
| 막 보조인자 단백질                                      | CD46                 | P15529           |
| 메소테린  | MSLN                 | Q13421           |
| 뮤신-1  | MUC1; PEM            | P15941           |
| 뮤신-16   | MUC16; CA-125        | Q8WXI7           |
| 골수 세포 표면 항원 CD33                                | CD33                 | P20138           |
| 신경 세포 부착 분자 1                                   | NCAM1; CD56          | P13591           |
| 온코스타틴-M   | OSM                  | P13725           |

[0361]

| 표 6A<br>종양 항원              |                         |                  |
|----------------------------|-------------------------|------------------|
| 단백질 종양 항원                  | 유전자 명칭(들)               | UniProtKB ID No. |
| 온코스타틴-M-특이적 수용체 서브유닛 베타    | OSMR; IL31RB            | Q99650           |
| 혈소판 당단백질 4                 | CD36                    | P16671           |
| 예정된 세포 사멸 1 리간드 1          | CD274                   | Q9NZQ7           |
| 프로사포신 수용체 GPR37            | GPR37                   | O15354           |
| 전립선-특이적 항원                 | KLK3; PSA               | P07288           |
| 전립선산 포스파타제                 | ACPP                    | P15309           |
| 단백질 PML                    | PML; TRIM19; My1        | P29590           |
| PWWP 도메인-함유 DNA 수리 인자 3A   | PWWP3A; MUM1            | Q2TAK8           |
| 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2     | ERBB2; HER2; CD340      | P04626           |
| 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-3     | ERBB3; HER3             | P21860           |
| 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-4     | ERBB4; HER4             | Q15303           |
| 수용체-유형 티로신-단백질 포스파타제 C     | PTPRC; CD45             | P08575           |
| T-세포 표면 당단백질 CD5           | CD5                     | P06127           |
| T-세포-특이적 표면 당단백질 CD28      | CD28                    | P10747           |
| 트랜스페린 수용체 단백질 1            | TFRC; CD71              | P02786           |
| 막관통 4 L6 패밀리를 구성원 1        | TM4SF1; TAAL6           | P30408           |
| 영양막 당단백질                   | TPBG; 5T4               | Q13641           |
| 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 10B | TNFRSF10B; DR5; CD262   | O14763           |
| 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 1A  | TNFRSF1A; TNFR1; CD120a | P19438           |
| 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 1B  | TNFRSF1B; TNFR2; CD120b | P20333           |
| 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 3   | LTBR; TNFR3             | P36941           |
| 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 5   | CD40                    | P25942           |
| 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 6   | TNFR6; Apo-1; Fas; CD95 | P25445           |
| 유비퀴틴-접합 효소 E2 K            | UBE2K                   | P61086           |
| 유비퀴틴-단백질 리가제 E3A           | UBE3A                   | Q05086           |
| 혈관 내피 성장 인자 A              | VEGFA                   | P15692           |
| 혈관 내피 성장 인자 B              | VEGFB                   | P49765           |
| 혈관 내피 성장 인자 수용체 1          | FLT1; VEGFR1            | P17948           |
| 혈관 내피 성장 인자 수용체 2          | KDR; VEGFR2; CD309      | P35968           |
| 혈관 내피 성장 인자 수용체 3          | FLT4; VEGFR3            | P35916           |
| 아연 집게 단백질 354C             | ZNF354C; KID3           | Q86Y25           |

[0362]

[0363] [표 6B]

| <b>표 6B</b>                              |  |
|--|--|
| <b>중양 항원</b>                             |  |
| 중양 항원                                    | 인용구(들)   |
| 3-푸코실-N-아세틸락토사민                          | Gooi, H.C. (1983), "Marker Of Peripheral Blood Granulocytes And Monocytes Of Man Recognized By Two Monoclonal Antibodies VEP8 And VEP9 Involves The Trisaccharide 3-Fucosyl-N-Acetylactosamine," <i>Eur. J. Immuno.</i> 13(4):306-12.  |
| 혈액형 A 형 항원                               | Gooi, H.C., et al. (1983) "Monoclonal Antibody Reactive With The Human Epidermal Growth Factor Receptor Recognizes The Blood Group A Antigen," <i>Biosci. Rep.</i> 3(11):1045-52.  |
| 디푸코실 1 형 사슬 (ALeb)<br>디푸코실 2 형 사슬 (ALey) | Dohi, T. et al. (1989) "Immunohistochemical Study Of Carbohydrate Antigen Expression In Gastric Carcinoma," <i>Gastroenterol Jpn.</i> 24(3): 239-45;<br>Yazawa, S. et al. (1993), "Aberrant alpha1→2 Fucosyltransferases Found in Human Colorectal Carcinoma Involved in the Accumulation of Leb and Y Antigens in Colorectal Tumors," <i>Jpn. J. Cancer Res.</i> 84:989-995 |
| 갱글리오사이드 항원 4.2                           | Nudelman, E. et al. (1982) "Characterization Of A Human Melanoma-Associated Ganglioside Antigen Defined By Monoclonal Antibody, 4.2," <i>J. Biol. Chem.</i> 257(21): 12752-6.  |
| 갱글리오사이드 항원 D1.1                          | Levine, J.M., et al. (1984) "The D1.1 Antigen: A Cell-Surface Marker For Germinal Cells Of The Central Nervous System," <i>J. Neurosci.</i> 4(3):820-31.   |
| 갱글리오사이드 GD2/GD3/GM2/GM3                  | Krengel, U. and Bousquet P.A. (2014), "Molecular Recognition of Gangliosides and Their Potential for Cancer Immunotherapies," <i>Front. Immuno.</i> 5(325):1-11.   |
| 락토실세라미드                                  | Symington, F.W. (1984) "Monoclonal Antibody Specific for Lactosylceramide," <i>J. Biol. Chem.</i> 259(9):6008-6012.  |
| Rh 항원 (D, C, c, E 또는 e)                  | Avent, N.D. and Reid, M.E. (2000) "The Rh Blood Group System: A Review," <i>Blood</i> 95:375-387.  |
| 시알릴-Tn                                   | Holmberg, L.A. (2001) "Therape Vaccine (STn-KLH)," <i>Expert Opin. Biol. Ther.</i> 1(5):881-91.  |

[0364]

[0365] B. TA-결합 도메인 및 분자

[0366] 많은 TA-결합 분자가 해당 분야에 공지되어 있거나 본원에서 기재된 것들을 포함한 널리 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. TA-결합 분자는 단일특이적, 또는 이중특이적일 수 있다. TA-결합 도메인을 포함하고, 따라서 그 서열 또는 폴리펩타이드 사슬이 본 발명의 TA-결합 분자 (예를 들어, ADCC-향상된 TA-결합 분자)의 구성에 이용되거나, 또는 그것으로 사용될 수 있는 대표적인 TA-결합 분자는 표 7에서 나열된다. 여러 TA-결합 분자에 대한 CDR, VH 및 VL 도메인이 하기 제공된다.

표 7

| 표 7<br>TA-결합 분자 |                 |                  |
|-----------------|-----------------|------------------|
| 항체 명칭           | 종양 항원(들)        | 치료 표적 적용         |
| 아바고보맙           | CA-125          | 난소암              |
| 아데카투무맙          | Epcam           | 전립선암 및 유방암       |
| 아푸투주맙           | CD20            | 림프종              |
| 알라시주맙           | VEGFR2          | 암                |
| 알투모맙            | CEA             | 결장직장암            |
| 아마톡시맙           | 메소테린            | 암                |
| 아나투모맙<br>마페나톡스  | TAG-72          | 비-소세포 폐 암종       |
| 아니프롤루맙          | 인터페론 α/B<br>수용체 | 전신성 홍반성 루푸스      |
| 안루킨주맙           | IL-13           | 암                |
| 아폴리주맙           | HLA-DR          | 혈액학적 암           |
| 아르시투모맙          | CEA             | 위장암              |
| 아티누맙            | RTN4            | 암                |
| 벡투모맙            | CD22            | 비-호지킨 림프종 (검출)   |
| 벨리무맙            | BAFF            | 비-호지킨 림프종        |
| 베바시주맙           | VEGF-A          | 전이성 암, 미숙아 망막증   |
| 비바투주맙           | CD44 V6         | 편평 세포 암종         |
| 블리나투모맙          | CD19            | 암                |
| 브렌톡시맙           | CD30 (TNFRSF8)  | 혈액학적 암           |
| 칸투주맙            | MUC1            | 암                |
| 칸투주맙<br>메르탄신    | 뮤신 Canag        | 결장직장암            |
| 카플라시주맙          | VWF             | 암                |
| 카프로맙            | 전립선 암종 세포       | 전립선암 (검출)        |
| 칼루맙             | MCP-1           | 종양학/면역 적응증       |
| 카투막소맙           | Epcam, CD3      | 난소암, 악성 복수, 위암   |
| 세톡시맙            | EGFR            | 전이성 결장직장암 및 두경부암 |
| 시타투주맙           | Epcam           | 난소암 및 다른 고체 종양   |
| 식수투무맙           | IGF-1 수용체       | 고체 종양            |
| 클리바투주맙          | MUC1            | 췌장암              |

[0367]

| 표 7<br>TA-결합 분자 |                        |                              |
|-----------------|------------------------|------------------------------|
| 항체 명칭           | 증양 항원(들)               | 치료 표적 적용                     |
| 코나투무맙           | TRAIL-R2               | 암                            |
| 다세투주맙           | CD40                   | 혈액학적 암                       |
| 달로투주맙           | 인슐린-유사 성장 인자 I 수용체     | 암                            |
| 다라투무맙           | CD38                   | 암                            |
| 데미주맙            | DLL4                   | 암                            |
| 데닌투주맙           | CD19                   | 급성 림프구성 백혈병 및 B-세포 비-호지킨 림프종 |
| 데투모맙            | B-림프종 세포               | 림프종                          |
| 드로지투맙           | DR5                    | 암                            |
| 돌리고투맙           | HER3                   | 암                            |
| 두시기투맙           | ILGF2                  | 암                            |
| 에크로멕시맙          | GD3<br>갱글리오사이드         | 악성 흑색종                       |
| 에드레폴로맙          | Epcam                  | 결장직장 암종                      |
| 엘로투주맙           | SLAMF7                 | 다발성 골수종                      |
| 엘살리모맙           | IL-6                   | 암                            |
| 에나바투주맙          | TWEAK 수용체              | 암                            |
| 엔리모맙            | ICAM-1 (CD54)          | 암                            |
| 에노티쿠맙           | DLL4                   | 암                            |
| 엔시톡시맙           | 5AC                    | 암                            |
| 에피투모맙<br>시톡세탄   | 에피시알린                  | 암                            |
| 에프라투주맙          | CD22                   | 암, SLE                       |
| 에르투막소맙          | HER2, CD3              | 유방암                          |
| 에타라시주맙          | 인테그린 $\alpha_v\beta_3$ | 흑색종, 전립선암, 난소암               |
| 파랄리모맙           | 인터페론 수용체               | 암                            |
| 파를레투주맙          | 플레이트 수용체 1             | 난소암                          |
| 파시누맙            | HNGF                   | 암                            |
| Fbta05 (Bi20)   | CD20                   | 만성 림프성 백혈병                   |
| 피클라투주맙          | HGF                    | 암                            |
| 피지투무맙           | IGF-1 수용체              | 부신피질 암종, 비-소세포 폐 암종          |

[0368]

| 표 7<br>TA-결합 분자 |                       |                   |
|-----------------|-----------------------|-------------------|
| 항체 명칭           | 종양 항원(들)              | 치료 표적 적용          |
| 플란보투맙           | TYRP1<br>(당단백질 75)    | 흑색종               |
| 플로테투주맙          | CD123                 | 급성 골수성 백혈병        |
| 프레슬리우맙          | TGF-B                 | 암                 |
| 푸톡시맙            | EGFR                  | 암                 |
| 갈릭시맙            | CD80                  | B-세포 림프종          |
| 가니투맙            | IGF-I                 | 암                 |
| 젬투주맙<br>오조가미신   | CD33                  | 급성 골수성 백혈병        |
| 기렌톡시맙           | 탄산 탈수 효소 9<br>(CA-IX) | 투명 세포 신장 세포 암종    |
| 글렘바투무맙<br>베도틴   | GPNMB                 | 흑색종, 유방암          |
| 이브리투모맙<br>티옥세탄  | CD20                  | 비-호지킨 림프종         |
| 이크루쿠맙           | VEGFR-1               | 암                 |
| 임가투주맙           | EGFR                  | 암                 |
| 인클라쿠맙           | 셀렉틴 P                 | 암                 |
| 인다톡시맙<br>라브탄신   | SDC1                  | 암                 |
| 이노투주맙<br>오조가미신  | CD22                  | 암                 |
| 인테투무맙           | CD51                  | 고체 종양 (전립선암, 흑색종) |
| 이필리우맙           | CD152                 | 흑색종               |
| 이라투무맙           | CD30 (TNFRSF8)        | 호지킨 림프종           |
| 이톨리주맙           | CD6                   | 암                 |
| 라베투주맙           | CEA                   | 결장직장암             |
| 람팔리주맙           | CFD                   | 암                 |
| 레브리키주맙          | IL-13                 | 호지킨 림프종           |
| 렉사투무맙           | TRAIL-R2              | 암                 |
| 리젤리주맙           | IGHE                  | 암                 |
| 린투주맙            | CD33                  | 암                 |

[0369]

| 표 7<br>TA-결합 분자  |                   |                             |
|------------------|-------------------|-----------------------------|
| 항체 명칭            | 종양 항원(들)          | 치료 표적 적용                    |
| 리틸루맙             | KIR2D             | 암                           |
| 로르보투주맙           | CD56              | 암                           |
| 루카투무맙            | CD40              | 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종 |
| 루밀릭시맙            | CD23              | 만성 림프성 백혈병                  |
| 마파투무맙            | TRAIL-R1          | 암                           |
| 마투주맙             | EGFR              | 결장직장암, 폐암 및 위암              |
| 밀라투주맙            | CD74              | 다발성 골수종 및 다른 혈액학적 악성 종양     |
| 민레투모맙            | TAG-72            | 암                           |
| 미르조타맙<br>클레주토클락스 | B7-H3             | 암                           |
| 미투모맙             | GD3<br>갱글리오사이드    | 소세포 폐 암종                    |
| 모가물리주맙           | CCR4              | 암                           |
| 모롤리무맙            | 레수스(Rhesus)<br>인자 | 암                           |
| 목세투모맙<br>파수도톡스   | CD22              | 암                           |
| 나폴로맙<br>타페나톡스    | C242 항원           | 결장직장암                       |
| 나밀루맙             | CSF2              | 암                           |
| 나프투모맙<br>에스타페나톡스 | 5T4               | 비-소세포 폐 암종, 신장 세포 암종        |
| 나르나투맙            | RON               | 암                           |
| 낙시타맙             | GD2               | 신경아세포종, 골육종                 |
| 네시투무맙            | EGFR              | 비-소세포 폐 암종                  |
| 네헬리모맙            | TNF-A             | 암                           |
| 네스바쿠맙            | 안지오포이에틴 2         | 암                           |
| 니모투주맙            | EGFR              | 편평 세포 암종, 두경부암, 비인두암, 신경교종  |
| 노페투모맙            | 미결정               | 암                           |

[0370]

| 표 7<br>TA-결합 분자 |  |                    |
|-----------------|--|--------------------|
| 항체 명칭           | 종양 항원(들)                               | 치료 표적 적용           |
| 메르펜탄            |  |                    |
| 오카라투주맵          | CD20                                   | 암                  |
| 오파투무맵           | CD20                                   | 만성 림프성 백혈병         |
| 올라라투맵           | PDGF-R A                               | 암                  |
| 올로키주맵           | IL6                                    | 암                  |
| 옴부르타맵           | B7-H3                                  | 신경아세포종, 육종, 전이성 뇌암 |
| 오나르투주맵          | 인간 산란 인자 수용체 키나제                       | 암                  |
| 온특시주맵           | TEM1                                   | 암                  |
| 오포르투주맵<br>모나투스  | Epcam                                  | 암                  |
| 오레고보맵           | CA-125                                 | 난소암                |
| 오르티쿠맵           | Oxld1                                  | 암                  |
| 오틀러투주맵          | CD37                                   | 암                  |
| 파니투무맵           | EGFR                                   | 결장직장암              |
| 판코맵             | MUC1 의 종양 특이적 글리코실화                    | 난소암                |
| 파르사투주맵          | EGFL7                                  | 암                  |
| 패트리투맵           | HER3                                   | 암                  |
| 팜투모맵            | MUC1                                   | 암                  |
| 페라키주맵           | IL17A                                  | 관절염                |
| 페르투주맵           | HER2                                   | 암                  |
| 피나투주맵<br>베도틴    | CD22                                   | 암                  |
| 핀투모맵            | 선암종 항원                                 | 선암종                |
| 플라클루맵           | 인간 TNF                                 | 암                  |
| 플라투주맵<br>베도틴    | CD79B                                  | 암                  |
| 프리톡삭시맵          | 대장균( <i>E. Coli</i> ) 쉬가(Shiga) 독소 1 형 | 암                  |
| 프리투무맵           | 비멘틴                                    | 뇌암                 |

[0371]

| 표 7<br>TA-결합 분자 |                   |                      |
|-----------------|-------------------|----------------------|
| 항체 명칭           | 증양 항원(들)          | 치료 표적 적용             |
| 킬리주맙            | IGHE              | 암                    |
| 라코투모맙           | N-글리코실뉴라민산        | 암                    |
| 라드레투맙           | 피브로넥틴 추가<br>도메인-B | 암                    |
| 라무시루맙           | VEGFR2            | 고체 종양                |
| 릴로투무맙           | HGF               | 고체 종양                |
| 리톡시맙            | CD20              | 림프종, 백혈병, 일부 자가면역 장애 |
| 로바투무맙           | IGF-1 수용체         | 암                    |
| 롤레두맙            | RHD               | 암                    |
| 사말리주맙           | CD200             | 암                    |
| 사투모맙<br>팬데티드    | TAG-72            | 암                    |
| 세리반투맙           | ERBB3             | 암                    |
| 시브로투주맙          | FAP               | 암                    |
| 실톡시맙            | IL-6              | 암                    |
| 솔리토맙            | Epcam             | 암                    |
| 손투주맙            | 에피시알린             | 암                    |
| 타발루맙            | BAFF              | B-세포 암               |
| 타카투주맙<br>테트락세탄  | 알파-태아단백질          | 암                    |
| 타플리투모맙<br>파프톡스  | CD19              | 암                    |
| 텔리모맙            | 미결정               | 암                    |
| 테나투모맙           | 테나신 C             | 암                    |
| 테넬릭시맙           | CD40              | 암                    |
| 테프로투무맙          | CD221             | 혈액학적 종양              |
| 티실리무맙           | CTLA-4            | 암                    |
| 티가투주맙           | TRAIL-R2          | 암                    |
| 토시투모맙           | CD20              | 여포성 림프종              |
| 토베투맙            | CD140a            | 암                    |

[0372]

| 표 7<br>TA-결합 분자 |                       |                |
|-----------------|-----------------------|----------------|
| 항체 명칭           | 종양 항원(들)              | 치료 표적 적용       |
| 트라스투주맙          | HER2                  | 유방암            |
| Trbs07 (엑토맙)    | Gd2                   | 흑색종            |
| 트레멜리우맙          | CTLA-4                | 암              |
| 투코투주맙<br>셀몰류킨   | Epcam                 | 암              |
| 유블리톡시맙          | MS4A1                 | 암              |
| 우벨루맙            | 4-1BB                 | 암              |
| 바다스톡시맙          | CD33                  | 급성 골수성 백혈병     |
| 반딧투맙            | 프리즐드(Frizzled)<br>수용체 | 암              |
| 바팔릭시맙           | AOC3 (VAP-1)          | 암              |
| 바델리주맙           | ITGA2                 | 암              |
| 벨투주맙            | CD20                  | 비-호지킨 림프종      |
| 베센큐맙            | NRP1                  | 암              |
| 볼로식시맙           | 인테그린 α5β1             | 고체 종양          |
| 보르세투주맙          | CD70                  | 암              |
| 보투무맙            | 종양 항원<br>CTAA16.88    | 결장직장 종양        |
| 잘루투무맙           | EGFR                  | 두경부의 편평 세포 암종  |
| 자톡시맙            | HER1                  | 암              |
| 지랄리우맙           | CD147                 | 암              |
| 졸베크시맙           | Cldn18.2              | 위장 선암종 및 체장 종양 |

[0373]

[0374]

한 구체예에서, 본 발명은 표 7에서 나열된 TA-결합 분자 중 어느 것의 CDR 도메인 (또는 VL 및 VH 도메인)을 포함하는 TA-결합 분자에 관한 것이다. 추가적인 구체예에서, 본 발명은 표 7에서 나열되거나, 또는 하기 제공된 바와 같은 TA-결합 분자를 사용한다. 대안의 구체예에서, 본 발명은 표 7에서 나열된 항체 중 어느 것의 CDR 도메인 (또는 VL 및 VH 도메인)을 포함하는 ADCC-향상된 TA-결합 분자에 관한 것이다. ADCC-향상된 TA-결합 분자의 특정 예가 하기 제공된다.

[0375]

특정 구체예에서 TA-결합 분자는 HER2 TA ("HER2-결합 분자")에 결합한다. 한 구체예에서, 본 발명의 HER2-결합 분자는 항-HER2 항체이다. 인간 HER2에 결합하는 항체는 "마르케톡시맙", "트라스투주맙", 및 "퍼투주맙"을 포함한다. 마르케톡시맙 (MGAH22로도 알려져 있음; CAS Reg No. 1350624-75-7, KEGG D10446, 예를 들어, 미국 특허 번호 8,802,093 참조)은 HER2에 결합하고 향상된 ADCC 활성을 매개하는 Fc-최적화된 단클론성 항체이다. 마르케톡시맙의 서열은 하기 제공된다. 트라스투주맙 (rhuMAB4D5로도 알려져 있고, Herceptin®로 판매됨; CAS Reg No 180288-69-1; 미국 특허 번호 5,821,337 참조)은 인간화된 항체이며, IgG1/카파 불변 영역을 갖는다. 트라스투주맙의 아미노산 서열은 트라스투주맙 엠탄신에 대해 WHO Drug Information, 2011, Recommended INN: List 65, 25(1):89-90에서 발견된다. 퍼투주맙 (rhuMAB2C4로도 알려져 있고, Perjeta™으로 판매됨, CAS Reg No 380610-27-5; 예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2001/000245 참조)은 IgG1/카파 불변 영역을 가진 또 다른 인간화된 항체이다. 퍼투주맙의 Fab 도메인의 아미노산 서열은 Protein Data Bank Accession No. 117i에서 발견된다. 항체 "8H11"은 마르케톡시맙, 트라스투주맙 및 퍼투주맙에 의해 인식되는 에피토프와 별개인 HER2의 에피토프에 결합하는 쥐 항-HER2 단클론성 항체이다 (PCT 공개 번호 WO 2001/036005). 항체 8H11의 인간화된 변이체 ("hHER2 MAB-1"로 지정됨)가 기재되어 있고 (예를 들어, WO 2018/156740 참조) 대표적인 인간화된 VH 및 VL 도메인이 하기 제공된다. 상기 확인된 HER2-결합 분자에 더하여, 본 발명은 다음 HER2-결합 분자, **1.44.1; 1.140; 1.43; 1.14.1; 1.100.1; 1.96; 1.18.1; 1.20; 1.39; 1.24; 및 1.71.3** (미국 특허 번호 8,350,011; 8,858,942; 및 PCT 공개 번호 WO 2008/019290에서 개시됨); **F5 및 C1** (미국 특허 번호 7,892,554; 8,173,424; 8,974,792; 및 PCT 공개 번호 WO 99/55367에서 개시됨); 및 또한 미국 특허 공보 2011/0097323, 2013/017114, 2014/0328836, 2016/0130360 및 2016/0257761, 및 PCT 특허 출원 WO2011/147986의 HER2-결합 분자 중 어느 것의 사용을 고려한다.

[0376] 특정 구체예에서 TA-결합 분자는 B7-H3 TA ("B7-H3-결합 분자")에 결합한다. 한 구체예에서, 본 발명의 B7-H3-결합 분자는 항-B7-H3 항체이다. 인간 B7-H3에 결합하는 항체는 "에노블리투주맵", 및 "옴부르타맵", 및 "미르조타맵"을 포함한다. 에노블리투주맵 (MGAH22로도 알려져 있음; CAS Reg No. 1350624-75-7, KEGG D11752, 예를 들어, 미국 특허 번호 8,802,093 참조)은 HER2에 결합하고 향상된 ADCC 활성을 매개하는 Fc-최적화된 단클론성 항체이다. 마르케투스맵의 서열은 하기 제공된다. 옴부르타맵 (8H9로도 알려져 있음; CAS Reg No. 1895083-75-6, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,737,258 참조)은 쥐 단클론성 항체이다. 옴부르타맵의 아미노산 서열은 WHO Drug Information 2018, Proposed INN: List 119, 32(2):339-340에서 발견된다. 8H9의 인간화된 버전이 WO 2016/033225에서 개시되어 있다. 미르조타맵 클레주토클라스 (ABBV-155로도 알려져 있음; CAS Reg No. 2229859-12-3, 예를 들어 WO 2017/214322 참조)는 IgG1/카파 불변 영역을 가진 인간화된 항체이다. 미르조타맵의 아미노산 서열은 WHO Drug Information 2019, Proposed INN: List 121, 33(2): 294-6)에서 발견된다. 상기 확인된 B7-H3-결합 분자에 더하여, 본 발명은 다음 B7-H3-결합 분자, BRCA84D, BRCA69D 및 PRCA157 (WO2011109400에서 개시됨); L7, L8, L11, M30, 및 M31 (US2013/0078234에서 개시됨), hmAb-C, 및 B7-H3 항체 hmAb-D (WO 2017/180813에서 개시됨) 중 어느 것의 사용을 고려한다.

[0377] **C. ADCC 향상된 TA-결합 분자**

[0378] 본 발명은 마르케투스맵 및 다음을 포함하거나 이용하는 조성물 및 방법을 구체적으로 고려한다:

[0379] (1) PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자;

[0380] (2) 단일특이적 PD-1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자;

[0381] (3) PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는

[0382] (4) 단일특이적 PD-L1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자,

[0383] 여기서 이러한 단일특이적 결합 분자는 온전한 항체이고, 이러한 이중특이적 분자는 디아바디 또는 이중특이적 항체이다.

[0384] **1. 마르케투스맵**

[0385] 마르케투스맵은 CD16A 수용체에 대해 증가된 친화도를 나타내는 변이체 인간 Fc 도메인을 포함한다. 항체 (IgG 카파)의 경쇄는 N-연결된 글리코실화 부위를 결실시키도록 변형되었다 (N65S; 하기 이중 밑줄).

[0386] 마르케투스맵의 VL 도메인은 **서열 번호: 61**의 아미노산 서열을 갖는다:

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS  
ASFRYTGVPD RFTGSRSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYTTPPTFGG  
 GTKVEIK

[0387]

[0388] 마르케투스맵의 VL 도메인의 CDR 도메인은 다음과 같다:

[0389] CDR<sub>L1</sub> **서열 번호: 62**: KASQDVNTAVA

[0390] CDR<sub>L2</sub> **서열 번호: 63**: SASFRYT 및

[0391] CDR<sub>L3</sub> **서열 번호: 64**: QQHYTTPPT.

[0392] 마르케투스맵의 경쇄는 **서열 번호: 65**의 아미노산 서열을 갖는다:

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GHSPKLLIYS  
 ASFRYTGVPD RFTGSRSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYCQQ HYTTPPTFGG  
 GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV  
 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG  
 LSSPVTKSFN RGECL

[0393]

[0394] 마르케특시맵의 VH 도메인은 서열 번호: 66의 아미노산 서열을 갖는다:

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK DTYIHWVKQR PEQGLEWIGR  
IYPTNGYTRY DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSRWG  
GDGFYAMDYW GQGASVTVSS

[0395]

[0396] 마르케특시맵의 VH 도메인의 CDR 도메인은 다음과 같다:

[0397] CDR<sub>H1</sub> 서열 번호: 67: DTYIH

[0398] CDR<sub>H2</sub> 서열 번호: 68: RIYPTNGYTRYDPKFQD 및

[0399] CDR<sub>H3</sub> 서열 번호: 69 WGGDGFYAMDY.

[0400] 마르케특시맵의 중쇄는 FcMT2 ADCC-향상된 Fc 도메인 (L235V, F243L, R292P, Y300L, 및 P396L 치환을 포함함; 밑줄)을 포함하고 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 갖는다:

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK DTYIHWVKQR PEQGLEWIGR  
IYPTNGYTRY DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSRWG  
GDGFYAMDYW GQGASVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK  
DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT  
YICNVNHKPS NTKVDKRVFP KSCDKTHTCP PCPAPELVGG PSVFLPPPKP  
KDTLMISRTP EVTCVVDVDS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPPEEQYN  
STLRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ  
VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPLV  
LDSGDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

[0401]

[0402] 마르케특시맵의 중쇄의 변이체는 FcMT1 ADCC-향상된 Fc 도메인 (F243L, R292P, Y300L, V305I, 및 P396L 치환을 포함함; 서열 번호: 16 참조)을 포함한다. 마르케특시맵의 중쇄의 또 다른 변이체는 FcMT3 ADCC-향상된 Fc 도메인 (F243L, R292P, 및 Y300L 치환을 포함함; 서열 번호: 18 참조)을 포함한다.

[0403] 본 발명은 에노블리투주맵 및 다음을 포함하거나 이용하는 조성물 및 방법을 구체적으로 고려한다:

[0404] (1) PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자;

[0405] (2) 단일특이적 PD-1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자;

[0406] (3) PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는

[0407] (4) 단일특이적 PD-L1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자,

[0408] 여기서 이러한 단일특이적 항체-기반 분자는 온전한 항체이고, 이러한 이중특이적 항체-기반 분자는 디아바디, 또는 이중특이적 항체이다.

[0409] **2. 에노블리투주맵**

[0410] 에노블리투주맵의 VL 도메인은 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 갖는다:

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNV TNVAWYQQK GKAPKALIYS  
ASRYSGVPS RFSGS SGSGTD FTLTISSSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ  
GTKLEIK

[0411]

[0412] 에노블리투주맵의 VL 도메인의 CDR 도메인은 다음과 같다:

[0413] CDR<sub>L1</sub> 서열 번호: 72: KASQNVDTNVA

[0414] CDR<sub>L2</sub> 서열 번호: 73: SASRYYS 및

[0415] CDR<sub>3</sub> 서열 번호: 74: QQYNNYPFT.

[0416] 에노블리투주맵의 경쇄는 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 갖는다:

DIQLTQSPSF LSASVGDVRT ITCKASQNVDT TNVAWYQQKP GKAPKALIYS  
 ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ  
 GTKLEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV  
 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG  
 LSSPVTKSFN RGEC

[0417]

[0418] 에노블리투주맵의 VH 도메인은 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 갖는다:

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY  
ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR  
ENIYYGSRLD YWQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL  
 VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT  
 QTYICNVNHNK PSNTKVDKRV

[0419]

[0420] 에노블리투주맵의 VH 도메인의 CDR 도메인은 다음과 같다:

[0421] CDR<sub>H1</sub> 서열 번호: 77: SFGMH

[0422] CDR<sub>H2</sub> 서열 번호: 78: YISSDSSAIYYADTVKG 및

[0423] CDR<sub>H3</sub> 서열 번호: 79: GRENIYYGSRLDY

[0424] 에노블리투주맵의 중쇄는 **FcMT2 ADCC-향상된 Fc 도메인** (L235V, F243L, R292P, Y300L, 및 P396L 치환을 포함함; 밑줄)을 포함하고 서열 번호: 80의 아미노산 서열을 갖는다:

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SFGMHWVRQA PGKGLEWVAY  
 ISSDSSAIYY ADTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGRGR  
 ENIYYGSRLD YWQGTTVTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL  
 VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT  
 QTYICNVNHNK PSNTKVDKRV EPKSCDKTHT CPPCPAPELY GGPSVFLLPP  
 KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPPEEQ  
 YNSTLRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE  
 PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTTP  
LVLDSGDGSEF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP  
 GK

[0425]

[0426] 에노블리투주맵의 중쇄의 변이체는 **FcMT1 ADCC-향상된 Fc 도메인** (F243L, R292P, Y300L, V305I, 및 P396L 치환을 포함함; 서열 번호: 16 참조)을 포함한다. 에노블리투주맵의 중쇄의 또 다른 변이체는 **FcMT3 ADCC-향상된 Fc 도메인** (F243L, R292P, 및 Y300L 치환을 포함함; 서열 번호: 18 참조)을 포함한다.

[0427] **3. 다른 ADCC-향상된 Fc TA-결합 분자**

[0428] 본 발명은 ADCC-향상된 TA-결합 분자 및 다음을 포함하거나 이용하는 조성물 및 방법을 구체적으로 고려한다:

[0429] (1) PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자;

[0430] (2) 단일특이적 PD-1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자;

[0431] (3) PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는

[0432] (4) 단일특이적 PD-L1-결합 분자, 및 단일특이적 LAG-3-결합 분자,

[0433] 여기서 이러한 단일특이적 결합 분자는 온전한 항체이고, 이러한 이중특이적 분자는 디아바디, 또는 이중특이적

항체이다.

[0434] 한 구체예에서, 본 발명은 **표 6A-6B**에서 나열된 TA 중 어느 것에 면역특이적으로 결합하는 TA-결합 도메인을 포함하는 ADCC-향상된 TA-결합 분자에 관한 것이다.

[0435] 한 구체예에서, 본 발명은 **표 7**에서 나열된 항체 중 어느 것의 CDR 도메인 (또는 the VL 및 VH 도메인)을 포함하는 ADCC-향상된 TA-결합 분자에 관한 것이다. 이러한 분자는 본원에서 제공되거나, 또는 해당 분야에 공지된 바와 같이 향상된 **ADCC-향상된 Fc 도메인**을 포함할 수 있다.

[0436] 본 발명은, 제한되는 것은 아니지만, 다음을 포함하는 향상된 **ADCC-향상된 Fc 도메인**을 포함하는 다른 TA-결합 분자를 포함하거나 이용하는 조성물 및 방법을 구체적으로 고려한다: 항-CD20 항체인 오비누투주맙 (KEGG D0932; Marcus, R. et al. (2017) "*Obinutuzumab for the First-Line Treatment of Follicular Lymphoma*," N. Engl. J. Med. 377(14):1331-1344) 및 BAT4306F (Yu, J.-C. et al. (2018) "*Abstract 3823: Bat4306f, An Anti-CD20 Antibody Devoid Of Fucose Modification, Demonstrates Enhanced ADCC Effect And Potent In Vivo Efficacy*," Cancer Res. 78:(13 Supplement):3823), EGFR-cMET 이중특이적 항체인 아미반타맙 (KEGG D11894; Yun, et al. (2020) "*Antitumor Activity of Amivantamab (JNJ-61186372), an EGFR-MET Bispecific Antibody, in Diverse Models of EGFR Exon 20 Insertion-Driven NSCLC*" Cancer Discovery DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0116); 및 항-CD19 항체인 타파시타맙 (MOR208) (KEGG D11601; Kellner, C. et al. (2013) "*The Fc-Engineered CD19 Antibody MOR208 (Xmab5574) Induces Natural Killer Cell-Mediated Lysis Of Acute Lymphoblastic Leukemia Cells From Pediatric And Adult Patients*," Leukemia 27(7):1595-1598) 및 오백셀리맙 (KEGG D11496).

[0437] **IV. 생산 방법**

[0438] 본 발명의 항체-기반 분자는 재조합에 의해 제조될 수 있고 재조합 단백질의 생산에 대해 해당 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 발현될 수 있다. 예를 들어, 이러한 결합 분자의 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 핵산이 구성되고, 발현 벡터로 도입되고, 적합한 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 결합 분자는 박테리아 세포 (예를 들어, 대장균 세포), 또는 진핵 세포 (예를 들어, CHO, 293E, COS, NSO 세포)에서 재조합에 의해 생산될 수 있다. 이에 더하여, 결합 분자는 효모 세포, 예컨대 피치아(*Pichia*), 또는 사카로미세스(*Saccharomyces*)에서 발현될 수 있다.

[0439] 본 발명의 항체-기반 분자를 생산하기 위해서, 그 분자를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 구성되고, 발현 벡터로 도입된 다음 적합한 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 표준 분자 생물학 기술은 재조합 발현 벡터를 제조하고, 숙주 세포를 트랜스펙션하고, 형질변환물을 선택하고, 숙주 세포를 배양하고 분자를 회수하는데 사용된다 (예를 들어, Green, M.R. et al., (2012), Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 4th Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY 및 Ausubel et al. eds., (1998,) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY에서 기재된 기술 참조). 발현 벡터(들)는 숙주 세포에서 벡터의 복제를 허용하는 특성을 가져야 한다. 벡터는 또한 숙주 세포에서의 발현에 필요한 프로모터 및 신호 서열을 가져야 한다. 이러한 서열은 해당 분야에 널리 공지되어 있다. 이러한 결합 분자를 암호화하는 핵산 서열(들)에 더하여, 재조합 발현 벡터는 추가적인 서열, 예컨대 숙주 세포에서 벡터의 복제를 조절하는 서열 (예를 들어, 복제 기원) 및 선택 가능한 마커 유전자를 가지고 있을 수 있다. 이용될 수 있는 또 다른 방법은 식물 (예를 들어, 담배) 또는 트랜스제닉 동물에서 유전자 서열을 발현시키는 것이다. 재조합에 의해 식물 또는 젖(milk)에서 이러한 결합 분자를 발현시키는데 유용한 적합한 방법이 개시되어 있다 (예를 들어, Peeters et al. (2001) "*Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants*," Vaccine 19:2756; 미국 특허 번호 5,849,992; 및 Pollock et al. (1999) "*Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies*," J. Immunol Methods 231:147-157 참조).

[0440] 본 발명의 항체-기반 분자가 재조합에 의해 발현되면, 그것은 폴리펩타이드 또는 다단백질의 정제를 위해 해당 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 숙주 세포의 내부 또는 외부로부터 (예컨대 배양 배지로부터) 정제될 수 있다. 항체 정제에 일반적으로 사용되는 단리 및 정제 방법 (예를 들어, 항원 선택성에 기초한 항체 정제 계획)은 이러한 분자의 단리 및 정제에 사용될 수 있으며, 임의의 특정 방법, 예를 들어, 컬럼 크로마토그래피, 여과, 한외여과, 염석(salting out), 용매 침전, 용매 추출, 증류, 면역침강, SDS-폴리아크릴아미드 겔 전기영동, 등전위 초점 조절, 투석, 및 재결정화에 의한 것들에 제한되지 않는다. 크로마토그래피는, 예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 특이적 항원에 대한 친화도에 의한 친화도 (선택적으로 단백질 A 선택 후 항체-기반 분자가 Fc 영역 또는 그것의 단백질 A 결합 부분을 포함하는 경우), 크기 조절 컬럼 크로마토그래피, 소수성, 겔 여과,

역상, 및 흡착을 포함한다 (Marshak *et al.* (1996) *Strategies for Protein Purification 및 Characterization: A Laboratory Course Manual.* (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY).

[0441] **V. 약학적 조성물**

[0442] 본 발명의 항체-기반 분자, 예를 들어, **TA**에 결합하는 항체 (선택적으로 ADCC-항상된 Fc 도메인을 포함함), PD-1에 결합하는 항체, PD-L1에 결합하는 항체, LAG-3에 결합하는 항체, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자에 결합하는 항체는 조성물로서 제제화될 수 있다. 본 발명의 조성물은 암 또는 다른 질환 및 병태의 치료를 위해 대상체 (예를 들어, 인간 환자 또는 다른 포유동물)에게 투여하기에 적합한 약학적 조성물을 제조하는데 유용한 대용량 약물 조성물 (예를 들어, 불순한 또는 비-멸균 조성물)을 포함한다. 이러한 약학적 조성물은 하나 이상의 항체-기반 분자(들) (예를 들어, **TA**에 결합하는 항체 (선택적으로 ADCC-항상된 Fc 도메인을 포함함), PD-1에 결합하는 항체, PD-L1에 결합하는 항체, LAG-3에 결합하는 항체, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자에 결합하는 항체), 및 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체(들)를 포함하고, 선택적으로 하나 이상의 추가적인 치료제를 포함할 수 있다. 약학적 조성물은, 예를 들어, 수용액, 동결건조된 분말, 또는 이러한 약학적으로 허용 가능한 담체로의 복원에 맞춰 특이적으로 조정된, 또는 이러한 담체로 복원된 무수 농축물로서 공급될 수 있다.

[0443] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 동물, 및 더 구체적으로는 인간에게 투여하기에 적합한 것으로 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 또는 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인정되는 약전에서 나열된 희석제, 용매, 분산매, 항세균제 및 항진균제, 부형제, 또는 비히클(vehicle)을 의미한다. 이러한 약학적 담체는 멸균 액체, 예컨대 물과 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 오일을 포함하는 오일일 수 있다. 식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액이, 특히 주사 용액에 대해, 액체 담체로서 이용될 수도 있다. 조성물은 또한, 원하는 경우, 소량의 습윤제 또는 에멀전화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 이들 조성물은 용액, 현탁액, 에멀전, 타블렛, 알약, 캡슐, 분말, 지속-방출 제제 등의 형태를 취할 수 있다.

[0444] 일반적으로, 본 발명의 조성물의 성분은 별도로 공급되거나 투여 형태로, 예를 들어, 동결건조된 분말 또는 무수 농축물로서, 또는 활성제의 양을 표시하는 바이알, 앰플 또는 사세(sachette)와 같이 밀봉된 용기 내의 수용액으로서 함께 혼합된다. 조성물이 주입에 의해 투여되어야 하는 경우, 약학적 등급 멸균수 또는 식염수를 함유하는 주입 병으로 제공될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 투여 전에 성분들이 혼합될 수 있도록 주사용 멸균수, 식염수 또는 다른 희석제의 앰플이 제공될 수 있다.

[0445] **VI. 약학적 키트**

[0446] 본 발명은 또한 본 발명의 약학적 조성물을 함유하는 하나 이상의 용기 및 교육용 재료 (예를 들어, 통지서, 포장 삽입물, 설명서, 등)를 포함하는 약학적 키트를 제공한다. 추가적으로, 질환의 치료에 유용한 하나 이상의 다른 예방제 또는 치료제가 또한 약학적 키트에 포함될 수 있다. 이러한 약학적 키트의 용기는, 예를 들어, 그 안에 함유된 활성제의 양을 표시하는 하나 이상의 밀봉된 바이알, 앰플, 사세, 등을 포함할 수 있다. 조성물이 주입에 의해 투여되어야 하는 경우, 용기는 약학적 등급의 멸균 용액 (예를 들어, 물, 식염수, 완충액, 등)을 함유하는 주입 병, 백(bag), 등일 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되어야 하는 경우, 약학적 키트는 대상체 (예를 들어, 인간 환자 또는 다른 포유동물)에게 투여하기 위해 약학적 키트의 구성성분의 혼합을 용이하게 하기 위해 주사용 멸균수, 식염수 또는 다른 희석제의 앰플을 함유할 수 있다.

[0447] 한 구체예에서, 이러한 키트의 약학적 조성물은 멸균된 용기 내의 멸균된 동결건조 분말 또는 무수 농축물로서 공급되고, 예를 들어, 물, 식염수, 또는 다른 희석제를 이용하여 대상체에게 투여하기에 적절한 농도로 복원될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 이러한 키트의 약학적 조성물은 밀봉된 용기 내의 수용액으로 제공되고, 예를 들어, 물, 식염수, 또는 다른 희석제를 이용하여 대상체에게 투여하기에 적절한 농도로 희석될 수 있다. 키트는 하나 이상의 용기 내에 암 치료에 유용한 하나 이상의 다른 예방제 및/또는 치료제를 더 포함할 수 있고; 및/또는 키트는 암과 관련된 하나 이상의 암 항원에 결합하는 하나 이상의 세포독성 항체를 더 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 다른 예방제 또는 치료제는 화학치료제이다. 다른 구체예에서, 예방제 또는 치료제는 생물학적 치료제 또는 호르몬 치료제이다.

[0448] 본 발명의 약학적 키트에 포함된 교육용 재료는, 예를 들어, 약학적 생성물 또는 생물학적 생성물의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 규정된 내용물 및 포맷의 것일 수 있고, 인간 투여 및/또는 인간 요법

을 위한 약학적 조성물의 제조, 판매 또는 사용에 대한 기관의 승인을 나타낼 수 있다. 교육용 재료는, 예를 들어, 약학적 조성물의 함유된 용량, 투여될 수 있는 방식, 등에 관한 정보를 제공할 수 있다.

[0449] 따라서, 예를 들어, 본 발명의 약학적 키트에 포함된 교육용 재료는 제공되는 약학적 조성물이 동일한 약학적 키트 또는 별개의 약학적 키트에서 제공될 수 있는 추가적인 작용제와 조합으로 투여되어야 한다는 것을 지시할 수 있다. 이러한 교육용 재료는 제공되는 약학적 조성물이 약 2주마다 1회, 약 3주마다 1회, 또는 더 빈번하거나 덜 빈번하게 투여되어야 한다는 것을 지시할 수 있다. 이러한 교육용 재료는 제공되는 약학적 조성물이 약 120 mg, 약 300 mg, 약 400 mg, 약 420 mg, 약 600 mg, 약 800 mg, 또는 약 840 mg, 또는 그 이상의 일정한 용량을 포함하거나, 또는 이것들을 투여하거나, 약 2 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 18 mg/kg, 또는 그 이상의 중량-기반 용량을 투여하기 위해 복원/회석되어야 한다는 것을 지시할 수 있다. 이러한 교육용 재료는 제공되는 약학적 조성물이 단일 용량, 또는 1회 초과 용량 (예를 들어, 2회 용량, 4회 용량, 6회 용량, 12회 용량, 24회 용량, 등)을 포함하거나, 또는 이것들을 포함하도록 복원/회석되어야 한다는 것을 지시할 수 있다. 약학적 키트에 포함된 이러한 교육용 재료는 이러한 정보의 임의의 세트를 조합할 수 있다 (예를 들어, 그것은 제공되는 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자-함유 약학적 조성물이 약 400 mg 또는 약 600 mg의 용량을 포함하거나, 또는 이것들을 포함하도록 복원/회석되어야 하고, 이러한 용량이 약 2주마다 1회 투여되어야 한다는 것을 지시할 수 있고; 제공되는 약학적 조성물이 약 600 mg 또는 약 800 mg의 용량을 포함하거나, 또는 이것들을 포함하도록 복원되어야 하고, 이러한 용량이 약 3주마다 1회 투여되어야 한다는 것을 지시할 수 있고; 및/또는 제공되는 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자-함유 약학적 조성물이 약 15 mg/kg의 용량을 포함하거나, 또는 이것을 포함하도록 복원되어야 하고, 이러한 용량은 약 3주마다 1회 투여되어야 한다는 것을 지시할 수 있다). 이러한 교육용 재료는 포함된 약학적 조성물의 투여 방식에 관하여, 예를 들어, 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여되어야 한다는 것을 지시할 수 있다. 약학적 키트에 포함된 교육용 재료는 이러한 투여의 기간 또는 시기에 관하여, 예를 들어, 포함된 약학적 조성물이 30-240분의 기간, 30-90분의 기간, 등에 걸쳐 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여되어야 한다는 것을 지시할 수 있다.

[0450] 본 발명의 약학적 키트에 포함된 교육용 재료는 포함된 약학적 조성물의 적절한 또는 원하는 사용에 관하여 지시할 수 있으며, 예를 들어, 이러한 약학적 조성물 (예를 들어, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자)이 암 치료를 위해 투여되어야 한다는 것을 지시한다. 특정 구체예에서, 약학적 키트에 포함된 교육용 재료는 본 발명의 PD-1 (또는 PD-L1)-결합 분자, 및 LAG-3-결합 분자, 또는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자의 약학적 조성물(들)이 TA (예를 들어, HER2 또는 B7-H3)가 발현되는 암의 치료를 위해 TA-결합 분자 (선택적으로 ADCC-향상된 Fc 도메인을 가짐)와 조합으로 투여된다는 것을 지시할 수 있다. 치료될 수 있는 암은, 제한되는 것은 아니지만, 다음을 포함한다: 부신암, AIDS-관련된 암, 포상 연부육종, 향문암 (향문관의 편평 세포 암종 (SCAC) 포함), 방광암, 골암, 뇌암 및 척수암, 유방암 (HER2+ 유방암 또는 삼중 음성 유방암 (TNBC) 포함), 경동맥체 종양, 자궁경부암 (HPV-관련된 자궁경부암 포함), 연골육종, 척색종, 난염성 신장 세포 암종, 투명 세포 암종, 결장암, 결장직장암, 결합조직성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 자궁내막암 (비선택 자궁내막암, 고빈도 MSI 자궁내막암, dMMR 자궁내막암, 및/또는 POLE 엑소뉴클레아제 도메인 돌연변이 양성 자궁내막암 포함), 유인육종, 골외 점액성 연골육종, 담낭암 또는 담관암 (담관암종 담관암 포함), 위암, 위 식도 접합부 (GEJ) 암, 임신성 영양막 질환, 생식 세포 종양, 교아종, 두경부암 (두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) 포함), 혈액학적 악성 종양, 간세포 암종, 섬세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 백혈병 (급성 골수성 백혈병 포함), 지방육종/악성 지방종성 종양, 간암 (간세포 암종 간암 (HCC) 포함), 림프종 (미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 비-호지킨 림프종 (NHL) 포함), 폐암 (소세포 폐암 (SCLC), 비-소세포 폐암 (NSCLC) 포함), 수모세포종, 흑색종 (포도막 흑색종 포함), 수막종, 메르켈 세포 암종, 중피종 (중피성 인두암 포함), 다발성 내분비선 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경아세포종, 신경 내분비 종양, 난소암, 췌장암, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아 암, 말초 신경집 종양, 인두암, 크롬 친화성 세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암 (전이성 거세저항성 전립선암 (mCRPC) 포함), 후부 포도막 흑색종, 전이성 신장암, 간상소체 종양, 횡문근육종, 육종, 피부암, 아동기 소원형 파란 세포 종양 (신경아세포종 및 횡문근육종 포함), 연조직 육종, 편평 세포 암, 위암, 활막육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선암, 및 자궁암.

[0451] **VII. 본 발명의 항체-기반 분자의 사용**

[0452] 본원에서 제공된 바와 같이, 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 암을 포함한 다양한 장애를 치료하거나 예방하는데 사용될 수 있다. 추가적으로, 본 발명의 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합) 분자, LAG-3-결합 분자, PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자는 TA가 발현되는 암을 치료하기 위해 본 발명의 TA-결합 분자 (선택적으로 ADCC-향상된 Fc 도메인을 가짐)와 조합으로 사용될 수 있다.

- [0453] 따라서, 본 발명은 암을 치료하는 방법을 제공하며, 이러한 방법은 대상체에게 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0454] 추가적으로, 본 발명은 TA-결합 분자 및 다음을 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법을 제공한다:
- [0455] (1) PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자;
- [0456] (2) 단일특이적 LAG-3-결합 분자와 조합된 단일특이적 PD-1-결합 분자;
- [0457] (3) PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는
- [0458] (4) 단일특이적 LAG-3-결합 분자와 조합된 단일특이적 PD-L1-결합 분자,
- [0459] 여기서 이러한 단일특이적 결합 분자는 온전한 항체이고, 이러한 이중특이적 분자는 디아바디 또는 이중특이적 항체이고, 이러한 암은 이러한 TA를 발현한다. 특정 구체예에서 TA-결합 분자는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함한다.
- [0460] 필요로 하는 대상체에게 이러한 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 분자의 조합을 투여하기 위한 특정한 주입 양생법이 본원에서 제공된다.
- [0461] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "조합으로"는 하나 초과(예를 들어, 본 발명의 항체-기반 분자)의 사용을 나타낸다. 용어 "조합으로"의 사용은 개개의 치료제가 질환 또는 장애를 가진 대상체 (예를 들어, 인간 환자 또는 다른 포유동물)에게 투여되어야 하는 순서를 제한하지 않을 뿐만 아니라, 그것은 작용제가 정확히 동시에 투여되거나 투여되어야 한다는 것을 의미하는 것이 아니라, 이러한 작용제가 다르게 투여되는 경우 제공되는 이익에 비해 증가된 이익을 제공하도록 이러한 작용제가 대상체에게 동시에, 또는 시간 간격 내에서 차례로 투여되어야 한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 각각의 항체-기반 분자 (예를 들어, TA-결합 분자, PD-1-결합 분자 (또는 PD-L1-결합 분자), 및 LAG-3-결합 분자; 또는 TA-결합 분자 및 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자)는 동시에 또는 상이한 시점에 임의의 순서로 순차적으로 투여될 수 있지만, 동시에 투여되지 않는 경우, 원하는 치료적 또는 예방적 효과를 제공하기 위해서 그것들은 충분히 가까운 시간 내에 투여되어야 한다. 각각의 투여된 작용제는 별개로, 임의의 적절한 형태로, 및 임의의 적합한 경로로, 예를 들어, 경구 경로에 의해 하나 그리고 비경구로 하나, 등으로 투여될 수 있다. 대상체에게 본 발명의 항체-기반 분자를 투여하기 위한 특정 주입 양생법이 본원에서 제공된다.
- [0462] PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는 TA-결합 분자 및; PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자; 또는 LAG-3-결합 분자와 조합된 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합)의 투여에 의해 치료될 수 있는 암은, 제한되는 것은 아니지만, 다음을 포함한다: 부신암, AIDS-관련된 암, 포상 연부육종, 향문암 (향문관의 편평 세포 암종 (SCAC) 포함), 방광암, 골암, 뇌암 및 척수암, 유방암 (HER2+ 유방암 또는 삼중 음성 유방암 (TNBC) 포함), 경동맥체 종양, 자궁경부암 (HPV-관련된 자궁경부암 포함), 연골육종, 척색종, 난염성 신장 세포 암종, 투명 세포 암종, 결장암, 결장직장암, 결합조직성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 자궁내막암 (비선택 자궁내막암, 고빈도 MSI 자궁내막암, dMMR 자궁내막암, 및/또는 POLE 엑소뉴클레아제 도메인 돌연변이 양성 자궁내막암 포함), 유인육종, 골의 점액성 연골육종, 담낭암 또는 담관암 (담관암종 담관암 포함), 위암, 위 식도 접합부 (GEJ) 암, 임신성 영양막 질환, 생식 세포 종양, 교아종, 두경부암 (두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) 포함), 혈액학적 악성 종양, 간세포 암종, 섬세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 백혈병 (급성 골수성 백혈병 포함), 지방육종/악성 지방종성 종양, 간암 (간세포 암종 간암 (HCC) 포함), 림프종 (미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 비-호지킨 림프종 (NHL) 포함), 폐암 (소세포 폐암 (SCLC), 비-소세포 폐암 (NSCLC) 포함), 수모세포종, 흑색종 (포도막 흑색종 포함), 수막종, 메르켈 세포 암종, 중피종 (중피성 인두암 포함), 다발성 내분비선 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경아세포종, 신경 내분비 종양, 난소암, 췌장암, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아 암, 말초 신경집 종양, 인두암, 크롬 친화성 세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암 (전이성 거세저항성 전립선암 (mCRPC) 포함), 후부 포도막 흑색종, 전이성 신장암, 간상소체 종양, 횡문근육종, 육종, 피부암, 아동기 소원형 파란 세포 종양 (신경아세포종 및 횡문근육종 포함), 연조직 육종, 편평 세포 암, 위암, 활막육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선암, 및 자궁암.
- [0463] 특정 구체예에서, 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 유방암 (HER2<sup>+</sup> 유방암, 및/또는 TNBC 포함), 담관암 (담관암종 포함), 자궁경부암 (HPV-관련된 자궁경부암 포함), 자궁내막암 (비선택 자궁내막암, 고빈도 MSI 자궁내막암, dMMR 자궁내막암, 및/또는 POLE 엑소뉴클레아제 도메인 돌연변이 양성 자궁내막암 포함), 위암, GEJ 암, 두경부암 (SCCHN 포함), 간암 (HCC), 폐암 (SCLC 및/또는 NSCLC 포함), 림프종 (NHL 및 DLBCL 포함),

난소암, 전립선암의 치료에 사용될 수 있다.

- [0464] 다른 구체예에서, 본 발명의 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합) 및 LAG-3-결합 분자, 또는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자는 HER2-결합 분자 (예컨대 마르케특시맵)와 조합으로, 유방암, 전이성 유방암, 방광암, 위암, GEJ 암, 난소암, 췌장암, 및 위암을 포함한, HER<sup>+</sup> 암의 치료에 사용될 수 있다. 하나의 이러한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 ADCC-향상된 HER2-결합 분자와 조합으로 사용된다. 이러한 구체예 중 또 다른 것에서, DART-I는 마르케특시맵과 조합으로 사용된다.
- [0465] 다른 구체예에서, 본 발명의 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합) 및 LAG-3-결합 분자, 또는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자는 B7-H3-결합 분자 (예컨대 에노블리투주맵)와 조합으로 다음을 포함하는 B7-H3<sup>+</sup> 암의 치료에 사용될 있다: 항문암, SCAC, 유방암, TNBC, 두경부암, SCCHN, 폐암, NSCLC, 흑색종, 포도막 흑색종, 전립선암, mCRPC. 하나의 이러한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 ADCC-향상된 B7-H3-결합 분자와 조합으로 사용된다. 이러한 구체예 중 또 다른 것에서, DART-I는 에노블리투주맵과 조합으로 사용된다.
- [0466] 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는 TA-결합 분자; 및 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자; 또는 LAG-3-결합 분자와 조합된 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합)은 암 치료를 위한 1선 요법으로서 투여된다. 다른 구체예에서, 이러한 분자는 하나 이상의 선행 요법 이후에 투여된다. 다른 구체예에서, 이러한 분자는 하나 이상의 추가적인 요법과 추가의 조합으로 투여된다. 다른 구체예에서, 이러한 분자는 전이의 발달을 지연시키거나, 억제하거나 방지하기 위해서 종양의 수술적 제거시, 또는 그 이후에 보조 요법으로 이용될 수 있다. 이러한 분자는 또한 종양의 크기를 감소시켜 이러한 수술을 가능하게 하거나 간소화시키고, 이러한 수술 동안 조직에 해를 입히지 않고, 및/또는 임의의 결과로 발생하는 손상을 감소시키기 위해 수술 전에 투여될 수 있다 (예를 들어, 신보조(neoadjuvant) 요법으로서).
- [0467] 한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 암 치료를 위한 1선 요법으로서 TA-결합 분자 (예를 들어, HER2 또는 B7-H3)와 조합으로 투여된다. 다른 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 하나 이상의 선행 요법 이후에 TA-결합 분자와 조합으로 투여된다. 다른 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 TA-결합 분자와 조합으로 그리고 하나 이상의 추가적인 요법과 추가의 조합으로 투여된다. 다른 구체예에서, 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 종양의 수술적 제거시, 또는 그 이후 보조 요법으로서 TA-결합 분자와 조합으로 이용될 수 있다. 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 또한 TA-결합 분자와 조합으로 또는 수술 전에 투여될 수 있다. 하나의 이러한 구체예에서, TA-결합 분자는 HER2-결합 분자 또는 B7-H3-결합 분자이다.
- [0468] 본 발명은 암의 치료 또는 예방을 위해, 제한되는 것은 아니지만, 현재의 표준 및 실험적 화학요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법, 면역요법, 방사선 요법, 또는 수술을 포함하는, 당업자에게 공지된 하나 이상의 다른 요법과 조합된 TA-결합 분자와 조합으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합) 및 LAG-3-결합 분자, 또는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자를 투여하는 것을 구체적으로 포함한다. 일부 구체예에서, PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합) 및 LAG-3-결합 분자의 조합, 또는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자는 암, 특히 TA-발현 암 (예를 들어, HER2<sup>+</sup> 암 또는 B7-H3<sup>+</sup> 암)의 치료 및/또는 예방을 위해 당업자에게 공지된 하나 이상의 치료제의 치료적 또는 예방적 유효량과 추가로 조합된 TA-결합 분자 (예를 들어, ADCC-향상된 TA-결합 분자)와 조합으로 투여된다. HER2 발현 암의 치료에 일반적으로 사용되는 화학치료제는 안트라사이클린 (특히, 다우노루비신, 독소루비신, 및 에피루비신), 카페시타빈, 카르보플라틴, 사이클로포스파미드, 류코보린, 메토트렉세이트, 옥살리플라틴, 탁산 (특히, 도세탁셀 및 파클리탁셀), 5-플루오로우라실 (5-FU)을 포함하지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0469] 본 발명의 또 다른 양태는 치료를 시작하기 전에 대상체의 종양 세포에서 PD-L1 발현의 정도를 측정함으로써 이러한 치료에 대한 대상체 순종성을 결정하기 위한 개선된 방법을 수반한다. 10% 초과와 종양 세포에서 PD-L1 발현이 특정 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합) 분자로의 치료에 대한 임상적으로 적절한 컷-오프(cut-off) 지점으로서 확립되었다. PD-L1 발현의 정도를 측정하기 위한 방법은 해당 분야에 공지되어 있다 (de Vicente, J.C. *et al.* (2018) "PD-L1 Expression in Tumor Cells Is an Independent Unfavorable Prognostic Factor in Oral Squamous Cell Carcinoma," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 28(3):546-554; Davis, A.A. *et al.* (2019) "The Role Of PD-L1 Expression As A Predictive Biomarker: An Analysis Of All US Food And Drug Administration (FDA) Approvals Of Immune Checkpoint Inhibitors," *J. ImmunoTher. Canc.* 7:278:1-8; Khozin, S. *et al.* (2017) "Rates Of PD-L1 Expression Testing In US Community-Based Oncology Practices (uSCPS) For Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer (mNSCLC) Receiving Nivolumab (N) Or

*Pembrolizumab (P)*," J. Clin. Oncol. 35(15\_suppl):11596). 예를 들어, 이러한 측정은 Dako EnVision Flex +Visualization System (Dako Autostainer)를 사용함으로써 마우스 단클론성 PD-L1 항체 (클론 22C3, 1:200 희석; PD-L1 IHC 22C3 pharmDx; Dako SK006)를 사용하여 달성될 수 있다. 이러한 검정에서, 포르말린-고정되고 파라핀-임베딩된(embedded) 종양 생검 샘플이 단클론성 마우스 항-PD-L1 항체 (클론 22C3)의 존재 하에 인큐베이션된다. PD-L1 단백질 발현은 임의의 강도로 부분적 또는 완전한 막 염색을 나타내는 생존 가능한 종양 세포의 퍼센트인 종양 비율 점수 (TPS)를 사용하여 또는 PD-L1 염색 세포 (종양 세포, 림프구, 대식세포)의 수를 생존 가능한 종양 세포의 총 수로 나누고, 100을 곱한 복합 양성 점수 (CPS)에 의해 결정된다.

[0470] 대상체의 종양이 치료 전에 1% 미만 (IHC 분석에서 복합 양성 점수 (CPS) 또는 종양 비율 점수 (TPS)를 사용하여 결정됨)으로 PD-L1 발현을 나타낸다는 발견은 본 발명의 치료의 방법에 대한 환자의 순종성을 나타내며, 특히 방법은 ADCC-향상된 TA-결합 분자와 조합으로 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합) 및 LAG-3-결합 분자, 또는 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함한다. 이전에 ADCC-향상된 TA-결합 분자로의 치료의 부재시 PD-1-결합 분자, 또는 PD-L1-결합 분자로의 선행 치료를 포함한 적어도 하나의 선행 치료에 반응하지 못했거나, 또는 불충분하게 반응한 대상체에서 이러한 순종성이 또한 높아진다. 본 발명은 대상체에게 LAG-3-결합 분자와 조합으로 TA-결합 분자 및 PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자; 또는 PD-1-결합 (또는 PD-L1-결합)을 투여함으로써 암을 치료하는 방법을 포함하며, 이러한 치료 전에 이러한 암 세포의 표면 상에서 PD-L1 발현은 복합 양성 점수 (CPS) 또는 종양 비율 점수 (TPS)를 사용하여 결정된 바와 같이 1% 미만이다.

[0471] **VIII. 투여 및 투약**

[0472] 본 발명의 항체-기반 분자 (예를 들어, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자)는 다양한 방법에 의해 대상체, 예를 들어, 필요로 하는 대상체, 예를 들어, 인간 환자에게 투여될 수 있다. 많은 적용을 위해서, 투여 경로는 정맥내 주사 또는 주입 (IV), 피하 주사 (SC), 복강내 주사 (IP), 또는 근육내 주사 중 하나이다. 관절내 전달을 사용하는 것이 또한 가능하다. 다른 비경구 투여 방식이 또한 사용될 수 있다. 이러한 방식의 예는 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 기관 경유, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 및 경막외 및 흉골내 주사를 포함한다.

[0473] 본 발명의 항체-기반 분자는 일정한 용량 또는 중량-기반 용량 (예를 들어, mg/kg 환자 체중 용량)으로 투여될 수 있다. 용량은 또한 투여된 것에 대한 항체 생산을 감소시키거나 방지하도록 선택될 수 있다. 투약 양생법은 원하는 반응, 예를 들어, 치료 반응 또는 조합적 치료 효과를 제공하도록 조정된다. 일반적으로, 항체-기반 분자 (및 선택적으로 추가의 작용제)의 용량은 대상체에게 생물학적으로 이용 가능한 양의 작용제를 제공하기 위해 사용될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "**용량**"은 1회에 취해지는 약의 명시된 양을 나타낸다. 용어 "**투약량**"은 명시된 기간에 걸쳐 특이적인 양, 횟수, 및 빈도의 용량을 투여하는 것을 나타내며; 따라서 용어 투약량은 시간 순서의 특징, 예컨대 기간 및 주기성을 포함한다. 용량 (즉, 투약량)의 투여 시기에 관하여, 용어 "**약**"은 언급된 투여의 ±3일인 범위를 나타내도록 의도된다.

[0474] 용어 "**일정한 용량**"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 환자의 체중에 독립적인 용량을 나타내고,

[0475] , 및 includes physically discrete units of the administered 항체-기반 분자 that are suitable for use as a unitary dose for the subjects to be treated

[0476] 치료되는 대상체에게 단일 용량으로 사용하기에 적합한 투여된 항체-기반 분자 (예를 들어, **TA**에 결합하는 항체, PD-1에 결합하는 항체, PD-L1에 결합하는 항체, LAG-3에 결합하는 항체, PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자)의 물리적으로 별개의 단위를 포함하며; 이러한 각각의 단위는 약학적 담체와 공동으로, 및 선택적으로는 추가의 작용제와 공동으로 사전 결정된 양 (원하는 치료 효과를 생산하도록 계산됨)의 이러한 항체-기반 분자를 함유한다. 단일 또는 다회수의 일정한 용량이 제공될 수 있다. 용어 "**중량-기반 용량**"은 본원에서 사용된 바와 같이 환자 체중 단위 당 투여되는 본 발명의 분자의 별개의 양, 예를 들어, 대상체의 체중의 킬로그램 당 약물의 밀리그램 (mg/kg 체중, 본원에서 "mg/kg"으로 축약됨)을 나타낸다. 계산된 용량이 베이스라인에서 대상체의 체중을 기반으로 투여될 것이다. 전형적으로, 베이스라인 또는 확립된 안정기 (plateau) 중량으로부터의 체중의 유의한 ( $\geq 10\%$ ) 변화는 용량의 재계산을 유도할 것이다. 단일 또는 다회수 용량이 주입 양생법으로 투여될 수 있다. 항체-기반 분자를 포함하는 조성물이 주입을 통해 필요로 하는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0477] 일부 구체예에서, **TA** (특히, ADCC-향상된 TA-결합 분자), PD-1, 또는 PD-L1, 및/또는 LAG-3에 결합하는 항체-

기반 분자가 일정한 용량 또는 중량 기반 용량을 포함할 수 있는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 이러한 분자에 대한 승인된 소정의 주입 양생법이 기재되어 있다 (예를 들어, 트라스 투주맙, 퍼투주맙, 펌브롤리주맙, 니볼루맙, 아테졸리주맙, 두르발루맙, 타파시타맙, 등에 대한 포장 삽입물은 미국 국립 의학 도서관 웹사이트로부터 이용 가능하다: [dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/](http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/)). 특정 구체예에서, PD-1, 또는 PD-L1, 및/또는 LAG-3에 결합하는 항체-기반 분자는 약 120 mg 내지 약 800 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, TA에 결합하는 항체-기반 분자 (예를 들어, HER2 또는 B7-H3에 결합하는 항체-기반 분자)는 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 중량-기반 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다.

[0478] 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 (예를 들어, DART-1)는 약 120 mg 내지 약 800 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 120 mg, 약 300 mg, 약 400 mg, 약 600 mg, 또는 약 800 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 400 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 또 다른 특이적 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 또 다른 특이적 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 800 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, 항-PD-1 항체 (예를 들어, 레티판리맙)는 약 120 mg 내지 약 750 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, 항-PD-1 항체는 약 375 mg, 약 500 mg, 또는 약 750 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, 항-PD-1 항체는 약 375 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 또 다른 특이적 구체예에서, 항-PD-1 항체는 약 500 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, 항-LAG-3 항체 (예를 들어, 텔라틀리맙)는 약 80 mg 내지 약 200 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, 항-LAG-3 항체는 약 80 mg, 약 100 mg, 또는 약 160 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, 항-LAG-3 항체는 약 160 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일정한 용량 또는 일정한 투약량에 관하여, 용어 "약"은 언급된 용량의  $\pm 10\%$ 인 범위를 나타내며, 이로써, 예를 들어, 약 600 mg의 용량은 540 mg 내지 660 mg일 것이다. 용량에 관하여, 용어 "약"은 언급된 용량의  $\pm 3\%$ 인 범위를 나타내도록 의도된다.

[0479] 특정 구체예에서, HER2- 또는 B7-H3-결합 분자 (예를 들어, 항-HER2 항체, 항-B7-H3 항체)는 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 중량-기반 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, HER2- 또는 B7-H3-결합 분자는 약 2 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg, 또는 약 18 mg/kg의 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, HER2- 또는 B7-H3-결합 분자는 약 15 mg/kg의 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 다른 특이적 구체예에서, HER2-결합 분자의 제1 용량이 약 8 mg/kg의 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된 후 이어서, 약 6 mg/kg의 용량으로 이러한 HER2-결합 분자의 하나 이상의 추가적인 용량이 투여된다. 다른 특이적 구체예에서, HER2-결합 분자의 제1 용량이 약 4 mg/kg의 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된 후 이어서, 이러한 HER2-결합 분자의 하나 이상의 추가적인 용량이 약 2 mg/kg의 용량으로 투여된다. 중량-기반 용량에 관하여, "약"은 언급된 용량의  $\pm 10\%$ 인 범위를 나타내며, 이로써, 예를 들어, 약 15 mg/kg의 용량은 13.6 mg/kg 내지 16.5 mg/kg일 것이다.

[0480] 특정 구체예에서, HER2-결합 분자는 약 420 mg 내지 약 1650 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 특정 구체예에서, HER2-결합 분자는 약 420 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 또 다른 특이적 구체예에서, HER2-결합 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 다른 특이적 구체예에서, HER2-결합 분자는 약 840 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 또 다른 특이적 구체예에서, HER2-결합 분자는 약 1650 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 다른 특이적 구체예에서, HER2-결합 분자의 제1 용량은 약 840 mg의 일정한 용량으로 필요로 하는 대상체에게 투여된 후 이어서, 이러한 HER2-결합 분자의 하나 이상의 추가적인 용량이 약 420 mg의 일정한 용량으로 투여된다.

[0481] 항체-기반 분자의 투약량 (예를 들어, TA에 결합하는 항체, PD-1에 결합하는 항체, PD-L1에 결합하는 항체, LAG-3에 결합하는 항체, PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자의 용량)은 적어도 2회 용량, 적어도 4회 용량, 적어도 6회 용량, 적어도 12회 용량, 또는 적어도 24회 용량 (치료 과정)을 포함하기에 충분한 일정 기간에 걸쳐 주기적인 간격으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 투약량은, 예를 들어, 하루 1회 또는 2회, 또는 1주마다 약 1 내지 4회 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 투약량은 1주마다 1회 ("Q1W"), 2주마다 1회 ("Q2W"), 3주마다 1회 ("Q3W"), 4주마다 1회 ("Q4W"), 등으로 투여될 수 있다. 이러한 주기적인 투여는 일정한

기간 동안, 예를 들어, 약 1 내지 52주 동안, 또는 52주 초과 동안 계속될 수 있다. 이러한 치료 과정은 증분으로 나누어질 수 있으며, 본원에서 각각, 예를 들어, 2 내지 24주, 약 3 내지 7주, 약 4 주, 또는 약 6주, 또는 약 8주, 또는 약 12주, 또는 약 24주의 "주기"라고 불리고, 그 동안 정해진 수의 용량이 투여된다. 용량 및/또는 투여 빈도는 각각의 주기 동안 같거나 다를 수 있다. 대상체를 효과적으로 치료하는데 필요한 투약량 및 시기에 영향을 미칠 수 있는 요인들은, 예를 들어, 질환 또는 장애의 심각도, 제제, 전달 경로, 이전의 치료, 대상체의 일반적인 건강 상태 및/또는 연령, 및 대상체에 다른 질환의 존재를 포함한다. 더욱이, 치료적 유효량의 화합물로 대상체를 치료하는 것은 단일 치료를 포함할 수 있거나 일련의 치료를 포함할 수 있다.

[0482] 대상체에게 항체-기반 분자 (예를 들어, TA에 결합하는 항체, PD-1에 결합하는 항체, PD-L1에 결합하는 항체, LAG-3에 결합하는 항체, PD-1 x LAG-3 (또는 PD-L1 x LAG-3) 이중특이적 분자)의 다회수 용량을 제공하는 것이 고려된다. 이러한 각각의 용량에서 각각의 항체-기반 분자의 양은 동일하거나 이전 투여된 용량과 다를 수도 있다. 따라서, 예를 들어, 요법은 이러한 항체-기반 분자의 "제1" (또는 "로딩") 용량에 이어서, 이러한 항체-기반 분자의 더 낮은 "제2" 용량의 투여를 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체-기반 분자의 제1 용량이 대략 8 mg/kg인 경우, 제2 용량은 8 mg/kg 미만 (예를 들어, 약 6 mg/kg)일 것이다. 일부 구체예에서, 후속 용량은 더 낮은 제2 용량과 동일한 농도로 투여된다. 일부 구체예에서, 동일한 용량의 항체-기반 분자가 전체 치료 과정에 걸쳐 투여된다. 일부 구체예에서, HER2에 결합하는 TA-결합 분자는 약 4 mg/kg, 약 8 mg/kg의 제1 용량, 또는 약 840 mg의 제1 일정한 용량으로 투여된 후 이어서, 더 낮은 제2 용량으로 투여되며, 제2 용량은 제1 용량의 투여 후 약 3주에 투여된다. 일부 구체예에서, HER2-결합 분자의 추가적인 후속 용량이 투여되며, 후속 용량은 제2 용량, 또는 이전의 후속 용량의 투여 후 약 3주에 투여된다.

[0483] "주입 양생법"은 환자에게 사전 결정된 주기 (또는 주기들) 동안 사전 결정된 빈도 (또는 이러한 빈도의 세트)로 사전 결정된 용량 (또는 이러한 사전 결정된 용량의 세트)이 투여되는 투약량 투여이다.

[0484] 대표적인 주입 양생법은 약 120 mg Q2W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 (예를 들어, DART-I)의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 300 mg Q2W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 300 mg Q3W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 400 mg Q2W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 400 mg Q3W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 600 mg Q2W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 600 mg Q3W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여를 포함한다. 다른 대표적인 주입 양생법은 약 800 mg Q2W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여 또는 약 800 mg Q3W의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 투여를 포함한다. 본원에서 제공된 바와 같이, 이러한 주입 양생법은 TA-결합 분자의 투여를 더 포함할 수 있다. 한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라서 투여되는 승인된 TA-결합 분자 (예를 들어, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 등)와 조합으로 본원에서 제공된 주입 양생법에 따라 투여된다. 한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라서 투여되는 승인된 ADCC-향상된 TA-결합 분자 (예를 들어, 타파시타맙, 등)와 조합으로 본원에서 제공된 주입 양생법에 따라 투여된다. 상기 주입 양생법의 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 DART-I이다. 하나의 이러한 구체예에서, DART-I는 약 600 mg Q3W의 일정한 용량으로 투여된다. 이러한 또 다른 구체예에서, DART-I는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여되는 승인된 TA-결합 분자 (예를 들어, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 등)와 조합으로 약 600 mg Q3W의 일정한 용량으로 투여된다. 이러한 또 다른 구체예에서, DART-I는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여되는 승인된 ADCC-향상된 TA-결합 분자 (예를 들어, 타파시타맙, 등)와 조합으로 약 600 mg Q3W의 일정한 용량으로 투여된다.

[0485] 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 375 mg Q3W의 일정한 용량의 항-PD-1 항체 (예를 들어, 레티판리맙), 및 약 160 mg Q4W의 일정한 용량의 항-LAG-3 항체 (예를 들어, 렐라틀리맙)의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 500 mg Q4W의 일정한 용량의 항-PD-1 항체 및 약 160 mg Q4W의 일정한 용량의 항-LAG-3 항체의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 750 mg Q4W의 일정한 용량의 항-PD-1 항체, 및 약 160 mg Q4W의 일정한 용량의 항-LAG-3 항체의 투여를 포함한다. 본원에서 제공된 바와 같이, 이러한 주입 양생법은 TA-결합 분자의 투여를 더 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 항-PD-1 항체 및 항-LAG-3 항체는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여되는 승인된 TA-결합 분자 (예를 들어, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 등)와 조합으로 본원에서 제공된 주입 양생법에 따라 투여된다. 한 구체예에서, 항-PD-1 항체 및 항-LAG-3 항체는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여되는 승인된 ADCC-향상된 TA-결합 분자 (예를 들어, 타파시타맙, 등)와 조합으로 본원에서 제

공된 주입 양생법에 따라 투여된다. 상기 주입 양생법의 특정 구체예에서, 항-PD-1 항체는 레티판리맵이고 항-LAG-3 항체는 렐라틀리맵이다. 하나의 이러한 구체예에서, 레티판리맵은 약 375 mg Q3W의 일정한 용량으로 투여되고, 렐라틀리맵은 약 160 mg Q4W의 일정한 용량으로 투여되고, 승인된 TA-결합 분자 (예를 들어, 트라스투주맵, 퍼투주맵, 등)는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여된다. 이러한 또 다른 구체예에서, 레티판리맵은 약 500 mg Q4W의 일정한 용량으로 투여되고, 렐라틀리맵은 약 160 mg Q4W의 일정한 용량으로 투여되고, 승인된 TA-결합 분자 (예를 들어, 트라스투주맵, 퍼투주맵, 등)는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여된다. 이러한 또 다른 구체예에서, 레티판리맵은 약 375 mg Q3W의 일정한 용량으로 투여되고, 렐라틀리맵은 약 160 mg Q4W의 일정한 용량으로 투여되고, 승인된 ADCC-향상된 TA-결합 분자 (예를 들어, 타파시타맵, 등)는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여된다. 이러한 또 다른 구체예에서, 레티판리맵은 약 500 mg Q4W의 일정한 용량으로 투여되고, 렐라틀리맵은 약 160 mg Q4W의 일정한 용량으로 투여되고, 승인된 ADCC-향상된 TA-결합 분자 (예를 들어, 타파시타맵, 등)는 승인된 소정의 주입 양생법에 따라 투여된다.

[0486] 한 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 ADCC-향상된 TA-결합 분자와 조합으로 본원에서 제공된 주입 양생법에 따라 투여된다. 대표적인 조합 주입 양생법은 약 120 mg Q2W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 (예를 들어, DART-I), 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자 (예를 들어, 마르케톡시맵 또는 에노블리투주맵)의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 조합 주입 양생법은 약 120 mg Q3W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 (예를 들어, DART-I), 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자 (예를 들어, 마르케톡시맵 또는 에노블리투주맵)의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 300 mg Q2W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 300 mg Q3W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 400 mg Q2W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 대표적인 주입 양생법은 약 400 mg Q3W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 특이적 주입 양생법은 약 600 mg Q2W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 특이적 주입 양생법은 약 600 mg Q3W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 특이적 주입 양생법은 약 800 mg Q2W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 또 다른 특이적 주입 양생법은 약 800 mg Q3W의 일정한 용량의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 및 Q3W로 투여된 약 2 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 용량의 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자의 투여를 포함한다. 상기 주입 양생법의 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 DART-I이다. 상기 주입 양생법의 일부 구체예에서, ADCC-향상된 HER2-결합 분자는 마르케톡시맵이다. 상기 주입 양생법의 일부 구체예에서, ADCC-향상된 B7-H3-결합 분자는 에노블리투주맵이다.

[0487] 바람직하게는, 상기 구체예에서, 투여는 사전 결정된 빈도 또는 주기로, 또는 1-3일의 이러한 예정된 간격 내에 일어나며, 이로써 투여는 예정된 용량 이전 1-3일, 예정된 용량 이후 1-3일, 또는 예정된 용량의 날에, 예를 들어, 3주마다 1회 (± 3일) 일어난다. 전형적으로, 상기 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자는 24시간 기간 내에 IV 주입에 의해 투여된다. 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 ADCC-향상된 HER2- 또는 B7-H3-결합 분자는 적어도 1개월 또는 그 이상, 적어도 3개월 또는 그 이상, 또는 적어도 6개월 또는 그 이상, 또는 적어도 12개월 또는 그 이상의 기간 (즉, 치료 과정) 동안에 상기 주입 양생법에 따라 IV 주입에 의해 투여된다. 적어도 6개월 또는 그 이상, 또는 적어도 12개월 또는 그 이상, 또는 질환의 차도 또는 다루기 힘든 독성이 관찰될 때까지의 치료기간이 특히 고려된다. 특정 구체예에서, 치료는 질환의 차도 이후 일정한 기간 동안 계속된다.

[0488] 특정 구체예에서, 항체-기반 분자는 IV 주입에 의해 투여된다. 따라서 항체-기반 분자는 전형적으로 적합한 희석제, 예를 들어, 0.9% 염화나트륨을 포함하는 주입 백으로 희석된다 (별개로 또는 함께). 주입 또는 알리지 반응이 일어날 수 있기 때문에, 이러한 주입 반응의 예방을 위한 예비 투약(premedication)이 권장되고 항체 투여 동안에 과민증에 대한 예방책이 관찰되어야 한다. 이러한 IV 주입은 30분 내지 24시간의 기간에 걸쳐 대상체에 게 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, IV 주입은 약 30-240분, 약 30-180분, 약 30-120분, 또는 약 30-90분의

기간에 걸쳐, 또는 약 60-90분의 기간에 걸쳐, 또는 약 60-75분의 기간에 걸쳐, 또는 대상체가 부정적인 주입 반응의 징후 또는 증상을 나타내지 않으면 더 짧은 기간에 걸쳐 전달된다.

[0489] 상기 논의된 바와 같이, 본 발명에 따라 필요로 하는 수량체 대상체에게 항체-기반 분자를 제공하기 위해 다양한 주입 및 투여 경로가 이용될 수 있지만, 특정 조합, 주입 및 투여 경로가 이러한 치료에서의 사용을 위해 구체적으로 제공된다. 이러한 주입 및 투여에서 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체 (예를 들어, 마르케특시맵, 트라스투주맵, 퍼투주맵, 및/또는 에노블리투주맵)와 함께 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디 (예를 들어, DART-1)를 사용하는 것이 본원에서 구체적으로 기재되어 있다.

[0490] 따라서, 이러한 주입 양생법은 약 300 mg 내지 약 800 mg의 일정한 용량으로 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디 및 약 2 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 용량, 및/또는 약 420-840 mg의 일정한 용량으로 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체의 투여를 포함하며, 이러한 분자는 Q3W (± 3일) 투여된다. 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 약 300 mg, 약 400 mg, 약 600 mg, 또는 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여되고 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체는 약 2 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 8 mg/kg, 또는 약 15 mg/kg의 용량으로 투여된다. 다른 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 약 300 mg, 약 400 mg, 약 600 mg, 또는 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여되고 항-HER2 항체는 약 420 mg, 또는 약 840 mg의 일정한 용량으로 투여된다.

[0491] (A) 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 약 300 mg의 일정한 용량으로 투여된다. 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체가 각각 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵이면, 이러한 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵은 약 15 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다. 대안으로, 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 항체가 트라스투주맵이면, 트라스투주맵의 최초 투약량이 약 8 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 6 mg/kg의 용량으로 투여되거나, 또는 트라스투주맵의 최초 투약량이 약 4 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 2 mg/kg의 용량으로 투여된다. 대안으로, 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 항체가 퍼투주맵이면, 퍼투주맵의 최초 투약량이 약 840 mg의 용량으로 투여된 후 이어서, 퍼투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 420 mg의 용량으로 투여된다.

[0492] (B) 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체와 함께 약 400 mg의 일정한 용량으로 투여된다. 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체가 각각 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵이면, 이러한 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵은 약 15 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다. 대안으로, 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 항체가 트라스투주맵이면, 트라스투주맵의 최초 투약량이 약 8 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 6 mg/kg의 용량으로 투여되거나, 또는 트라스투주맵의 최초 투약량이 약 4 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 2 mg/kg의 용량으로 투여된다. 대안으로, 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 항체가 퍼투주맵이면, 퍼투주맵의 최초 투약량이 약 840 mg의 용량으로 투여된 후 이어서, 퍼투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 420 mg의 용량으로 투여된다.

[0493] (C) 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 약 600 mg의 일정한 용량으로 투여된다. 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체가 각각 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵이면, 이러한 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵은 약 15 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다. 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 항체가 트라스투주맵이면, 트라스투주맵의 최초 투약량이 약 8 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상 추가적인 투약량이 각각 약 6 mg/kg의 용량으로 투여되거나, 또는 트라스투주맵의 최초 투약량이 약 4 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상의 추가적인 용량이 약 2 mg/kg의 용량으로 투여된다. 대안으로, 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 항체가 퍼투주맵이면, 퍼투주맵의 최초 투약량이 약 840 mg의 용량으로 투여된 후 이어서, 퍼투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 420 mg의 용량으로 투여된다.

[0494] (D) 특정 구체예에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여된다. 이러한 구체예에서, 투여되는 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체가 각각 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵이면, 이러한 마르케특시맵 또는 에노블리투주맵은 약 15 mg/kg 체중의 용량으로 투여된다. 대안으로, 투여되는 항-HER2 항체가 트라스투주맵이면, 트라스투주맵의 최초 용량이 약 8 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 6 mg/kg의 용량으로 투여되거나, 또는 트라스투주맵의 최초 용량이 약 4 mg/kg의 용량으로 투여된 후 이어서, 트라스투주맵의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 2 mg/kg의 용량으로 투여된다. 대안으로, 투여되는 항-HER2 항체가 퍼투주맵이면, 이러한 퍼투주맵의 최초 투약량이 약 840 mg의 용량

으로 투여된 후 이어서, 퍼투주맙의 1회 이상의 추가적인 투약량이 각각 약 420 mg의 용량으로 투여된다.

- [0495] 상기 구체에 중 어느 것에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디 및 항-HER2 또는 항-B7-H3 항체는 IV 주입에 의해 동시에, 순차적으로, 교차하는 방식으로, 또는 24시간 기간 내 상이한 시간에 투여된다. 상기 구체에 중 어느 것에서, PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디는 DART-I이다.
- [0496] 본 발명은 또한 PD-1 x LAG-3 이중특이적 디아바디 2개의 상이한 항-HER2 항체 (예를 들어, 트라스투주맙 및 퍼투주맙)와 조합으로 투여되는 주입 양생법을 제공하며 각각의 분자의 투여는 상기 구체에 중 어느 것에 따라거나 승인된 소정의 주입 양생법에 따른다.
- [0497] **IX. 본 발명의 구체에**
- [0498] 이제 본 발명을 일반적으로 기재하였지만, 이것들은 다음 넘버링된 구체에 ("EA" 및 "EB")를 참조하면 더 쉽게 이해될 것이며, 이것들은 예시의 방법으로 제공되고 명시되지 않는 한 본 발명을 제한하려는 것은 아니다.
- [0499] EA1. 필요로 하는 대상체에게 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함하는 암 치료 방법으로써, 상기 방법은 상기 대상체에게 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 약 120 mg 내지 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여하는 단계를 포함한다.
- [0500] EA2. EA1의 방법으로서, 상기 암은 중앙 항원 (TA)의 발현을 특징으로 하고, 상기 방법은 상기 대상체에게 중앙 항원 (TA) 결합 분자 (TA-결합 분자)를 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0501] EA3. 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 암은 TA의 발현을 특징으로 하고, 상기 방법은 상기 대상체에게 TA-결합 분자를 투여하는 단계를 포함하고 상기 대상체에게 다음을 투여하는 단계를 더 포함한다:
- [0502] (a) 이중특이적 (PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자); 또는
- [0503] (b) LAG-3에 면역특이적으로 결합하는 분자 (LAG-3-결합 분자)와 조합된 PD-1에 면역특이적으로 결합하는 분자 (PD-1-결합 분자); 또는
- [0504] (c) PD-L1 및 LAG-3 둘 다에 면역특이적으로 결합하는 이중특이적 분자 (PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자); 또는
- [0505] (d) LAG-3-결합 분자와 조합으로 PD-L1 (PD-L1-결합 분자)에 면역특이적으로 결합하는 분자.
- [0506] EA4. EA2-EA3의 방법으로서, 상기 TA-결합 분자는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함한다.
- [0507] EA5. EA2-EA4 중 어느 하나의 방법으로서,
- [0508] (a) 각각의 분자는 별개의 조성물 내에 있거나; 또는
- [0509] (b) 각각의 분자는 동일한 조성물 내에 있거나; 또는
- [0510] (c) 상기 PD-1-결합 분자 및 상기 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고, 상기 TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있거나; 또는
- [0511] (d) 상기 PD-L1-결합 분자 및 상기 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고, 상기 TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있다.
- [0512] EA6. EA2-EA5 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 TA-결합 분자는 항체이다.
- [0513] EA7. EA2-EA6 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1-결합 분자는 항체이다.
- [0514] EA8. EA2-EA6 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-L1-결합 분자는 항체이다.
- [0515] EA9. EA2-EA8 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 LAG-3-결합 분자는 항체이다.
- [0516] EA10. EA3-EA6 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 방법은 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0517] EA11. EA3-EA9 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 방법은 상기 LAG-3-결합 분자와 조합으로 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-1-결합 분자를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0518] EA12. EA3-EA6 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 방법은 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 단계를 포함한다.

- [0519] EA13. EA3-EA9 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 방법은 상기 LAG-3-결합 분자와 조합으로 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-L1-결합 분자를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0520] EA14. EA4-EA13 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 다음을 포함한다:
- [0521] (a) 조작된 글리코폼; 및/또는
- [0522] (b) 야생형 Fc 영역에 대한 아미노산 치환.
- [0523] EA15. EA14의 방법으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 푸코스를 함유하지 않고, 및/또는 이등분 O-GlcNAc를 포함하는 복합 N-글리코시드-연결된 당 사슬인 조작된 글리코폼을 포함한다.
- [0524] EA16. EA14 또는 EA15의 방법으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 F243L, R292P, Y300L, V305I, I332E, 및 P396L로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0525] EA17. EA14-EA16 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환을 포함한다:
- [0526] (a) F243L, R292P, Y300L, V305I, I332E, 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 치환;
- [0527] (b) (1) F243L 및 P396L;
- [0528] (2) F243L 및 R292P;
- [0529] (3) R292P 및 V305I; 및
- [0530] (4) S239D 및 I332E로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 치환;
- [0531] (c) (1) F243L, R292P 및 Y300L;
- [0532] (2) F243L, R292P 및 V305I;
- [0533] (3) F243L, R292P 및 P396L; 및
- [0534] (4) R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 3개의 치환;
- [0535] (d) (1) F243L, R292P, Y300L 및 P396L; 및
- [0536] (2) F243L, R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 4개의 치환; 또는
- [0537] (e) (1) F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P396L; 및
- [0538] (2) L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 5개의 치환,
- [0539] 여기서 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다
- [0540] EA18. EA14-EA16 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 아미노산 치환, L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L을 포함하며, 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다
- [0541] EA19. EA14-EA16 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 아미노산 치환, S239D 및 I332E를 포함하며, 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다
- [0542] EA20. EA2-EA19 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 TA는 표 6A 또는 표 6B로부터 선택된다.
- [0543] EA21. EA2-EA19 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 TA-결합 분자는 표 7로부터 선택된 항체의 VL 및 VH 도메인을 포함한다.
- [0544] EA22. EA3-EA7, EA9, EA11 또는 EA14-EA21 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1-결합 분자는 다음을 포함하는 항체이다:
- [0545] (a) 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VH 도메인;
- [0546] (b) 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0547] (c) 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 경쇄 및 중쇄.

- [0548] EA23. EA3-EA6, EA8-EA9, 또는 EA13-EA21 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-L1-결합 분자는 다음을 포함하는 항체이다:
- [0549] (a) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VL 도메인, 및 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VH 도메인;
- [0550] (b) 표 2로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0551] (c) 표 2로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 경쇄 및 중쇄.
- [0552] EA24. EA3-EA9, EA11 또는 EA13-EA23 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 LAG-3-결합 분자는 다음을 포함하는 항체이다:
- [0553] (a) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인;
- [0554] (b) 표 3로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0555] (c) 표 3로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 경쇄 및 중쇄.
- [0556] EA25. EA1-EA6, EA10, 또는 EA14-EA21 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함한다:
- [0557] (a) 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VH 도메인, 또는 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 및/또는
- [0558] (b) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인, 또는 표 3로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0559] (c) 표 4-5로부터 선택된 이중특이적 항체-기반 분자.
- [0560] EA26. EA1-EA6, EA10, 또는 EA14-EA21 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함한다:
- [0561] (a) 서열 번호: 35의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>PD-1</sub>), 및 서열 번호: 39의 PD-1-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>PD-1</sub>)을 포함하는 PD-1-결합 도메인; 및
- [0562] (b) 서열 번호: 51의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>LAG-3</sub>), 및 서열 번호: 55의 LAG-3-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>LAG-3</sub>)을 포함하는 LAG-3-결합 도메인.
- [0563] EA27. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21 또는 EA25-EA26 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함한다:
- [0564] (a) 상기 PD-1-결합 도메인 중 2개; 및
- [0565] (b) 상기 LAG-3-결합 도메인 중 2개.
- [0566] EA28. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA27 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 서열 번호: 35의 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 VH 도메인을 포함한다.
- [0567] EA29. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA28 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 서열 번호: 51의 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 VH 도메인을 포함한다.
- [0568] EA30. EA1-EA6, EA10, EA12, EA14-EA21, 또는 EA25-EA29 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 Fc 영역을 포함한다.
- [0569] EA31. EA30의 방법으로서, 상기 Fc 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 아이소타입의 것이다.
- [0570] EA32. EA30 또는 EA31의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 힌지 도메인을 더 포함한다.
- [0571] EA33. EA32의 방법으로서, 상기 Fc 영역 및 상기 힌지 도메인은 둘 다 IgG4 아이소타입의 것이고, 상기 힌지 도메인은 안정화 돌연변이를 포함한다.

- [0572] EA34. EA30-EA33 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 Fc 영역은 다음을 포함하는 변이체 Fc 영역이다:
- [0573] (a) Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 변형; 및/또는
- [0574] (b) 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 변형.
- [0575] EA35. EA34의 방법으로서, Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 상기 변형은 L234A; L235A; 또는 L234A 및 L235A의 치환을 포함하며, 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0576] EA36. EA34 또는 EA35의 방법으로서, 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 상기 변형은 M252Y; M252Y 및 S254T; M252Y 및 T256E; M252Y, S254T 및 T256E; 또는 K288D 및 H435K의 치환을 포함하며, 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0577] EA37. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA36 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 **서열 번호: 59**의 2개의 폴리펩타이드 사슬 및 **서열 번호: 60**의 2개의 폴리펩타이드 사슬을 포함한다.
- [0578] EA38. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA37 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 120 mg의 일정한 용량으로 투여된다.
- [0579] EA39. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA37 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 300 mg의 일정한 용량으로 투여된다.
- [0580] EA40. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA37 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 400 mg의 일정한 용량으로 투여된다.
- [0581] EA41. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA37 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 투여된다.
- [0582] EA42. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA37 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여된다.
- [0583] EA43. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA42 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 일정한 용량은 약 2주마다 1회 투여된다.
- [0584] EA44. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, 또는 EA25-EA42 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 일정한 용량은 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0585] EA45. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA37, EA40, 또는 EA43 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 400 mg의 일정한 용량으로 약 2주마다 1회 투여된다.
- [0586] EA46. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA37, EA41, 또는 EA43 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 2주마다 1회 투여된다.
- [0587] EA47. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA37, EA41, 또는 EA44 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0588] EA48. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA37, EA42, 또는 EA44 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 800 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0589] EA49. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA48 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여된다.
- [0590] EA50. EA49의 방법으로서, 상기 정맥내 (IV) 주입은 30-240분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0591] EA51. EA49의 방법으로서, 상기 정맥내 (IV) 주입은 30-90분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0592] EA52. EA1-EA51 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 암은 부신암, AIDS-관련된 암, 포상 연부육종, 항문암 (항문관의 편평 세포 암종 (SCAC) 포함), 방광암, 골암, 뇌암 및 척수암, 유방암 (HER2+ 유방암 또는 삼중 음성 유방

암 (TNBC) 포함), 경동맥체 종양, 자궁경부암 (HPV-관련된 자궁경부암 포함), 연골육종, 척색종, 난염성 신장 세포 암종, 투명 세포 암종, 결장암, 결장직장암, 결합조직성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 자궁내막암 (비선 택 자궁내막암, 고빈도 MSI 자궁내막암, dMMR 자궁내막암, 및/또는 POLE 엑소뉴클레아제 도메인 돌연변이 양성 자궁내막암 포함), 유잉 육종, 골외 점액성 연골육종, 담낭암 또는 담관암 (담관암종 담관암 포함), 위암, 위 식도 접합부 (GEJ) 암, 임신성 영양막 질환, 생식 세포 종양, 교아종, 두경부암 (두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) 포함), 혈액학적 악성 종양, 간세포 암종, 섬세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 백혈병 (급성 골수성 백 혈병 포함), 지방육종/악성 지방종성 종양, 간암 (간세포 암종 간암 (HCC) 포함), 림프종 (미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 비-호지킨 림프종 (NHL) 포함), 폐암 (소세포 폐암 (SCLC), 비-소세포 폐암 (NSCLC) 포함), 수모세포종, 흑색종 (포도막 흑색종 포함), 수막종, 메르켈 세포 암종, 증피종 (증피성 인두암 포함), 다발성 내분비선 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경아세포종, 신경 내분비 종양, 난소암, 췌장암, 유두 상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아 암, 말초 신경집 종양, 인두암, 크롬 친화성 세포종, 뇌하수체 종양, 전 림선암 (전이성 거세저항성 전립선암 (mCRPC) 포함), 후부 포도막 흑색종, 전이성 신장암, 간상소체 종양, 횡문 근육종, 육종, 피부암, 아동기 소원형 과란 세포 종양 (신경아세포종 및 횡문근육종 포함), 연조직 육종, 편평 세포 암, 위암, 활막육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선암, 또는 자궁암이다.

- [0593] EA53. EA52의 방법으로서, 상기 암은 항문암, 유방암, 담관암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막암, 위암, GEJ 암, 두경부암, 간암, 폐암, 림프종, 흑색종, 난소암 또는 전립선암이다.
- [0594] EA54. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 HER2<sup>+</sup> 유방암 또는 TNBC이다.
- [0595] EA55. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 담관암종 담관암이다.
- [0596] EA56. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 HPV-관련된 자궁경부암이다.
- [0597] EA57. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 SCCHN이다.
- [0598] EA58. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 HCC이다.
- [0599] EA59. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 SCLC 또는 NSCLC이다.
- [0600] EA60. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 NHL이다.
- [0601] EA61. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 전립선암이다.
- [0602] EA62. EA52 또는 EA53의 방법으로서, 상기 암은 위암이다.
- [0603] EA63. EA2-EA62 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>) 및 중쇄 가변 도메 인 (VH<sub>HER2</sub>)을 포함하는 HER2-결합 도메인을 포함하는 HER2-결합 분자이며,
- [0604] (a) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 **서열 번호: 61**의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 마르게텍시맙의 경쇄 가변 도메인을 포함하고, 및 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 **서열 번호: 66**의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하 는 마르게텍시맙의 중쇄 가변 도메인을 포함하거나;
- [0605] (b) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맙의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맙의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나;
- [0606] (c) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맙의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맙의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나; 또는
- [0607] (d) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함한다.
- [0608] EA64. EA2-EA63 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 HER2-결합 분자는 항-HER2 항체이다.
- [0609] EA65. EA64의 방법으로서, 상기 항-HER2 항체는 마르게텍시맙이고, 상기 방법은 마르게텍시맙을 약 6 mg/kg 내 지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여하는 단계를 포함한다.
- [0610] EA66. EA65의 방법으로서, 마르게텍시맙은 약 6 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg 및 약 18 mg/kg으로 이루어

진 군으로부터 선택된 용량으로 약 3주마다 1회 투여된다.

- [0611] EA67. EA65 또는 EA66의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여되고 마르케톡시맙은 약 15 mg/kg의 용량으로 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0612] EA68. EA63-EA67 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 방법은 화학치료제를 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0613] EA69. EA63-EA68 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 암은 HER2 발현 암이다.
- [0614] EA70. EA69의 방법으로서, 상기 HER2 발현 암은 유방암, 전이성 유방암, 방광암, 위암, GEJ 암, 난소암, 췌장암, 또는 위암이다.
- [0615] EA71. EA2-EA62 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는 B7-H3-결합 도메인을 포함하는 B7-H3-결합 분자이며,
- [0616] 상기 VL은 **서열 번호: 71**의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고, 상기 VH는 **서열 번호: 76**의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함한다.
- [0617] EA72. EA2-EA62 또는 EA71 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 TA-결합 분자는 에노블리투주맙이다.
- [0618] EA73. EA72의 방법으로서, 상기 에노블리투주맙은 약 6 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0619] EA74. EA73의 방법으로서, 에노블리투주맙은 약 6 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg 및 약 18 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택된 용량으로 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0620] EA75. EA73 또는 EA74의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는
- [0621] 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여되고 에노블리투주맙은 약 15 mg/kg의 용량으로 약 3주마다 1회 투여된다.
- [0622] EA76. EA71-EA75 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 암은 B7-H3 발현 암이다.
- [0623] EA77. EA76의 방법으로서, 상기 B7-H3 발현 암은 항문암, SCAC, 유방암, TNBC, 두경부암, SCCHN, 폐암, NSCLC, 흑색종, 포도막 흑색종, 전립선암, mCRPC이다.
- [0624] EA78. EA2-EA77 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 TA-결합 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여된다.
- [0625] EA79. EA78의 방법으로서, 상기 IV 주입은 약 30-240분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0626] EA80. EA78의 방법으로서, 상기 IV 주입은 약 30-90분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0627] EA81. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA80 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 상기 TA-결합 분자는 별개의 약학적 조성물에서 상기 대상체에 동시에 투여되며, 상기 별개의 조성물은 24시간 기간 내에 투여된다.
- [0628] EA82. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA80 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 상기 TA-결합 분자는 별개의 약학적 조성물에서 상기 대상체에 순차적으로 투여되며, 두 번째로 투여된 조성물은 최초 투여된 조성물의 투여 후 적어도 24시간에 투여된다.
- [0629] EA83. EA1-EA82 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 대상체는 이전에 CAR T-세포 요법으로 치료되었다.
- [0630] EA84. EA1-EA6, EA10, EA14-EA21, EA25-EA82 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 CAR T-세포 요법과 동시에, 또는 그것으로의 치료 이후에 투여된다.
- [0631] EA85. EA1-EA84 중 어느 하나의 방법으로서, LAG-3를 발현하는 세포는 상기 치료 전 상기 암의 생검에 존재한다.
- [0632] EA86. EA1-EA85 중 어느 하나의 방법으로서, PD-1을 발현하는 세포는 상기 치료 전 상기 암의 생검에 존재한다.
- [0633] EA87. EA1-EA86 중 어느 하나의 방법으로서, 치료 전 암의 생검에서 PD-1 및 LAG-3의 동시-발현은 상기 환자가 이러한 방법에 대한 후보임을 나타낸다.

- [0634] EA88. EA87의 방법으로서, 발현은 유전자 발현이다.
- [0635] EA89. EA1-EA88 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 치료 전에, 상기 암의 세포 표면 상에서의 PD-L1 발현은 복합 양성 점수 (CPS) 또는 중앙 비율 점수 (TPS)를 사용하여 결정된 바와 같이 1% 미만이다.
- [0636] EA90. EA1-EA89 중 어느 하나의 방법으로서, 상기 대상체는 이전에 적어도 하나의 사전 치료에 반응하지 못했거나, 또는 불충분한 반응을 나타냈다.
- [0637] EA91. EA90의 방법으로서, 상기 사전 치료 중 적어도 하나는 PD-1-결합 분자 또는 PD-L1-결합 분자로의 치료이다.
- [0638] EB1. 대상체에서 암을 치료하는데 사용하기 위한 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 120 mg 내지 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여하기 위한 것이다.
- [0639] EB2. EB1의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자로서, 상기 암은 TA의 발현을 특징으로 하고, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 TA-결합 분자와 조합으로 사용된다.
- [0640] EB3. TA의 발현을 특징으로 하는 암을 치료하기 위한 다음의 조합:
  - [0641] (I) TA-결합 분자; 및
  - [0642] (II) (a) PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는
  - [0643] (b) LAG-3-결합 분자와 조합된 PD-1-결합 분자; 또는
  - [0644] (c) PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자; 또는
  - [0645] (d) LAG-3-결합 분자와 조합된 PD-L1-결합 분자.
- [0646] EB4. EB2의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3의 조합, 또는 EB7의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함한다.
- [0647] EB5. EB2, 또는 EB4의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB2-4 중 어느 하나의 조합, 또는 EB7-8의 조합으로서,
  - [0648] (a) 각각의 분자는 별개의 조성물 내에 있거나;
  - [0649] (b) 각각의 분자는 동일한 조성물 내에 있거나; 또는
  - [0650] (c) 상기 PD-1-결합 분자 및 상기 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고; 및 상기 TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있거나; 또는
  - [0651] (d) 상기 PD-L1-결합 분자 및 상기 LAG-3-결합 분자는 동일한 조성물 내에 있고, 및 상기 TA-결합 분자는 별개의 조성물 내에 있다.
- [0652] EB6. EB2, 또는 EB4-EB5 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-5 중 어느 하나의 조합, 또는 EB7-EB9 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자는 항체이다.
- [0653] EB7. EB3-EB6 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1-결합 분자는 항체이다.
- [0654] EB8. EB3-EB6 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-L1-결합 분자는 항체이다.
- [0655] EB9. EB3-EB8 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 LAG-3-결합 분자는 항체이다.
- [0656] EB10. EB3-EB6 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자가 사용된다.
- [0657] EB11. EB3-EB9 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 LAG-3-결합 분자와 조합된 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-1-결합 분자가 사용된다.
- [0658] EB12. EB3-EB6 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자가 사용된다.
- [0659] EB13. EB3-EB9 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 LAG-3-결합 분자와 조합된 상기 TA-결합 분자 및 상기 PD-L1-결합 분자가 사용된다.

- [0660] EB14. EB4-EB6 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB4-EB9 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 다음을 포함한다:
- [0661] (a) 조작된 글리코폼; 및/또는
- [0662] (b) 야생형 Fc 영역에 대한 아미노산 치환.
- [0663] EB15. EB14의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB14의 조합으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 푸코스를 함유하지 않고, 및/또는 이등분 O-GlcNAc를 포함하는 복합 N-글리코시드-연결된 당 사슬인 조작된 글리코폼을 포함한다.
- [0664] EB16. EB14 또는 EB15의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB14 또는 EB15의 조합으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 F243L, R292P, Y300L, V305I, I332E, 및 P396L로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0665] EB17. EB14-EB16 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB14-EB16 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 다음으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 치환을 포함한다:
- [0666] (a) F243L, R292P, Y300L, V305I, I332E, 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 치환;
- [0667] (b) (1) F243L 및 P396L;
- [0668] (2) F243L 및 R292P;
- [0669] (3) R292P 및 V305I; 및
- [0670] (4) S239D 및 I332E로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 치환;
- [0671] (c) (1) F243L, R292P 및 Y300L;
- [0672] (2) F243L, R292P 및 V305I;
- [0673] (3) F243L, R292P 및 P396L; 및
- [0674] (4) R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 3개의 치환;
- [0675] (d) (1) F243L, R292P, Y300L 및 P396L; 및
- [0676] (2) F243L, R292P, V305I 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 4개의 치환; 또는
- [0677] (e) (1) F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P396L; 및
- [0678] (2) L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L로 이루어진 군으로부터 선택된 5개의 치환;
- [0679] 여기서 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0680] EB18. EB14-EB16 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB14-EB16 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 아미노산 치환, L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L을 포함하며, 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0681] EB19. EB14-EB16 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB14-EB16 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 ADCC-향상된 Fc 도메인은 아미노산 치환, S239D 및 I332E를 포함하며, 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0682] EB20. EB2, EB4-EB6, 또는 EB14-EB19 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB19 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA는 표 6A 또는 표 6B로부터 선택된다.
- [0683] EB21. EB2, EB4-EB6, 또는 EB14-EB19 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB19 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자는 표 7로부터 선택된 항체의 VL 및 VH 도메인을 포함한다.
- [0684] EB22. EB3-EB7, EB9, EB11 또는 EB14-EB21 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1-결합 분자는 다음을 포함하는 항체이다:
- [0685] (a) 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VH 도메인;

- [0686] (b) 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0687] (c) 표 1로부터 선택된 항-PD-1 항체의 경쇄 및 중쇄.
- [0688] EB23. EB3-EB6, EB8-EB9, 또는 EB13-EB21 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-L1-결합 분자는 다음을 포함하는 항체이다:
- [0689] (a) 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VL 도메인, 및 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함하는 PD-L1 VH 도메인;
- [0690] (b) 표 2로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0691] (c) 표 2로부터 선택된 항-PD-L1 항체의 경쇄 및 중쇄.
- [0692] EB24. EB3-EB9, EB11 또는 EB13-EB23 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 LAG-3-결합 분자는 다음을 포함하는 항체이다:
- [0693] (a) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인;
- [0694] (b) 표 3로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0695] (c) 표 3로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 경쇄 및 중쇄.
- [0696] EB25. EB2, EB4-EB6, 또는 EB14-EB21 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, 또는 EB14-EB21 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함한다:
- [0697] (a) 서열 번호: 35의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 PD-1 VH 도메인, 또는 표 7로부터 선택된 항-PD-1 항체의 VH 및 VL 도메인; 및/또는
- [0698] (b) 서열 번호: 51의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VL 도메인, 및 서열 번호: 55의 아미노산 서열을 포함하는 LAG-3 VH 도메인, 또는 표 9로부터 선택된 항-LAG-3 항체의 VH 및 VL 도메인; 또는
- [0699] (c) 표 4-5로부터 선택된 이중특이적 항체-기반 분자.
- [0700] EB26. EB2, EB4-EB6, 또는 EB14-EB21 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, 또는 EB14-EB21 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함한다:
- [0701] (a) 서열 번호: 35의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>PD-1</sub>), 및 서열 번호: 39의 PD-1-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>PD-1</sub>)을 포함하는 PD-1-결합 도메인; 및
- [0702] (b) 서열 번호: 51의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>LAG-3</sub>), 및 서열 번호: 55의 LAG-3-특이적 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>LAG-3</sub>)을 포함하는 LAG-3-결합 도메인.
- [0703] EB27. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB26 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21 또는 EB25-EB26 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 다음을 포함한다:
- [0704] (a) 상기 PD-1-결합 도메인 중 2개; 및
- [0705] (b) 상기 LAG-3-결합 도메인 중 2개.
- [0706] EB28. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB27 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB27 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 서열 번호: 35의 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 VH 도메인을 포함한다.
- [0707] EB29. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB28 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB28 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 서열 번호: 51의 VL 도메인, 및 서열 번호: 39의 VH 도메인을 포함한다.
- [0708] EB30. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB29 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB2-6, EB10, 12, EB14-EB21, 또는 EB25-EB29 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는

상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 Fc 영역을 포함한다.

- [0709] EB31. EB30의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB30의 조합으로서, 상기 Fc 영역은 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 아이소타입의 것이다.
- [0710] EB32. EB30 또는 EB31의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB30 또는 EB31의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 힌지 도메인을 더 포함한다.
- [0711] EB33. EB32의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB32의 조합으로서, 상기 Fc 영역 및 상기 힌지 도메인은 둘 다 IgG4 아이소타입의 것이고, 상기 힌지 도메인은 안정화 돌연변이를 포함한다.
- [0712] EB34. EB30-EB33 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB30-EB33 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 Fc 영역은 다음을 포함하는 변이체 Fc 영역이다:
  - [0713] (a) Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 하나 이상의 아미노산 변형; 및/또는
  - [0714] (b) 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 변형.
- [0715] EB35. EB34의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB34의 조합으로서, Fc $\gamma$ R에 대한 변이체 Fc 영역의 친화도를 감소시키는 상기 변형은 L234A; L235A; 또는 L234A 및 L235A의 치환을 포함하며, 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0716] EB36. EB34 또는 EB35의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB34 또는 EB35의 조합으로서, 변이체 Fc 영역의 혈청 반감기를 향상시키는 상기 변형은 M252Y; M252Y 및 S254T; M252Y 및 T256E; M252Y, S254T 및 T256E; 또는 K288D 및 H435K의 치환을 포함하며, 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 지수의 넘버링이다.
- [0717] EB37. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB36 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB36 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 **서열 번호: 59**의 2개의 폴리펩타이드 사슬 및 **서열 번호: 60**의 2개의 폴리펩타이드 사슬을 포함한다.
- [0718] EB38. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 120 mg의 일정한 용량으로 투여하기 위한 것이다.
- [0719] EB39. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 300 mg의 일정한 용량으로 투여하기 위한 것이다.
- [0720] EB40. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 400 mg의 일정한 용량으로 투여하기 위한 것이다.
- [0721] EB41. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 투여하기 위한 것이다.
- [0722] EB42. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB37 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 800 mg의 일정한 용량으로 투여하기 위한 것이다.
- [0723] EB43. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB42 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB42 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 일정한 용량은 약 2주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0724] EB44. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB42 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, 또는 EB25-EB42 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 일정한 용량은 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0725] EB45. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, EB25-EB37, EB40, 또는 EB43 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB37, EB40, 또는 EB43 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 400 mg의 일정한 용량으로 약 2주마다 1회 투

여하기 위한 것이다.

- [0726] EB46. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, EB25-EB37, EB41, 또는 EB43 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB37, EB41, 또는 EB43 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 2주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0727] EB47. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, EB25-EB37, EB41, 또는 EB44 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB37, EB41, 또는 EB44 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0728] EB48. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, EB25-EB37, EB42, 또는 EB44 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB37, EB42, 또는 EB44 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 800 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0729] EB49. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB48 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB48 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여하기 위한 것이다.
- [0730] EB50. EB49의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB49의 조합으로서, 상기 정맥내 (IV) 주입은 30-240분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0731] EB51. EB49의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB49의 조합으로서, 상기 정맥내 (IV) 주입은 약 30-90분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0732] EB52. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB51 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB51 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 암은 부신암, AIDS-관련된 암, 포상 연부육종, 항문암 (항문관의 편평 세포 암종 (SCAC) 포함), 방광암, 골암, 뇌암 및 척수암, 유방암 (HER2+ 유방암 또는 삼중 음성 유방암 (TNBC) 포함), 경동맥체 종양, 자궁경부암 (HPV-관련된 자궁경부암 포함), 연골육종, 척색종, 난염성 신장 세포 암종, 투명 세포 암종, 결장암, 결장직장암, 결합조직성 소원형 세포 종양, 상의세포종, 자궁내막암 (비선택 자궁내막암, 고빈도 MSI 자궁내막암, dMMR 자궁내막암, 및/또는 POLE 엑소뉴클레아제 도메인 돌연변이 양성 자궁내막암 포함), 유잉 육종, 골외 점액성 연골육종, 담낭암 또는 담관암 (담관암종 담관암 포함), 위암, 위 식도 접합부 (GEJ) 암, 임신성 영양막 질환, 생식 세포 종양, 교아종, 두경부암 (두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) 포함), 혈액학적 악성 종양, 간세포 암종, 섬세포 종양, 카포시 육종, 신장암, 백혈병 (급성 골수성 백혈병 포함), 지방육종/악성 지방종성 종양, 간암 (간세포 암종 간암 (HCC) 포함), 림프종 (미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 비-호지킨 림프종 (NHL) 포함), 폐암 (소세포 폐암 (SCLC), 비-소세포 폐암 (NSCLC) 포함), 수모세포종, 흑색종 (포도막 흑색종 포함), 수막종, 메르켈 세포 암종, 중피종 (중피성 인두암 포함), 다발성 내분비선 종양증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 신경아세포종, 신경 내분비 종양, 난소암, 췌장암, 유두상 갑상선 암종, 부갑상선 종양, 소아 암, 말초 신경집 종양, 인두암, 크롬 친화성 세포종, 뇌하수체 종양, 전립선암 (전이성 거세저항성 전립선암 (mCRPC) 포함), 후부 포도막 흑색종, 전이성 신장암, 간상소체 종양, 횡문근육종, 육종, 피부암, 아동기 소원형 과립 세포 종양 (신경아세포종 및 횡문근육종 포함), 연조직 육종, 편평 세포 암, 위암, 활막육종, 고환암, 흉선 암종, 흉선종, 갑상선암, 또는 자궁암이다.
- [0733] EB53. EB52의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52의 조합으로서, 상기 암은 항문암, 유방암, 담관암, 자궁경부암, 결장직장암, 자궁내막암, 위암, GEJ 암, 두경부암, 간암, 폐암, 림프종, 흑색종, 난소암 또는 전립선암이다.
- [0734] EB54. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 HER2<sup>+</sup> 유방암 또는 TNBC이다.
- [0735] EB55. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 담관암종 담관암이다.
- [0736] EB56. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 HPV-관련된 자궁경부암이다.

- [0737] EB57. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 SCCHN이다.
- [0738] EB58. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 HCC이다.
- [0739] EB59. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 SCLC 또는 NSCLC이다.
- [0740] EB60. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 NHL이다.
- [0741] EB61. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 전립선암이다.
- [0742] EB62. EB52 또는 EB53의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB52 또는 EB53의 조합으로서, 상기 암은 위암이다.
- [0743] EB63. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB62 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB62 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>) 및 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)을 포함하는 HER2-결합 도메인을 포함하는 HER2-결합 분자이며,
- [0744] (a) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 **서열 번호: 61**의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하는 마르케특시맵의 경쇄 가변 도메인, 및 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 **서열 번호: 66**의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하는 마르케특시맵의 중쇄 가변 도메인을 포함하거나;
- [0745] (b) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맵의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 트라스투주맵의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나;
- [0746] (c) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맵의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 퍼투주맵의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함하거나; 또는
- [0747] (d) 상기 경쇄 가변 도메인 (VL<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고 상기 중쇄 가변 도메인 (VH<sub>HER2</sub>)은 hHER2 MAB-1의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함한다.
- [0748] EB64. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB63 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB63 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 HER2-결합 분자는 항-HER2 항체이다.
- [0749] EB65. EB64의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB64의 조합으로서, 상기 항-HER2 항체는 마르케특시맵이고, 마르케특시맵은 약 6 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0750] EB66. EB65의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB65의 조합으로서, 마르케특시맵은 약 6 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg 및 약 18 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택된 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0751] EB67. EB65 또는 EB66의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB65 또는 EB66의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이고 마르케특시맵은 약 15 mg/kg의 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0752] EB68. EB63-67 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB63-EB67 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 조합은 화학치료제와 함께 투여하기 위한 것이다.
- [0753] EB69. EB63-EB68 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB63-EB68 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 암은 HER2 발현 암이다.
- [0754] EB70. EB69의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB69의 조합으로서, 상기 HER2 발현 암은 유방암, 전이성 유방암, 방광암, 위암, GEJ 암, 난소암, 췌장암, 또는 위암이다.
- [0755] EB71. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB62 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-

EB62 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자는 경쇄 가변 도메인 (VL) 및 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는 B7-H3-결합 도메인을 포함하는 B7-H3-결합 분자이며,

- [0756] 상기 VL은 서열 번호: 71의 CDR<sub>L1</sub>, CDR<sub>L2</sub> 및 CDR<sub>L3</sub>를 포함하고, 상기 VH는 서열 번호: 76의 CDR<sub>H1</sub>, CDR<sub>H2</sub> 및 CDR<sub>H3</sub>를 포함한다.
- [0757] EB72, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, EB25-EB62, 또는 EB71 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-62 또는 EB71 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자는 에노블리투주맵이다.
- [0758] EB73, EB72의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB72의 조합으로서, 상기 에노블리투주맵은 약 6 mg/kg 내지 약 18 mg/kg의 투약량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0759] EB74, EB73의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB73의 조합으로서, 에노블리투주맵은 약 6 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 15 mg/kg 및 약 18 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택된 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0760] EB75, EB73 또는 EB74의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB73 또는 EB74의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자는 약 600 mg의 일정한 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이고 에노블리투주맵은 약 15 mg/kg의 용량으로 약 3주마다 1회 투여하기 위한 것이다.
- [0761] EB76, EB71-EB75 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB71-EB75 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 암은 B7-H3 발현 암이다.
- [0762] EB77, EB76의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB76의 조합으로서, 상기 B7-H3 발현 암은 항문암, SCAC, 유방암, TNBC, 두경부암, SCCHN, 폐암, NSCLC, 흑색종, 포도막 흑색종, 전립선암, mCRPC이다.
- [0763] EB78, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB77 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB77 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 TA-결합 분자는 정맥내 (IV) 주입에 의해 투여하기 위한 것이다.
- [0764] EB79, EB78의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB78의 조합으로서, 상기 IV 주입은 약 30-240분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0765] EB80, EB78의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB78의 조합으로서, 상기 IV 주입은 약 30-90분의 기간에 걸쳐 이루어진다.
- [0766] EB81, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB80 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB80 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 상기 TA-결합 분자는 별개의 약학적 조성물에서 상기 대상체로의 동시 투여를 위한 것이며, 상기 별개의 조성물은 24 시간 내에 투여하기 위한 것이다.
- [0767] EB82, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB80 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB80 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 및 상기 TA-결합 분자는 별개의 약학적 조성물에서 상기 대상체로의 순차적 투여를 위한 것이고, 두 번째로 투여된 조성물은 최초 투여된 조성물의 투여 후 적어도 24시간에 투여하기 위한 것이다.
- [0768] EB83, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB82 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB82 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 대상체는 이전에 CAR T-세포 요법으로 치료되었다.
- [0769] EB84, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB83 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB6, EB10, EB14-EB21, EB25-EB82 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 또는 상기 PD-L1 x LAG-3 이중특이적 분자는 CAR T-세포 요법과 동시에, 또는 그것으로의 치료 이후에 투여하기 위한 것이다.
- [0770] EB85, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB84 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB84 중 어느 하나의 조합으로서, LAG-3를 발현하는 세포는 상기 치료 전에 상기 암의 생검에 존재한다.
- [0771] EB86, EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB85 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB85 중 어느 하나의 조합으로서, PD-1을 발현하는 세포는 상기 치료 전에 상기 암의 생검에 존재한다.
- [0772] EB87, EB1-EB86 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB86 중 어느 하나의 조합으로서, 치

료 전 암의 생검에서 PD-1 및 LAG-3의 동시-발현은 상기 환자가 이러한 방법에 대한 후보임을 나타낸다.

- [0773] EB88. EB87의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB87의 조합으로서, 발현은 유전자 발현이다.
- [0774] EB89. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB88 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB88 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 치료 전에, 상기 암의 세포 표면 상에서의 PD-L1 발현은 복합 양성 점수 (CPS) 또는 중앙 비율 점수 (TPS)를 사용하여 결정된 바와 같이 1% 미만이다.
- [0775] EB90. EB2, EB4-EB6, EB14-EB21, 또는 EB25-EB89 중 어느 하나의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB3-EB89 중 어느 하나의 조합으로서, 상기 대상체는 이전에 적어도 하나의 선행 치료에 반응하지 못했거나, 또는 불충분한 반응을 나타냈다.
- [0776] EB91. EB90의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, 또는 EB88의 조합으로서, 상기 사전 치료 중 적어도 하나는 PD-1-결합 분자 또는 PD-L1-결합 분자로의 치료였다.
- [0777] 실시예
- [0778] 다음 실시예는 청구된 발명을 더 잘 예시하기 위해 제공되고 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 구체적인 물질이 언급되는 정도까지, 그것은 단지 예시의 목적이며 본 발명을 제한하려는 의도는 없다. 당업자는 본 발명의 능력을 행사하지 않고 본 발명의 범위로부터 벗어나지 않으면서 동등한 수단 또는 반응물을 개발할 수 있다.
- [0779] **실시예 1**
- [0780] **I 단계 연구**
- [0781] DART-I (MGD013 및 테보텔리맙으로도 알려져 있는 PD-1 및 LAG-3에 결합하는 이중특이적 분자)에 대한 환자의 관용성을 결정하기 위해서, I 단계 임상 연구를 실행한다. 연구는 용량 단계적 확대(escalation) 단계 및 코호트 확장 단계를 포함한다. 연구는 각각의 임상 현장의 기관 감사 위원회에 의해 승인되었고, 모든 환자들은 서면 동의서에 서명하였다.
- [0782] 초기 용량 단계적 확대 및 용량 확장 코호트에 대해서, DART-I를 2주 1회 (Q2W) 투여하였다. 연구의 목적을 위해서, 8주 (56일) 주기를 사용하며, 여기서 DART-I는 제1 주기의 2주 기간마다 제1 일에 시작하여 Q2W 투여되고 (제1 일, 및 제15±1일, 제29±1일, 및 제43±1일에 투여되고), 각각의 후속 주기의 제1±1일에 시작하여 Q2W 투여된다. 환자는 연구 치료에 대한 관용성 및 반응에 따라 다회수의 8주 Q2W 치료 주기를 받을 수 있다.
- [0783] 추가적인 확장 코호트에서, DART-I는 3주마다 1회 (Q3W) 투여된다. 연구의 목적을 위해, 3주 주기 (각각 21일) 들을 사용한다. DART-I를 제1 주기의 제1 일 및 각각의 후속 주기의 제1±3일에 투여한다. 환자는 연구 치료에 대한 관용성 및 반응에 따라 다회수의 3주 (Q3W) 치료 주기를 받을 수 있다.
- [0784] 조합 확장 코호트에서, DART-I 및 항-HER2 항체 마르케툽시맙 (ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 TA-결합 분자)를 둘 다 3주마다 1회 (Q3W) 투여한다. 연구의 목적을 위해서, 3주 주기 (각각 21일)들이 사용되며 여기서 DART-I 및 마르케툽시맙을 제1 주기의 제1 일 및 각각의 후속 주기의 제1±3일에 투여한다. 환자는 연구 치료에 대한 관용성 및 반응에 따라 다회수의 3주 (Q3W) 치료 주기를 받을 수 있다.
- [0785] 이들 연구에서, DART-I의 용량을 생리 식염수에서 0.12 mg/mL 내지 6.4 mg/mL의 농도 범위로 희석하고 상업적으로 이용 가능한 주사기 또는 주입 펌프를 사용하여 약 60 내지 75분에 걸쳐 IV 라인을 통해 투여한다.
- [0786] 이들 연구에서 마르케툽시맙의 용량을 생리 식염수에서 2.4 내지 7.2 mg/mL의 농도로 희석하고 상업적으로 이용 가능한 주사기 또는 주입 펌프를 사용하여 대략 30-120분에 걸쳐 IV 주입에 의해 투여한다.
- [0787] 항종양 활성을 다음을 사용하여 평가한다: 고체 종양의 기존 반응 평가 기준 (conventional Response Evaluation Criteria in Solid Tumors: RECIST), 버전 1.1 (Eisenhauer, E.A., *et al.* (2009) "*New Response Evaluation Criteria In Solid Tumours: Revised RECIST Guideline (Version 1.1)*" *Eur. J. Cancer.* 45(2):228-247); 고체 종양의 면역-관련된 반응 평가 기준 (immune-related Response Evaluation Criteria in Solid Tumors: irRECIST) (Wolchok, J.D., *et al.*, (2009) "*Guidelines For The Evaluation Of Immune Therapy Activity In Solid Tumors: Immune-Related Response Criteria.*" *Clin. Cancer Res.* 15:7412-7420); 또는 적용 가능한 경우, 반응 평가를 위해 개정된 국제 작업군 기준 (즉, 루가노 분류(Lugano Classification); Cheson, B.D., *et al.*, (2014) "*Recommendations For Initial Evaluation, Staging, And Response Assessment*

*Of Hodgkin And Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification.*" J. Clin. Oncol, 32:3059-3068).

[0788] 용량 단계적 확대 단계에서 순차적인 1 mg에서 최대 1200 mg까지 단계적으로 확대되는 일정한 용량을 1 내지 6 명의 환자의 연속적인 코호트에서 Q2W 투여하였으며, 각각 평가하였다 (표 8). 다양한 용량 수준에서, 용량 단계적 확대 목적을 위해 평가될 수 없는 것으로 평가된 환자는 대체되었다. 추가적인 임상 경험을 획득하기 위해 추가적인 환자를 또한 관심있는 다회수 용량 수준에 등록하였다. 용량 단계적 확대 단계에서 임의의 조직학의 절제 불가능한, 국소 진행성 또는 전이성 고체 종양을 가진 환자를 등록하였다. 47명의 환자 (49%가 체크포인트를 경험함)를 용량 단계적 확대로 치료하였고 최대 관용된 용량은 정의되지 않았다.

표 8

| 표 8 - 용량 단계적 확대 코호트 |           |       |
|---------------------|-----------|-------|
| 용량 수준               | DART-I 용량 | 코호트   |
| 용량 수준 1             | 1 mg      | 코호트 1 |
| 용량 수준 2             | 3 mg      | 코호트 2 |
| 용량 수준 3             | 10 mg     | 코호트 3 |
| 용량 수준 4             | 30 mg     | 코호트 4 |
| 용량 수준 5             | 120 mg    | 코호트 5 |
| 용량 수준 6             | 400 mg    | 코호트 6 |
| 용량 수준 7             | 800 mg    | 코호트 7 |
| 용량 수준 8             | 1200 mg   | 코호트 8 |

[0789] 제한되는 것은 아니지만, 관찰된 임상 활성, 말초 수용체 점유율, 및 약동학 (PK)을 포함하는, 용량 단계적 확대 단계의 전체 임상 데이터에 기초하여, 처음에 Q2W 투여된 600 mg의 용량을 코호트 확장 단계에서 평가되는 주입 양생법으로 선택하였다.

[0791] 코호트 확장 단계의 초기 코호트에서 별개의 악성 질환 (NSCLC (사전 체크포인트 치료 및 체크포인트-나이브 (naive) 코호트 이후); SCCHN (사전 체크포인트 치료 및 체크포인트 나이브 코호트 이후); SCLC; 담관암종; HCC; 자궁경부암; TNBC; 상피성 난소암 (EOC); DLBCL, 및 위암)에 걸린 환자를 600 mg의 일정한 용량으로 Q2W 투여된 DART-I로 치료하였다. 하기 상세히 설명된 약동학 (PK) 및 수용체 점유율 (RO) 데이터에 부분적으로 기초하여, 코호트 확장 단계의 추가적인 코호트 (초기에 위암, 또는 EOC에 걸린 환자)를 600 mg의 일정한 용량으로 Q3W 투여된 DART-I로 치료하였다.

[0792] 별개의 코호트에서 HER2 종양 항원을 발현하는 진행성 또는 전이성 고체 종양 (즉, HER2+ 고체 종양, 특히 HER2+ 위암 또는 유방암)을 가진 등록 환자는 동일한 날에 순차적으로 투여되는 DART-I 및 마르케특시맵을 받는다. DART-I (300 mg 또는 600 mg)이 투여된 후 이어서 마르케특시맵 (15 mg/kg)이 Q3W 투여된다. 이 코호트는 DART-I 300 mg 용량 수준으로 3명의 환자에 이어서 600 mg 용량 수준으로 DART-I로 치료된 환자의 등록으로 시작하는 통상적인 3 + 3 접근법을 따른다.

[0793] **약동학 (PK)**

[0794] 진행 중인 연구에서, 1 내지 1200 mg Q2W의 주입 양생법 범위에서 DART-I의 약동학적 프로파일을 평가하였다. 혈청 PK 샘플을 (i) 투여 전, (ii) 주입이 끝날 때 (EOI), 및 (iii) 주기 1-2의 제1 일에 최초 투여에 대해 주입 시작 후 2, 4, 24, 72, 168시간에 수거하였다. 추가적인 혈청 PK 샘플을 주기 1-2 동안 투여된 각각의 추가적인 용량에 대해 투여 전에 및 EOI 수거하였고, 인간 혈청에서 DART-I의 농도를 ELISA를 사용하여 측정하였다. 간략히 말하면, 검정 플레이트를 2 µg/mL의 캡처 항체 (DART-I의 LAG-3 도메인을 인식하는 항-이디오타입 (anti-idiotypic) 항체, "항-ID")로 밤새도록 코팅하였다. 0.1% Tween-20이 들어있는 1X 포스페이트 완충된 식

염수 (PBS) 중의 0.5% 소 혈청 알부민 (BSA)으로 비-특이적 부위를 블로킹(blocking)한 후, 플레이트를 DART-I 표준 교정기, 품질 대조군 및 테스트 샘플과 함께 인큐베이션하였다. 고정된 항-ID 항체는 표준 교정기, 품질 대조군 및 테스트 샘플에 존재하는 DART-I를 캡처한다. 캡처된 DART-I는 0.25 µg/mL 2A5-비오틴 (비오틴닐화된 항-EK 코일 항체)에 이어서 스트렙타비딘-HRP의 1:10,000 희석액의 순차적 추가에 의해 검출된다. 결합된 HRP 활성을 ELISA PICO 기질에 의한 발광 광 생성에 의해 정량화한다. 발광 광 강도를 Victor X4 플레이트 판독기를 사용하여 상대적인 광 단위 (RLU)로서 측정한다. DART-I 표준으로부터의 RLU 신호를 4변수 로지스틱(logistic) 모델과 맞춤으로써 표준 곡선을 생성한다. 혈청 샘플 내의 DART-I의 농도를 광 강도와 DART-I의 농도가 관련된  $1/y^2$  가중치를 갖는 4변수 곡선을 사용하여 표준 곡선으로부터의 보간법(interpolation)에 의해 결정한다.

[0795] WinNonlin PK 분석 프로그램 (Phoenix<sup>®</sup> 64 WinNonlin<sup>®</sup>, Version 8.0, Certara Inc., Princeton, NJ)을 사용하여 데이터를 분석하기 위해 예비 PK 구획 모델링 접근법을 사용하였다. 사용된 모델은 개방형 1구획 또는 2구획 및 예측된 농도 제곱의 역수의 가중 인자이다. 모델을 주기 1, 제1 일 (C1D1)에 맞추었고, WinNonlin을 이용한 최초 용량 데이터는 초기 추정치를 생성하였다.

[0796] 45명의 대상체 (모두 Q2W 투여됨)를 예비 PK 분석에 대해 평가하였다 (각각 1 및 3 mg Q2W 투약량으로 1명의 환자, 10 mg Q2W 투약량으로 4명의 환자, 30 mg Q2W 투약량으로 5명의 환자, 120 mg Q2W 투약량으로 6명의 환자, 400 mg Q2W 투약량으로 9명의 환자, 600 mg Q2W 투약량으로 8명의 환자, 800 mg Q2W 투약량으로 7명의 환자, 및 1200 mg Q2W 투약량으로 4명의 환자). PK 프로파일은 도 2에서 제공된다.

[0797] PK 변수를 표 9에서의 치료에 의해 요약한다. 이들 결과는 최초 용량 DART-I 노출이 용량-관련된 방식으로 증가했다는 것을 나타낸다. DART-I C<sub>max</sub>는 용량 비례적인 방식으로 증가하였고 (기울기: 0.985 [90% 신뢰 구간 (CI): 0.949 - 1.022]) 최초 용량 AUC<sub>(INF)</sub>는 1 내지 1200 mg의 용량 범위에 걸쳐 용량 비례적인 방식보다 더 크게 증가하였다 (기울기: 1.345 [90% CI: 1.294 - 1.397]). 전체 신체 클리어런스 (CL) 값은 용량이 증가함에 따라 감소하였고, 1 내지 1200 mg의 용량 범위에 걸쳐 용량이 증가함에 따라 분산 (V<sub>ss</sub>) 및 제거 반감기 (t<sub>1/2</sub>) 값의 정지 상태 둘 다는 증가하였다. 하지만, CL, V<sub>ss</sub>, 및 t<sub>1/2</sub>는 400 내지 1200 mg의 용량 범위에 걸쳐 용량에 독립적인 것으로 나타났지만, 용량이 증가함에 따라 약간의 경향이 주목되었다. DART-I는 대략 11일이고, 분산의 부피는 DART-I 분산이 혈액 부피에 국한된다는 것을 나타낸다.

표 9

| 표 9: PK 변수                         |                             |                                  |              |                         |                         |
|------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|--------------|-------------------------|-------------------------|
| DART-I<br>투약량<br>(mg 단위의 용량)       | C <sub>max</sub><br>(µg/mL) | AUC <sub>(INF)</sub><br>(µ•h/mL) | CL<br>(mL/h) | V <sub>ss</sub><br>(mL) | t <sub>1/2</sub><br>(h) |
|                                    | GeoMean (%CV)               | GeoMean (%CV)                    | 평균<br>(SD)   | 평균<br>(SD)              | 평균<br>(SD)              |
| 1 Q2W (n=1)                        | 0.4                         | 6                                | 159.4        | 2358                    | 10.3                    |
| 3 Q2W (n=1)                        | 1.2                         | 44                               | 68.5         | 2470                    | 25.0                    |
| 10 Q2W (n=4)                       | 3.0 (25)                    | 207 (30)                         | 49.9 (13.7)  | 2818 (700)              | 40.4 (10.1)             |
| 30 Q2W (n=5)                       | 8.0 (13)                    | 590 (26)                         | 52.2 (12.8)  | 3756 (505)              | 51.5 (9.8)              |
| 120 Q2W (n=6)                      | 32.9 (20)                   | 5503 (8)                         | 21.9 (1.7)   | 4442 (975)              | 152.5 (40.9)            |
| 400 Q2W (n=9)                      | 119.7 (26)                  | 26213 (41)                       | 16.5 (7.8)   | 4857 (1866)             | 247.3 (157.2)           |
| 600 Q2W (n=8)                      | 198.7 (26)                  | 50878 (35)                       | 12.5 (5.4)   | 4515 (1745)             | 285.3 (116.0)           |
| 800 Q2W (n=7)                      | 201.5 (20)                  | 47393 (50)                       | 18.5 (8.2)   | 6149 (1854)             | 285.9 (169.3)           |
| 1200 Q2W (n=4)                     | 500.0 (18)                  | 121384 (23)                      | 10.1 (2.3)   | 3888 (1406)             | 288.3 (106.3)           |
| 전체적으로 400<br>내지 1200 Q2W<br>(n=28) | NR                          | NR                               | 14.9 (7.1)   | 4944 (1845)             | 273.7 (137.0)           |

[0798]

[0799] 축약형: AUC(INF) = 추정된 0 시간에서부터 무한대 시간까지의 혈청 농도 시간 곡선 아래 면적; C1D1 = 주기 1 제1 일; C<sub>max</sub> = 관찰된 최대 혈청 농도; CL = 전체 신체 클리어런스; CV = 변동 계수; GeoMean = 기하학적

평균; N = 환자 수; NR = 보고되지 않음; Q2W = 2주마다 1회; SD = 표준 편차; t1/2 = 제거 반감기; Vss = 정지 상태에서 분산의 부피.

[0800] **약리학 (PD)**

[0801] 1 내지 1200 mg Q2W의 용량 범위에서 DART-I의 수용체 점유율 (RO) 프로파일을 평가하였다. 각각의 샘플에서 DART-I의 RO를 형광-활성화된 세포 분류 (FACS)에 의해 결정하였다. 간략히 말하면, 샘플 당 전혈의 5개의 엘리퀴트를 5개의 12 x 75 mm 튜브로 분산시킨다. 이들 엘리퀴트 중 2개는 DART-I로 스파이킹된다(spiked) - 하나의 스파이킹된 샘플은 각각의 RO 패널에 대한 것이다. 실온 (RT)에서 30분 인큐베이션 후, 모든 엘리퀴트를 어둠 속에서 RT에서 15분 동안 적혈구 세포 용해 버퍼 (BD Biosciences)로 처리한 다음 1200 rpm에서 5분 동안 원심 분리하였다. 생충액을 제거하고 백혈구 함유 세포 펠릿을 2 ml FBS 염색 완충액 (BD Biosciences)으로 세척하였다. 2개의 엘리퀴트 (하나는 스파이킹됨)를 항체 패널 1로 염색하고, 2개의 엘리퀴트 (하나는 스파이킹됨)를 항체 패널 2로 염색하고 (표 10 참조), 하나의 엘리퀴트를 어둠 속에서 RT에서 30분 동안 100 µL의 총 부피 중의 적절한 아이소타입 대조군으로 염색한다. 샘플을 2 mL FACS 완충액으로 2회 세척하였다. 0.2 µg의 스트렙타비딘, R-피코에리트린 컨주게이트 (SAPE, Life Technologies)를 항체 패널 2 엘리퀴트에 추가한 다음, 이것을 혼합하고 어둠 속에서 RT에서 30분 동안 인큐베이션한 다음, 2 mL FACS 완충액으로 1회 세척하였다. 세포를 DAPI (0.1 µg/mL)가 들어있거나 (패널 1 및 2 샘플) 또는 DAPI가 없는 (아이소타입 샘플) 염색 완충액 200 µL에 현탁시키고 10분 후 FACS Canto II 상에서 획득한다. 기하학적 평균 형광 강도 (gMFI)를 모든 시점에 대해 IgG4 또는 EK 채널에 대한 CD4+ 또는 CD8+ 집단 전체에 대해 기록한다. 주기 1 제1 일 (C1D1) 투여 전 샘플을 백그라운드로 간주하여 모든 샘플에서 뺀다 (아이소타입 샘플은 C1D1 투여 전 샘플 데이터를 이용할 수 없는 경우에 사용한다). 퍼센트 (%)로 표현되는 수용체 점유율 (RO)을 다음 식을 사용하여 계산한다:

$$\text{수용체 점유(RO)}_{\text{EK 또는 IgG4}} = \frac{\text{gMFI 샘플 스파이킹됨} - \text{gMFI 백그라운드}}{\text{gMFI 샘플 스파이킹됨} - \text{gMFI 백그라운드}}$$

$$\text{수용체 점유(RO)}_{\text{EK 또는 IgG4}} = \frac{\text{gMFI 샘플 스파이킹됨} - \text{gMFI 백그라운드}}{\text{gMFI 샘플 스파이킹됨} - \text{gMFI 백그라운드}}$$

[0802]

표 10

| 표 10: 항체 패널  |                |                |
|--|----------------|----------------|
| 형광 라벨링된 항체/공급원   | 패널 1<br>µL/테스트 | 패널 2<br>µL/테스트 |
| Alexafluor 488 (AF488)-컨주게이션된 항-PD-1 [비-경쟁] /MacroGenics       | 5              | -              |
| 피코에리트린 (PE)-Cy7 컨주게이션된 항-LAG-3 [클론 3DS223H] (비-경쟁)/Ebioscience | -              | 5              |
| 비오틴 컨주게이션된 항-EK [클론 2A5]/MacroGenics                           | -              | 10             |
| PE 컨주게이션된 항-IgG4 [클론 HP6023]/Southern Biotech                  | 2              | -              |
| PerCP Cy5.5 컨주게이션된 항-CD8 [클론 RPA-T8]/BD Biosciences            | 5              | 5              |
| PE-Cy7 컨주게이션된 항-CD45RA [클론 L48]/BD Biosciences                 | 5              | 5              |
| APC 컨주게이션된 항-CCR7 [클론 G043H7]/BioLegend                        | 5              | 5              |
| APC-Cy7 컨주게이션된 항-CD4 [클론 SK3]/BD Biosciences                   | 5              | 5              |
| V500 컨주게이션된 항-CD3 [클론 SP34-2]/BD Biosciences                   | 5              | 5              |
| 염색 완충액   | 68             | 60             |

[0803]

[0804] 56명의 환자 (모두 Q2W 투여됨)가 예비 PD 분석을 위해 평가 가능했다 (각각 1 및 3 mg Q2W 용량의 1명의 환자, 10 mg Q2W 용량의 3명의 환자, 30 mg Q2W 용량의 5명의 환자, 120 mg Q2W 용량의 7명의 환자, 400 mg Q2W 용량의 9명의 환자, 600 mg Q2W 용량의 16명의 환자, 800 mg Q2W 용량의 8명의 환자, 및 1200 mg Q2W 용량의 6명의 환자). EOI (주기 1 또는 주기 2의 최초 용량의 투여 후 주입이 끝날 때), 및 PRE (그 다음 용량의 투여 전에)에서 CD4+ 및 CD8+ 세포의 퍼센트 수용체 점유율 (RO)은 **도 3A-3D**에서 제공된다. DART-I 농도와 CD4+ 및 CD8+ 세포로의 결합 사이의 관계를 Emax 모델을 사용하여 검사하였다:  $E = (E_{max} * C) / (EC_{50} + C)$ ; 여기서 E = % 결합, Emax = 최대 % 결합, EC50 = 절반 최대 효과를 생산하는 농도, 및 C = DART-I의 농도. DART-I는 각각 CD4+ 및 CD8+ 세포에 대해 0.045 및 0.011 µg/mL의 EC<sub>50</sub>으로 강력한 RO를 입증하는 것으로 발견되었다. 최대 RO는 전체 Q2W 주입 간격에 걸쳐 120 mg 이상의 용량에서 관찰되었고, 최대 RO의 90%는 각각 CD4+ 및 CD8+ 세포에 대해 0.6 및 0.1 µg/mL에서 달성되었다.

[0805] **PK 및 표적 농도 모델링**

[0806] 400 mg 내지 1200 mg Q2W의 주입 양생법으로 투여된 환자 (n=28)의 혈청 농도 데이터에 기초한 추가적인 PK 자극 (데이터 분석 및 모델링에 관한 상세한 설명에 대해 상기 참조)을 1 구획, V 및 CL, 및 2 구획, V1, V2, CL 및 CLD에 대해 수행하였다. 400, 600, 800, 1000, 및 1200 mg 용량에 대하여 Q2W, Q3W, 및 Q4W (4주마다 1회) 양생법을 사용하여 자극된 다윗수 용량 중간 PK 프로파일은 각각 **도 4A, 4B, 및 4C**에 도시된다. **도 4A-4C**에서 나타난 바와 같이, 중간 PK 프로파일은 23 g/mL 이상의 DART-I 표적 트로프 농도 (C<sub>트로프</sub>)가 Q2W를 사용한 400 mg 이상의 DART-I의 투여, 및 Q3W 양생법을 사용한 600 mg 이상의 DART-I의 투여로 얻어질 수 있다는 것을 나타냈다. 이에 더하여, 모든 자극된 DART-I 용량 및 양생법은 100 이상의 DART-I C<sub>트로프</sub> x 4.5 µg/mL의 RO EC<sub>50</sub>을 발생시킨다.

[0807] 이들 연구는 표적 임계치 트로프 농도 (23 µg/mL)를 얻기 위한 많은 투여 및 양생법을 지지한다. 이들 연구는 약 400 mg 이상의 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 Q2W 투여를 포함하는 주입 양생법의 효과, 및 특히 약 600 mg의 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 Q2W 투여를 포함하는 주입 양생법의 효과를 지지한다. 이들 연구는 또한 약 600 mg 이상의 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 Q3W 투여를 포함하는 주입 양생법의 효과를 특히 지지한다. 추가적으로, 상기 언급된 바와 같이, 최대 RO는 전체 Q2W 주입 양생법에 걸쳐 120 mg 이상의 용량에서 관찰되었다. 따라서, 이들 연구는 최대 RO를 달성하기에 충분한 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자의 표적 트로프 농도를 제공하기 위해 약 120 mg 이상의 Q2W 투여를 포함하는 주입 양생법의 효과를 지지한다.

[0808] **초기 임상 결과의 요약**

[0809] 처음 188명의 환자 (Q2W 용량 단계적 확대에서 47명의 환자 (49% 체크포인트 경험함), 및 Q2W 코호트 확장에서 후속의 141명의 환자 (33% 체크포인트 경험함))의 치료 후 결과가 제공된다. 치료-관련된 부작용 (TRAE)은 188명 중 117명 (62.2%)의 환자에서 발생하였고, 가장 일반적으로는 피로 (n=33) 및 구토 (n=20)가 있다. 3 등급 이상의 TRAE의 비율은 19.7%였다. 면역-관련된 부작용은 항-PD-1 항체로 관찰된 부작용과 일치하였다. 평균 반감기는 대략 11일이었고; 말초 혈액 유동세포 분석으로 120 mg 이상의 용량에서 치료 동안에 충분하고 지속적인 온-타겟(on-target) 결합을 확인하였다.

[0810] 1 내지 1200 mg의 범위의 용량의 DART-I 단일요법으로 Q2W 치료된 처음 39명의 반응-평가 가능한 용량 단계적 확대 환자 중에서, RECIST 1.1 당 삼중 음성 유방암 (TNBC), 중피종, 또는 위암을 가진 환자에서 3개의 확인된 부분적 반응 (PR)이 관찰되는 한편, 19명의 환자는 안정한 질환을 가지고 있었다. 연구가 진행 중이고 데이터가 완성되고 있지만, **도 5**에서는 600 mg으로 DART-I 단일 요법을 Q2W 받은 120명의 반응-평가 가능한 코호트 확장 환자 중에서 표적 병변의 감소 퍼센트를 입증하는 폭포 플롯이 제공된다. 단일 요법 고체 종양 확장 코호트 (즉, 미만성 거대 B-세포 림프종 [DLBCL]을 제외함) 중에서, 지금까지 RECIST 1.1 당 7개의 객관적인 반응이 관찰되었으며 (3개 확인/4개 미확인), 6개의 PR (난소, NSCLC, 및 TNBC [각각 n=2]) 및 1개의 완전한 반응 [CR] (NSCLC)을 포함한다. 51명의 환자가 안정한 질환을 가지고 있다. TNBC, EOC, NSCLC (체크포인트 억제제 CPI) 나이브 및 사전 PD-1 체크포인트 이후) 확장 코호트에서 75명의 반응 평가 가능한 환자의 추가의 결과는 **표 11**에서 요약되어 있다.

표 11

|                | TNBC         | EOC          | NSCLC<br>CPI-나이브 | NSCLC<br>PD1 후 |
|----------------|--------------|--------------|------------------|----------------|
| 평가 가능한 환자      | 23           | 23           | 14               | 15             |
| ORR (확인)       | 4.3% (1/23)  | 8.7% (2/23)  | 14.3% (2/14)     | 0% (0/15)      |
| ORR (확인 및 미확인) | 17.4% (4/23) | 8.7% (2/23)  | 21.4% (3/14)     | 13.3% (2/15)   |
| SD             | 34.8 (8/23)  | 43.5 (10/23) | 50% (7/14)       | 53.3% (8/15)   |
| DCR            | 39.1% (9/23) | 52.2 (12/23) | 64.3% (9/14)     | 53.3% (8/15)   |

[0811]

[0812]

DLBCL 확장 코호트 내에서, 2명의 평가 가능한 환자 중에서, 루가노 분류 당 1개의 CR 및 1개의 PR이 관찰되었다. 특히, CD19-표적화된 CAR T-세포 재발 후 DLBCL 환자 상태는 단일 DART-I 주입 (600 mg) 이후 CR을 경험하였다. 체크포인트 억제제 나이브 NSCLC 환자 (폐엽 절제술(lobectomy) 및 카르보플라틴 + 페메트렉시드 처리 후)는 8주 주기 (DART-I 600 mg Q2W의 4회 투여) 후 CR을 경험하였다. DLBCL 확장 코호트에서 13명의 반응-평가 가능한 환자로부터의 추가의 결과는 표 12에서 요약되어 있다. 이 더 큰 군에서, 활성화된 B-세포 (ABC), 종자 중심 B-세포 (GCB), 및 더블-히트(double-hit) (MYC/BCL2) 분자 하위유형을 포함하는 7명의 환자가 반응하였다. 반응 기간은 1 (2차 스캔 데이터 계류 중) 내지 168일의 범위에 있으며, 7명의 반응자 중 6명이 반응을 유지한다. 단일요법은 일반적으로 고도로 사전 처리된 R/R DLBCL 환자 중에서 잘 용인된다. 주입은 관리 가능한 반응과 관련이 있고 종양 용해 증후군의 증거는 없다. 이들 결과는 CAR T-경험한 R/R DLBCL 환자 및 CAR T-나이브 R/R DLBCL 환자 사이에서의 항종양 활성을 입증하며, 예비 ORR을 갖는 다양한 분자 하위유형을 나타낸다: 53.8%

표 12

|               | 반응-평가 가능한 환자 <sup>†</sup> 의 수 (%) |                    |              |
|---------------|-----------------------------------|--------------------|--------------|
|               | CAR T 후<br>(N=6)                  | CAR T 나이브<br>(N=7) | 전체<br>(N=13) |
| 최고의 전체적인 반응 ‡ |                                   |                    |              |
| CR            | 2 (33.3)                          | 0 (0)              | 2 (15.4)     |
| PR            | 0 (0)                             | 5 (71.4)           | 5 (38.5)     |
| 안정한 질환        | 0 (0)                             | 0 (0)              | 0 (0)        |
| 진행성 질환        | 4 (66.7)                          | 2 (28.6)           | 6 (46.2)     |
| ORR, n (%)    | 2 (33.3)                          | 5 (71.4)           | 7 (53.8)     |
| DCR, n (%)    | 2 (33.3)                          | 5 (71.4)           | 7 (53.8)     |

<sup>†</sup> 적어도 하나의 사후 베이스라인 종양 평가로 치료된 환자, 그리고 사망 (n=2) 및 부작용 (n=1)으로 인해 최초 스캔 전에 치료가 중단된 3 명의 환자를 제외함

<sup>‡</sup> 루가노 분류 당 종양 평가

[0813]

[0814]

항-HER-2 항체 (마르케특시맵)와 조합으로 DART-I로 치료된 HER-2+ 종양을 가진 환자의 코호트에서, 치료된 처음 5명의 평가 가능한 환자 중에서 2명의 HER2+ 유방암 환자는 부분적 반응 (PR)을 경험하였으며, 1명은 확인되었고 1명은 확인되지 않았다. 특히, 광범위한 흉벽 관여와 간 및 폐 전이와 함께 고도로 전처리된 유방암을 가진 환자는 조합의 단일 투여 후 2주에 극적인 질환 퇴행을 경험하였으며, 최초의 치료 중인 질환 평가에서 PR이 입증되었다. 이에 더하여, 사전 항-PD-1 요법 이후 여러 환자에서 객관적인 반응이 관찰되었다. 조합 코호트에 대한 추가적인 결과는 하기 제공된다.

[0815]

전처리 종양 생검 샘플을 LAG-3 발현 및 PD-L1 발현 둘 다에 대해 평가하였다. 간략히 말하면, LAG-3 발현을

Ventana Discovery Ultra 플랫폼에서 LAG-3 Ab 클론 EPR4392(2) (Abcam) IHC 검정을 사용하여 검사하였다. 양성 40x 배율 핫 스팟(hot spot) 필드 (HSF) 당 적어도 하나의 LAG-3+ve 종양-침윤 림프구 (TIL)로 정의되었다. PD-L1 TPS/CPS 발현을 Agilent PD-L1 (22C3) pharmDx 키트 지시에 따라 검사하였다. 본원에서 사용된 바와 같이, "-ve"는 "음성"을 나타내고 "+ve"는 "양성"을 나타낸다. 소급 면역조작화학법 (IHC)을 수행하였다. 간략히 말하면, TNBC, EOC, 및 NSCLC 확장 코호트의 기록된 생검을 IHC에 의해 LAG-3 (N=46) 또는 PD-L1 (N=45)에 대해 분석하였다. LAG-3 Ab 클론 EPR4392(2) (Abcam) IHC 검정을 Ventana Discovery Ultra 플랫폼 상에서 수행하였다. LAG-3 점수를 5개의 LAG-3+ 핫 스팟에 걸쳐 40x 필드 당 LAG-3+ 세포의 평균값을 계산하여 결정하였다. PD-L1 발현은 Agilent PD-L1 (22C3) pharmDx 키트에 따라 결정되고; TPS (NSCLC)를 설명 매뉴얼에 따라 계산하였고 CPS (EOC, TNBC)를 다음과 같이 계산하였다: PD-L1 + 세포 (종양 및 면역)의 수/생존 가능한 종양 세포의 총 수 x 100. 1 미만의 CPS 또는 1% 미만의 TPS가 음성으로 간주되었다. 개개의 환자의 LAG-3 및 PD-L1 점수는 표시된 임상 반응과 함께 각각 도 6A 및 6B에서 플롯팅된다. 임상 반응에 의해 플롯팅된 LAG-3 점수는 도 6C에서 플롯팅된다.

[0816] 추가적으로, IHC 분석을 DART-I의 단일 용량 이후 완전한 반응을 나타내는 DLBCL 환자 (CD19-표적화된 CAR T-세포 재발 이후)로부터 얻은 생검에서 수행하였다. CAR T-세포 치료 (사전 DART-I 치료) 전과 후의 림프절 생검 샘플을 HALO® 이미지 분석 플랫폼을 사용하여 멀티플렉스(multiplex) IF (형광) 염색에 의해 CD3 (T-세포 마커), CD79a (B-세포 마커) 및 PD-1 및 LAG-3의 발현에 대해 평가하였다. DAPI 염색을 사용하여 전체 세포 수 및 각각의 마커에 대해 양성인 세포의 수를 결정하였다. 단일, 이중 및 삼중 양성 세포의 수는 DAPI 염색된 세포의 퍼센트로서 표 13에서 제공되고 PD-1 및/또는 LAG-3 및/또는 CD3에 대해 양성인 세포의 수가 CAR T-세포 치료 후 훨씬 더 높았다는 것을 나타낸다. 이 분석에서 검사된 생검에서 관찰된 LAG-3의 발현이 가장 높았다.

표 13

| 표 13 : 단일, 이중, 및 삼중 양성 세포의 요약   |               |               |
|---------------------------------|---------------|---------------|
| 염색                              | CAR T 전 세포    | CAR T 후 세포    |
|                                 | 전체 DAPI 세포의 % | 전체 DAPI 세포의 % |
| PD-1+ve 세포                      | 0.1           | 34.0          |
| LAG-3+ve 세포                     | 0.0           | 26.7          |
| CD3+ve 세포                       | 0.0           | 51.9          |
| CD79a+ve 세포                     | 12.5          | 11.3          |
| 이중 PD-1+ve/LAG-3+ve 세포          | 0.0           | 19.2          |
| 이중 PD-1+ve/CD3+ve 세포            | 0.0           | 28.6          |
| 이중 PD-1+ve/CD79a+ve 세포          | 0.05          | 7.1           |
| 이중 LAG-3+ve/CD3+ve 세포           | 0.0           | 21.2          |
| 이중 LAG-3+ve/CD79a+ve 세포         | 0.0           | 5.1           |
| 이중 CD3+ve/CD79a+ve 세포           | 0.003         | 7.9           |
| 삼중 CD3+ve/LAG-3+ve/PD-1+ve 세포   | 0.0           | 16.7          |
| 삼중 CD79a+ve/PD-1+ve/LAG-3+ve 세포 | 0.0           | 4.5           |

[0817]

[0818] DLBCL 확장 코호트로부터 이용 가능한 추가적인 전처리 생검 (N = 11)을 근본적으로 상기 기재된 바와 같이 IHC에 의해 LAG-3 및 PD-L1 발현에 대해 분석하였다. 결과는 도 6D 및 6E에 나타나있다. 도 6D는 오른쪽에 표시된 LAG-3 발현 범위 당 반응자와 함께 개개의 환자의 LAG-3 발현의 순서를 높은 것에서 낮은 것으로 플롯팅한다. 이에 더하여, PD-L1 점수 (CPS)는 플롯 아래 상자에 표시된다. 도 6E는 LAG-3 발현을 객관적인 반응으로 플롯팅한다. 이들 결과에서 LAG-3의 더 높은 베이스라인 수준을 나타내는 DLBCL 환자는 개선된 반응을 나타내는 것으로 보인다.

[0819] 14개의 면역 세포 유형 및 EOC (N= 14), NSCLC (N= 25, 사전 체크포인트 처리 후를 포함 (P-NSCLC)) 및 TNBC (N=13) 확장 코호트로부터의 기록 생검으로부터의 32개의 면역항암제 시그니처(signature)를 포함하는, 유전자 발현에 대한 정보를 얻기 위해 NanoString PanCancer IO 360™ 검정을 사용하였다. LAG-3 vs PD-1 (PDCD1) 발

현은 도 7에서 플롯팅되고, 반응하는 환자가 LAG-3 및 PD-1 발현 둘 다의 더 높은 수준을 나타낸다는 것을 보여 준다 (점선 원으로 표시됨). IFN- $\gamma$  유전자 시그니처 (CXCL9, CXCL10, CXCL11, STAT1) 점수를 임상 반응에 의해 플롯팅하고 도 8에서 되고 부분적 반응을 나타내는 환자가 더 높은 IFN- $\gamma$  유전자 시그니처 점수를 나타낸다는 것을 보여준다. 이들 연구는 객관적인 반응이 높은 베이스라인 LAG-3/PD-1 발현 및 IFN- $\gamma$  유전자 시그니처 점수와 관련이 있다는 것을 나타낸다.

[0820] 이들 데이터는 PD-1 및 LAG-3를 대등하게 차단하도록 디자인된 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 (DART-I에 의해 예시됨)가 허용 가능한 안전성 프로파일을 입증하고, 특히 더 높은 수준의 LAG-3 발현을 나타내는 종양 및 더 높은 IFN- $\gamma$  유전자 시그니처 점수를 갖는 것들을 갖는 환자에서 항종양 활성의 유망한 증거를 나타낸다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 이러한 분자 (및 특히 DART-I)에 대한 여러 주입 양생법을 지지하며 다음의 투여를 포함한다: 약 400 mg 이상의 이러한 분자 (및 특히 DART-I) Q2W (특히 약 400 mg Q2W 또는 약 600 mg Q2W), 및 23  $\mu\text{g/mL}$  이상의 표적 C<sub>트로프</sub>를 달성하기 위해 약 600 mg 이상의 이러한 분자 (및 특히 DART-I) Q3W (특히 약 600 mg Q3W 또는 약 800 mg Q3W). 다안의 주입 양생법은 다음을 포함한다: 100 x RO EC<sub>50</sub> 이상의 표적 C<sub>트로프</sub>를 달성하기 위해 약 120 mg 이상의 이러한 분자 Q2W. 이들 연구는 HER2 발현 (HER2+) 암의 치료를 위해 TA-결합 분자, 및 특히 HER2-결합 분자 (예를 들어, 항-HER2 항체)와 조합으로 상기 용량 및 양생법에 따라 본 발명의 PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자를 투여하는 것을 더 지지한다. 특히, Q3W 양생법을 사용하여 투여될 수 있는 TA-결합 분자, 예컨대 HER2-결합 분자 (예를 들어, 15 mg/kg Q3W 투여된 마르케특시맵)와 조합으로 Q3W 양생법을 사용하여 600 mg 이상의 이러한 분자 (및 특히 DART-I)를 투여하는 것.

[0821] 실시예 2

[0822] 체크포인트 발현 및 NK 세포 활성의 TA-결합 분자 매개된 변화

[0823] 면역 효과기 세포, 특히 NK 세포의 표면 상에서 체크포인트 분자의 발현의 변화를 매개할 수 있는 ADCC-향상된 Fc 도메인 및 야생형 Fc 도메인을 포함하는 TA-결합 분자의 능력을 시험관 내에서 평가하였다. 이에 더하여, 시험관 내 세포독성 활성 (특히 NK 세포 세포독성 활성)에 대한 영향을 검사하였다. 간략히 말하면, PBMC 효과기 세포 (0.5 x 10<sup>6</sup>/ml)를 마르케특시맵 (HER2의 에피토프에 결합하고 ADCC-향상된 Fc 도메인, 즉, ADCC-향상된 TA-결합 분자를 포함하는 TA-결합 분자), 트라스투주맵의 레플리카(replica) (HER2의 동일한 에피토프에 결합하지만 야생형 Fc 도메인을 포함하는 "르트라스투주맵"), 또는 PBS (포스페이트-완충된 식염수) 단독의 존재시 TA HER2 (HER2<sup>+++</sup> 위암 세포주)에 대해 양성인 N87 표적 세포 (0.05 x 10<sup>6</sup>/ml)와 동시-인큐베이션되었다 (E:T 비는 10:1이다). 항체는 0.005  $\mu\text{g/ml}$  및 0.05  $\mu\text{g/ml}$ 로 사용되고 20 u/ml IL-2를 배양물에 추가하였다. 10% FBS, 10mM HEPEs 완충액, 및 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 L-글루타민이 들어있는 RPMI 1640 배지를 배양 배지로 사용하였다.

[0824] 제3 일에 각각의 샘플의 일부를 제거하고 NK 세포 상에서 체크포인트 단백질, CD137, LAG-3, PD-1, 및 PD-L1의 세포 표면 발현을 형광 활성화된 세포 분류 (FACS)에 의해 검사하였다. 다음 Ab를 사용하여 면역 세포 부분집합 및 세포 표면 체크포인트 단백질의 발현을 정의하였다: CD3-V500, CD4-PerCP Cy5.5, CD8-FITC, CD56-PE, Lag-3-PE-Cy7, PDL-1-APC, CD137-BV421, PD-1-BV650. FACS 완충액에서 4°C에서 30분 동안 Ab의 카테일과 함께 인큐베이션한 후 이어서, PBS로 세척한 다음, 라벨링된 세포를 FACS 완충액에 재현탁하여 세포 표면 염색을 수행하였다. FACS 샘플을 LSRFortessa 유동세포 분석기를 사용하여 획득하고 FlowJo 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 대표적인 FACS 플롯은 도 11에 나타나있으며 체크포인트 양성 NK 세포는 박스로 둘러싸여 있고 퍼센트가 표시된다. 도 11에서 볼 수 있는 바와 같이, 마르케특시맵은 CD137, LAG-3 및 PD-L1의 발현을 르트라스투주맵보다 더 큰 정도로 상향조절하였다.

[0825] 제6 일에 나머지 샘플의 일부를 0.3:1, 1:1, 3:1 및 10:1의 E:T 비에서 표적 세포로서 PKH26 빨간색 라벨링된 K562 세포 (HER2-, 골수성 백혈병 세포주)를 사용하는 세포독성 검정을 위해 효과기 세포를 공급하는데 사용하였다. 4시간 인큐베이션 후, 세포를 수거하고 세포독성을 제조사의 지시에 따라 살아있는 세포, 아포토시스성 (apoptotic) 세포, 및 죽은 세포를 구별하기 위한 마커로서 7-AAD 및 Annexin V의 FACS 분석에 의해 결정하였다. 각각의 E:T 비에서 관찰된 퍼센트 세포독성은 도 12에서 플롯팅된다. K562 표적 세포가 HER2를 발현하지 않기 때문에 이 검정에서 살해는 K562 표적 세포로의 항-HER2 항체의 결합에 의해 직접적으로 매개되지 않지만, 대신에 TA 양성 표적 세포의 존재시 항-HER2 항체의 사전 노출에 의해 매개되는 세포독성 활성 (주로 NK 세포)의 향상을 반영한다. 도 12에서 나타난 바와 같이, 마르케특시맵은 르트라스투주맵과 비교하여 NK 세포 세포독성 활성의 더 강력한 향상을 매개한다. 이들 결과는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함하는 TA-결합 분자가

PD-L1 및 LAG-3 발현, 및 세포독성 활성 (주로 NK 세포)의 더 강력한 매개자임을 나타낸다.

[0826] 추가적인 면역 세포 유형의 표면 상에서 체크포인트 분자의 발현의 변화를 매개하는 ADCC-향상된 TA-결합 분자의 능력을 검사하였다. 간략히 말하면, PBMC 효과기 세포 ( $1.5 \times 10^6$ /ml)를 마르케톡시맵 (0.5  $\mu$ g/ml), 또는 대조군 항체 (MGAWN1, 0.5  $\mu$ g/ml)의 존재시 15:1 E:T 비에서 N87 표적 세포 (HER2<sup>+++</sup> 위암 세포주)와 함께 동시-인큐베이션하였다. 10% FBS, 10mM HEPES 완충액, 및 페니실린-스트렙토마이신이 보충되고 L-글루타민이 들어 있는 RPMI 1640 배지를 배양 배지로서 사용하였다. 제2 일 및 제3 일에 NK 세포 (제3 일), 단핵구 (제2 일), CD4<sup>+</sup> (제3 일), 및 CD8<sup>+</sup> T 세포 (제3 일)에서 체크포인트 단백질, CD137, LAG-3, PD-1, 및 PD-L1의 세포 표면 발현을 FACS로 검사하였다. 다음 항체 (Ab)를 면역 세포 부분집합 및 세포 표면 체크포인트 단백질의 발현을 정의하는데 사용하였다: CD3-V500, CD4-PerCP Cy5.5, CD8-FITC, CD14-FITC, CD56-PE, Lag-3-PE-Cy7, PDL-1-APC, CD137-BV421, PD-1-BV650. FACS 완충액에서 세포를 4°C에서 30분 동안 Ab의 각테일과 함께 인큐베이션한 후 이어서, PBS로 세척한 다음 라벨링된 세포를 FACS 완충액에 재현탁하여 세포 표면 염색을 수행하였다. FACS 샘플을 LSRFortessa 유동세포 분석기를 사용하여 획득하고 FlowJo 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 대표적인 FACS 플롯은 도 13에 나타나 있으며 체크포인트 양성 면역 세포는 박스로 둘러싸여 있고 퍼센트가 표시된다. 도 13에서 알 수 있는 바와 같이 ADCC-향상된 TA-결합 분자 마르케톡시맵은 검사된 모든 세포 유형에서 LAG-3 및 PD-L1 발현의 상향조절을 매개하며, 가장 두드러진 상향조절은 단핵구, NK-세포 및 CD8 T-세포에서 관찰되었다. CD137은 NK에서 상향조절되었고, PD-1은 CD4<sup>+</sup>, 및 CD8<sup>+</sup> T 세포 둘 다에서 상향조절되었다.

[0827] 실시예 3

[0828] 시험관 내 조합 연구

[0829] 상기 기재된 바와 같이, TA-결합 분자, 일반적으로, 및 특히 ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 것들은 체크포인트 분자 PD-L1 및 LAG-3의 상향조절을 강력하게 매개하는 것으로 발견되었다. LAG-3 및/또는 PD-1/PD-L1 억제 체크포인트 경로를 차단하는 체크포인트 억제자와 조합된 TA-결합 분자의 활성을 시험관 내에서 검사하였다. 간략히 말하면, PBMC 효과기 세포 ( $0.5 \times 10^6$ /ml)를 단독으로 TA-결합 분자 마르케톡시맵 (ADCC-향상된 Fc 도메인을 포함함), 또는 르트라스트주맵 (야생형 Fc 도메인), 대조군 항체 (MGAWN1, 야생형 인간 IgG1 Fc 도메인을 포함하는 항-WNV mAb), 또는 PBS의 존재시, 또는 레티판리맵 (PD-1-결합 분자), DART-I (PD-1 및 LAG-3 둘다에 결합하는 이중특이적 분자)와 조합으로 20:1 비에서 N87 표적 세포 (HER2<sup>+++</sup> 위암 세포주)와 함께 동시-인큐베이션하였다. 외인성 IL-2 (20 u/ml)가 있거나 없이 (최적 및 부최적의 조건을 나타냄) 검정을 실행하였다. 항-HER2 항체를 0.005 mg/ml 및/또는 0.05 mg/ml로 사용하여, 항-PD-1 항체 레티판리맵을 5  $\mu$ g/ml로 사용하고, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자 DART-I를 5  $\mu$ g/ml로 사용하였다. 제6 일에, 세포를 효과기로서 수거하고 K562 표적 세포 (E:T=10:1)에 대한 세포독성을, 근본적으로 상기 기재된 바와 같이, 살아있는 세포, 아포토시스성 세포, 및 죽은 세포를 구별하기 위한 마커로서 7-AAD 및 Annexin V를 사용하여 FACs에 의해 결정하였다. 대표적인 공여자로부터 부최적의 조건에 대해 관찰된 퍼센트 독성은 도 14에서 플롯팅된다.

[0830] 도 14에서 나타난 바와 같이, 이 검정에서 세포독성의 최소한의 향상이 PD-1 체크포인트 억제자, 레티판리맵, 또는 PD-1 x LAG-3 이중 체크포인트 억제자 DART-I와 조합된 르트라스트주맵으로 관찰되었다. 그에 반해, PD-1 x LAG-3 이중 체크포인트 억제자 DART-I는 ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 TA-결합 분자, 마르케톡시맵과 조합으로 세포독성을 향상시켰다. 일부 공여자에서, PD-1 체크포인트 억제자, 레티판리맵이 또한 마르케톡시맵의 세포독성을 향상시키는 것으로 나타났다.

[0831] 또 다른 연구에서, 단독으로 또는 PD-1 x LAG-3 이중 체크포인트 억제자 DART-I와 조합된 ADCC-향상된 TA-결합 분자 마르케톡시맵의 활성을 더 검사하였다. 간략히 말하면, 단독으로, 또는 DART-I (5  $\mu$ g/ml)와 조합된 TA-결합 분자 마르케톡시맵 (0.005  $\mu$ g/ml), 또는 대조군 항체 (MGAWN1, 0.005  $\mu$ g/ml)의 존재시 PBMC 효과기 세포 ( $1 \times 10^6$ /ml)를 15:1 비에서 N87 표적 세포 (HER2<sup>+++</sup> 위암 세포주)와 동시-인큐베이션하였다. 외인성 IL-2 (20 u/ml)가 있거나 없이 (최적 및 부최적의 조건을 나타냄) 검정을 실행하였다. 제7 일에, 세포를 효과기로서 수거하고 PKH26 빨간색 라벨링된 K562 표적 세포 (E:T=10:1)에 대한 세포독성을 제조사의 지시에 따라 살아있는 세포, 아포토시스성 세포, 및 죽은 세포를 구별하기 위한 마커로서 7-AAD 및 Annexin V를 사용하여 FACs에 의해 결정하였다. 루시퍼라제를 발현하는 N87 세포 (E:T=3:1)에 대한 세포독성을 Steady-Glo Luciferase Assay System (Promega)을 사용하여 나머지 세포 루시퍼라제 활성을 평가하여 결정하였다. 대표적인 공여자로부터 부최적의 조건에 대해 관찰된 퍼센트 세포독성을 도 15에서 플롯팅하였다. 도 15에서 나타나 바와 같이, ADCC-향

상된 TA-결합 분자 마르케특시맵으로 조절되는 PBMC는 대조군 Ab로 조절되는 PBMC와 비교하여 마르케특시맵으로 옹소닌화된(opsonized) K562 및 HER2<sup>+++</sup> N87 세포 둘 다에 대해 더 높은 세포독성 활성 (주로 NK 세포)을 나타낸다. 상기에서 알 수 있는 바와 같이, PD-1 x LAG-3 이중특이적 분자, DART-I는 ADCC-향상된 TA-결합 분자 마르케특시맵과 조합으로 세포독성을 향상시킨다. 종합해보면 이들 연구는 PD/PD-L1 및 LAG-3 체크포인트 경로의 이중 체크포인트 억제제 TA-결합 분자 (특히 향상된 ADCC 활성을 가진 것)의 항-종양 활성과 시너지 작용할 수 있다는 것을 나타낸다.

[0832] 실시예 4

[0833] 단계 I 임상 연구 - HER2+ 아암

[0834] 상기 기재된 바와 같이, 진행 중인 진행성 또는 전이성 HER2+ 고체 종양 (특히 HER2+ 위암 또는 유방암)에 걸린 환자의 단계 I 임상 연구 코호트에서, 환자는 DART-I (PD-1 및 LAG-3에 결합하는 이중특이적 분자) 및 마르케특시맵 (HER2에 결합하고 ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 TA-결합 분자)을 받았다.

[0835] HER2+ 고체 종양에 걸린 28명의 평가 가능한 환자 (상기 기재된 처음 5명의 환자 포함)에서의 임상 결과는 도 16에서 요약되어 있다. 객관적인 반응률 (ORR) (객관적인 반응이 확인되지 않은 환자 포함)은 28.6% (8/28)였으며, 질환 대조군 비율은 50% (14/28)였다. 표 14는 이들 환자들 사이에서 암 유형에 의한 반응률을 요약한다. 28.65%의 ORR을 PANACEA 연구 (Loi, et al. 2019 Lancet Oncol. Mar;20(3):371-382. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30812-X.)와 비교하였으며 단일 아암, 다중심 Ph에서 11.5%의 ORR (n=52)이 보고되었다. HER2+ mBC에서 팸블리주맵 + 트라스투주맵의 1b/2 시험 (PD-L1 양성에서 15% ORR (n=6/40); 및 PD-L1 음성에서 0% ORR (n=0/12)). 치료는 요법이 계속되고 있는 반응하는 환자와 잘 용인되고 HER2+ 종양-특이적 코호트에 추가의 등록이 진행 중이다.

표 14

| 표 14: 반응률의 요약 (28 명의 평가 가능한 환자) - 조합 요법 |             |             |           |             |              |
|---|-------------|-------------|-----------|-------------|--------------|
|   | 유방          | GEJ 식도      | 결장직장      | 기타          | 합계           |
| 평가 가능한 환자                               | 9           | 7           | 4         | 8           | 28           |
| ORR (확인됨)                               | 22.2% (2/9) | 14.3% (1/7) | 50% (2/4) | 12.5% (1/8) | 21.4% (6/28) |
| ORR (확인됨 + 확인되지 않음)                     | 22.2% (2/9) | 28.6% (2/7) | 50% (2/4) | 25% (2/8)   | 28.6% (8/28) |
| 질환 대조군 비율                               | 44.4% (4/9) | 57.1% (4/7) | 50% (2/4) | 50% (4/8)   | 50% (14/28)  |

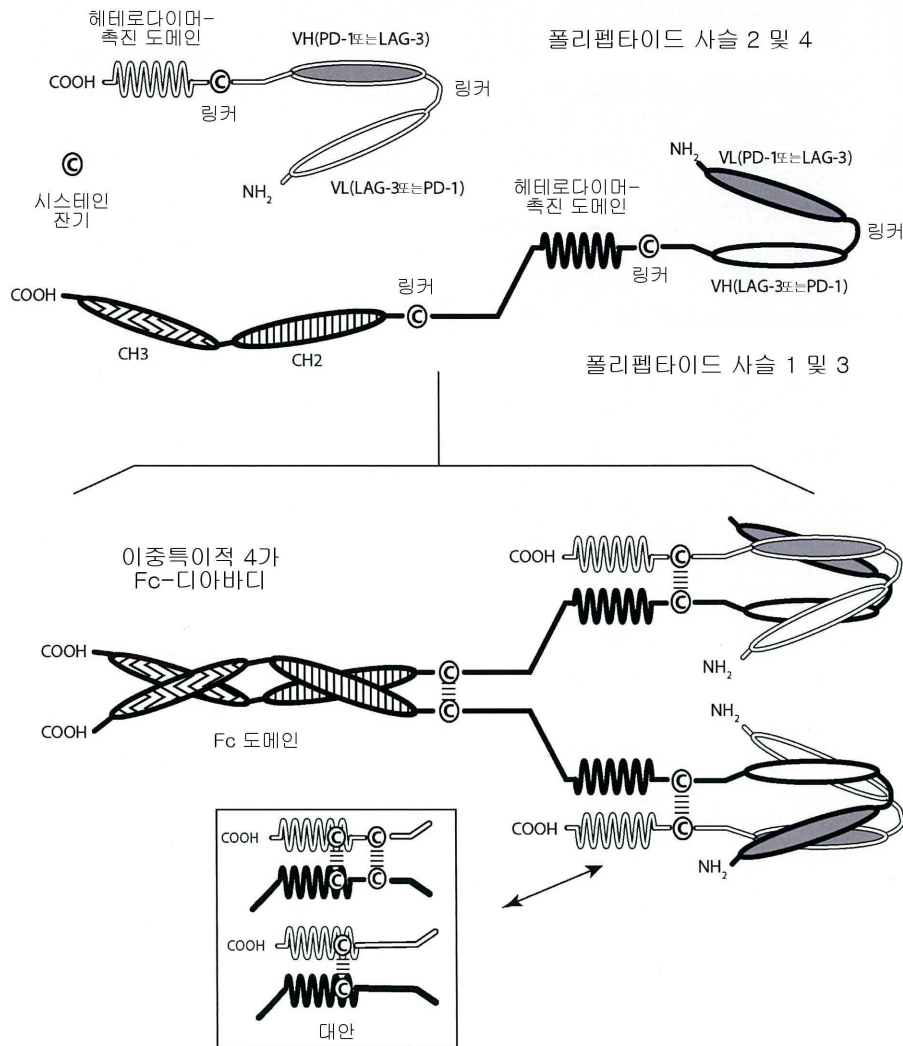
[0836]

[0837] 이용 가능한 전처리 종양 생검 샘플을 LAG-3 발현 및 PD-L1 발현 둘 다에 대해 평가하였다. 간략히 말하면, LAG-3 발현을 Ventana Discovery Ultra 플랫폼 상에서 LAG-3 Ab 클론 EPR4392(2) (Abcam) IHC 검정을 사용하여 검사하였다. 양성은 40x 배율 핫 스팟 필드 (HSF) 당 적어도 하나의 LAG-3+ve 종양-침윤 림프구 (TIL)로 정의되었다. Agilent PD-L1 (22C3) pharmDx 키트 설명서에 따라 PD-L1 TPS/CPS 발현을 결정하였다. IHC에 의한 LAG-3 발현은 환자들 사이에서 달라지고 반응과 관련이 있는 것으로 발견되지 않았다. 대부분의 반응 환자는 PD-L1 음성 (1 이하의 PD-L1 발현)인 종양을 가진다는 것이 IHC에 의해 관찰되었다. ADCC-향상된 Fc 도메인을 가진 TA-결합 분자와 조합으로 PD-1 및 LAG-3 이중 체크포인트 억제를 이용하는 이 조합 연구에서 PD-L1 음성 환자 사이에서 높은 반응률은 공개된 데이터와 대조적이다 (예를 들어, Loi, S. et al. (2019) "Pembrolizumab Plus Trastuzumab In Trastuzumab-Resistant, Advanced, HER2-positive Breast Cancer (PANACEA): a Single-Arm, Multicentre, Phase 1b-2 Trial," Lancet Oncol. 20(3):371-382 참조). 트라스투주맵 플러스 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체로 치료된 HER2+ 유방암 환자 사이에서 반응율이 PD-L1 음성 환자 사이에서 0%이고 PD-L1 양성 환자 사이에서는 단지 15%인 것을 나타낸다. 높은 반응은 아마도 PD/PD-L1 및 LAG-3 체크포인트 경로의 이중 체크포인트 억제를 가진 ADCC-향상된 TA-결합 분자의 조합의 시너지 활성을 반영한다.

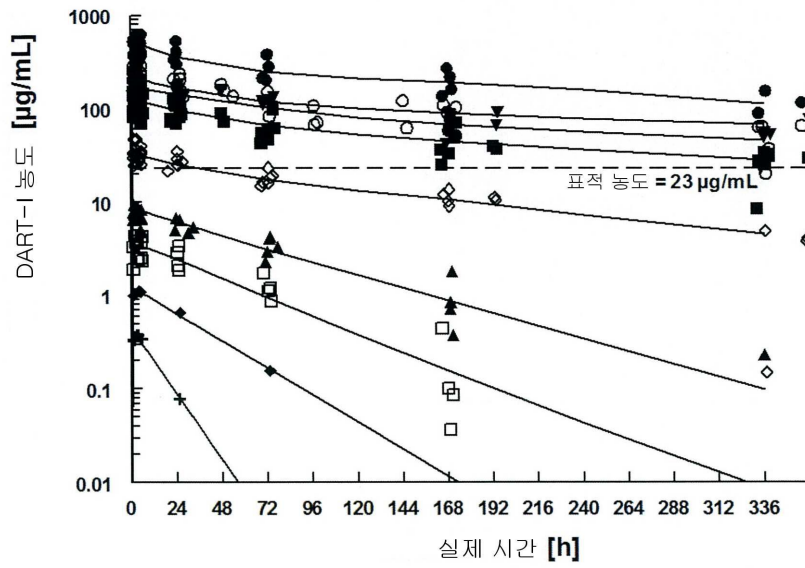
- [0838] NanoString PanCancer IO 360™ 검정을 마르케특시맵 및 DART-I로 치료된 19개의 HER2+ 진행성 고체 종양 코호트의 기록 생검으로부터의 유전자 발현에 대한 정보를 얻기 위해 사용하였으며, 14개의 면역 세포 유형 및 32개의 면역항암제 시그니처의 풍부함을 포함한다. LAG-3에 대한 일반화된 발현 점수 (0-100으로 표준화됨)를 PDCD1에 대해 플롯팅하였다 (도 17A). 표적 병변에서 베이스라인으로부터의 최고의 퍼센트 변화에 대한 표준화된 LAG-3 및 PDCD1 발현 수준의 연관성을 각각 도 17B, 및 17C에서 플롯팅하였다. 유전자 발현 분석은 객관적인 반응을 입증하는 환자가 베이스라인 생검 샘플에서 LAG-3 및 PDCD1 mRNA 둘 다의 더 높은 발현을 나타낸다는 것을 나타냈다.
- [0839] 이 임상 시험 코호트에서, ADCC-향상된 TA-결합 분자 마르케특시맵과 조합된 이중 체크포인트 억제자 DART-I는 일반적으로 DART-I 단일요법과 일치하는 안전성 프로파일을 잘 용인한다. HER2 종양 항원을 발현하는 다양한 종양 유형 (즉, HER2+ 종양)을 가진 난치성 환자 사이에서 항종양 활성의 증거가 관찰되었다. 베이스라인 LAG-3 및 PD-1 mRNA 발현은 임상 반응과 관련이 있지만, 대부분의 반응 환자 (ID)는 1 이하의 베이스라인 PD-L1 발현을 가진다 (IHC에 의해).
- [0840] 요약하면, DART-I와 같은 분자로 PD-1/PD-L1 및 LAG-3 체크포인트 경로의 이중 체크포인트 억제는 TA-결합 분자 (특히 마르케특시맵과 같이 향상된 ADCC 활성을 가진 것)의 항-종양 활성과 시너지 작용할 수 있다. 이러한 조합은 단독으로 또는 PD-1/PD-L1 경로만의 체크포인트 억제제와 조합된 TA-결합 분자로의 치료보다 더 효과적인 것으로 나타나고, PD-L1 음성 환자의 치료에 유용하다.
- [0841] 이 명세서에서 언급된 모든 간행물 및 특허는 각각의 간행물 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 그 전문이 참조로 포함되는 것으로 나타난 정도와 동일한 정도로 본원에 참조로 포함된다. 본 발명은 그것의 특이적인 구체예에 관하여 기재되었지만, 본 출원의 추가의 변형이 가능하다는 것이 이해될 것이며 본 출원은 일반적으로 본 발명의 원칙을 따르고 본 발명으로부터의 이러한 이탈을 포함하는 본 발명의 임의의 변화, 사용, 또는 적응을 포함하려는 의도이고 본 발명이 속한 분야 내에 공지된 또는 관습적인 관행의 범위 내에 있고 본원에서 제시된 근본적인 특징들에 적용될 수도 있다.

도면

도면1



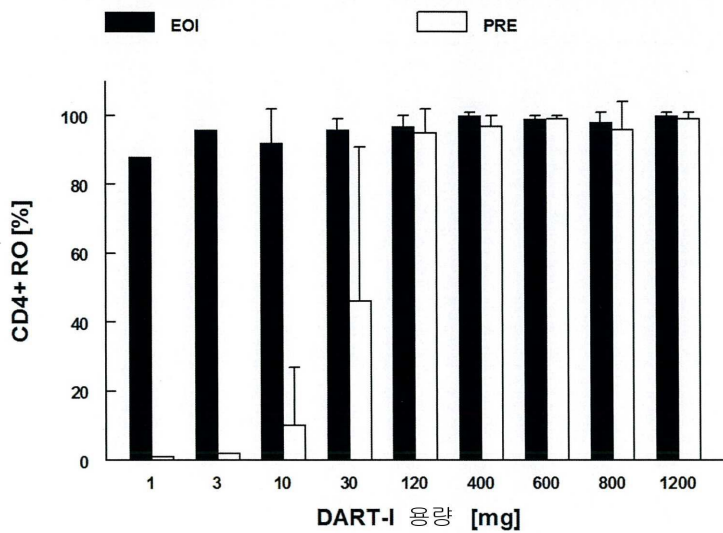
도면2



+ 1 MG (N=1); ◆ 3 MG (N=1); □ 10 MG (N=4); ▲ 30 MG (N=5);  
 ◇ 120 MG (N=6); ■ 400 MG (N=9); ○ 600 MG (N=8)  
 ▼ 800 MG (N=7); ● 1200 MG (N=4)

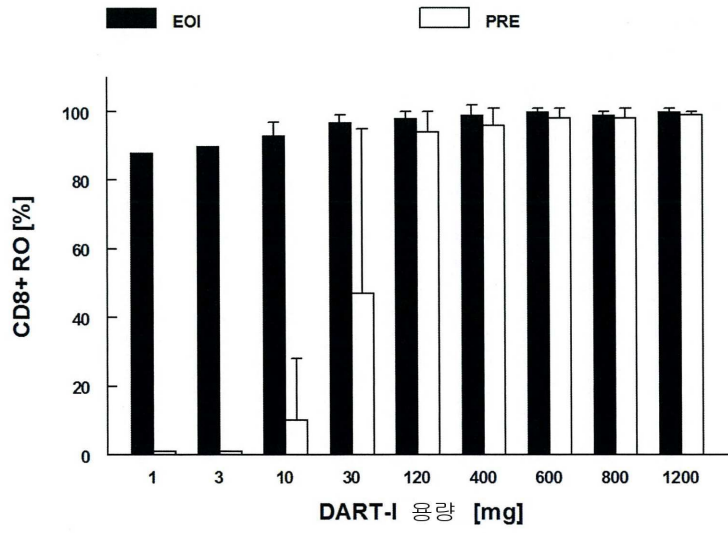
도면3a

주기 1 제1 일: 용량에 따른 CD4+ 수용체 점유율



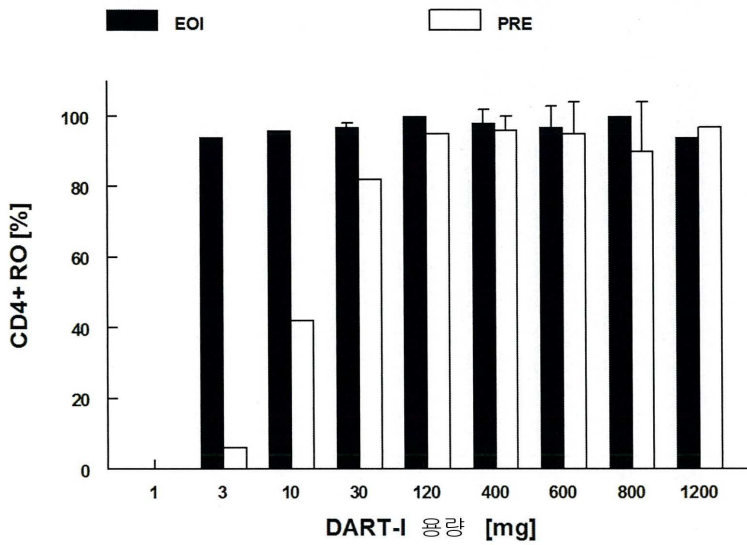
도면3b

주기 1 제1 일: 용량에 따른 CD8+ 수용체 점유율



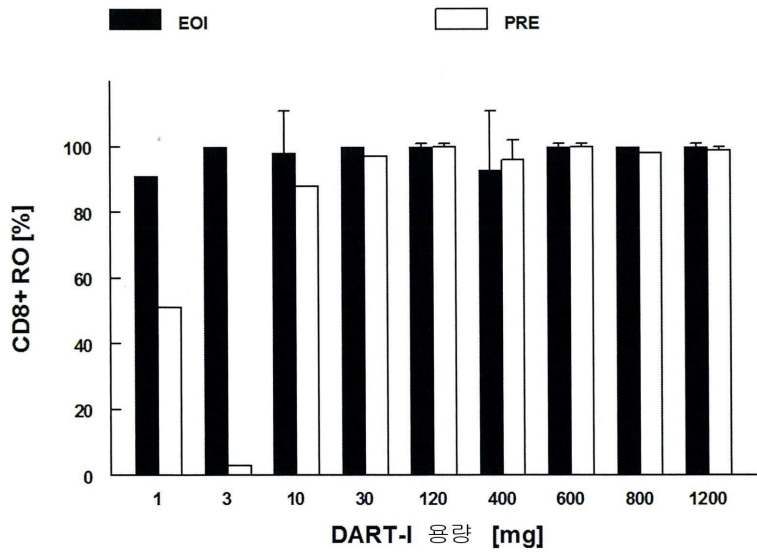
도면3c

주기 2 제1 일: 용량에 따른 CD4+ 수용체 점유율

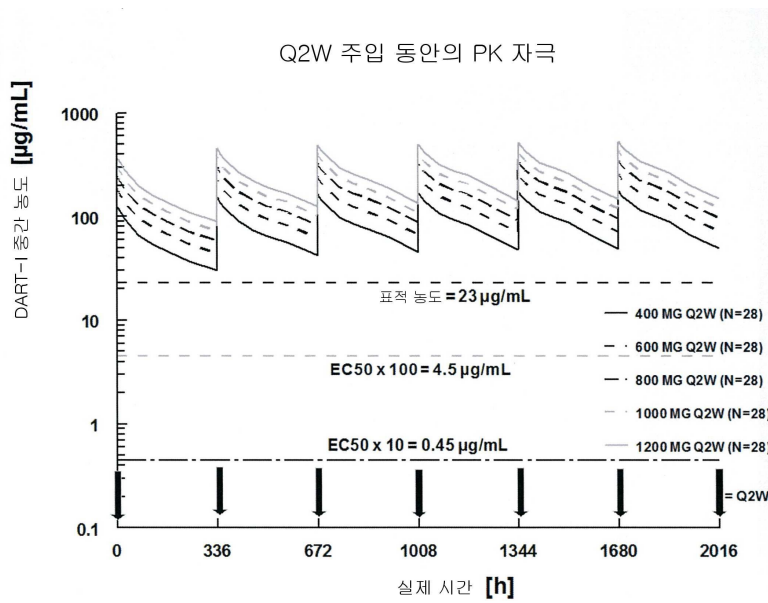


도면3d

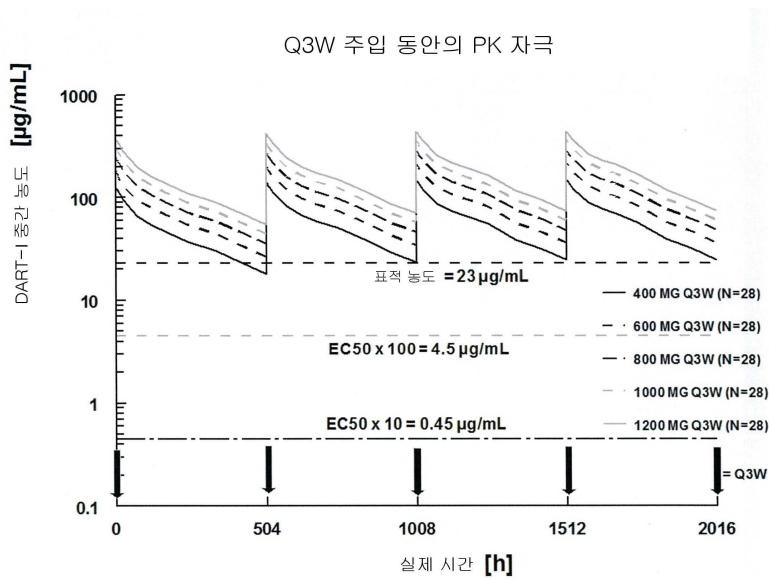
주기 2 제1 일: 용량에 따른 CD8+ 수용체 점유율



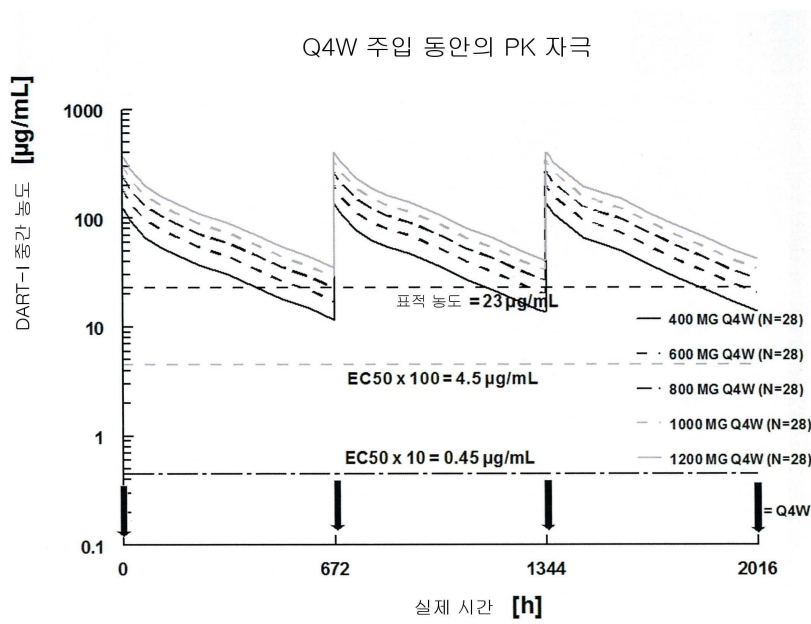
도면4a



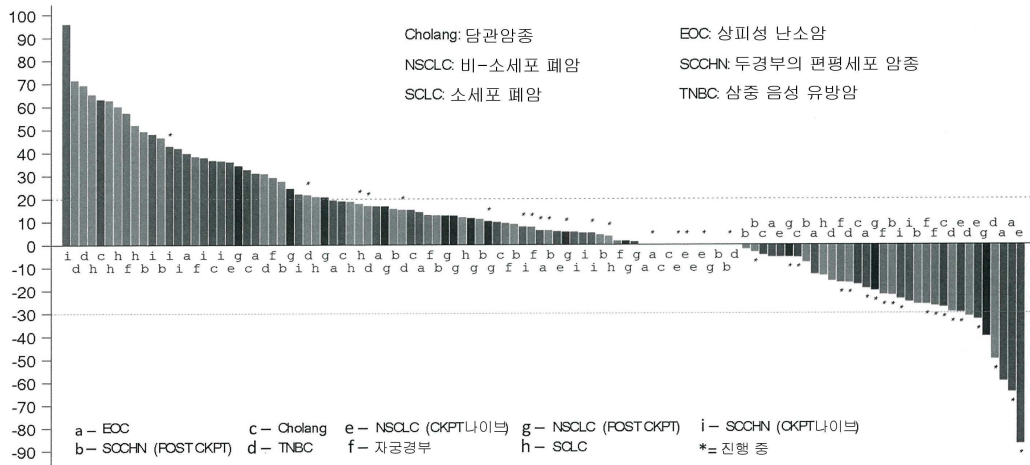
도면4b



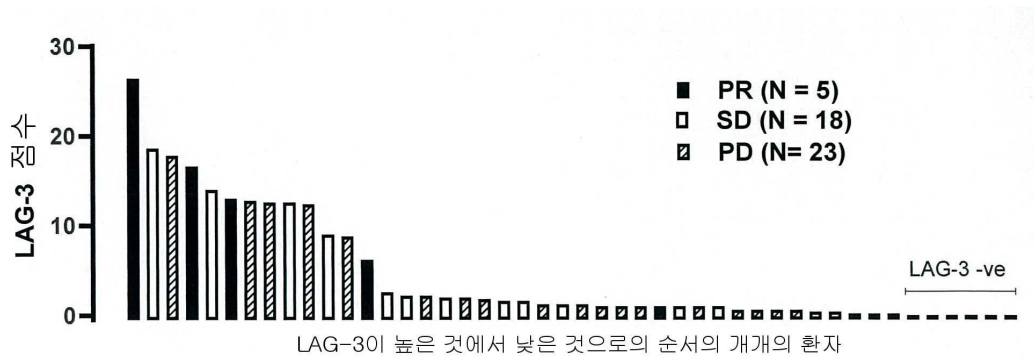
도면4c



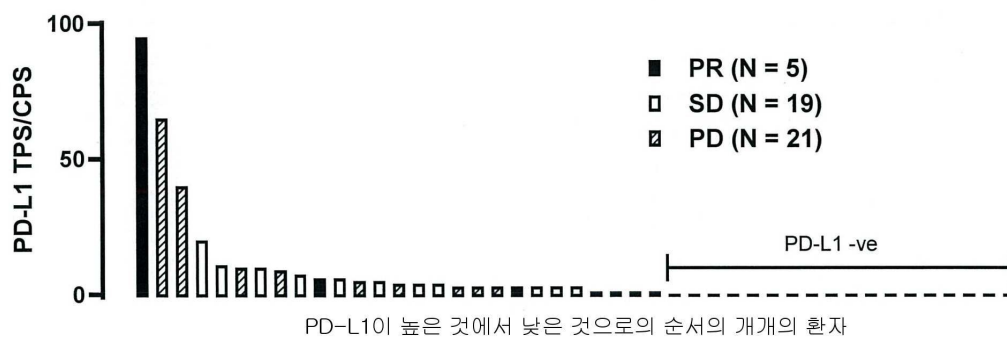
도면5



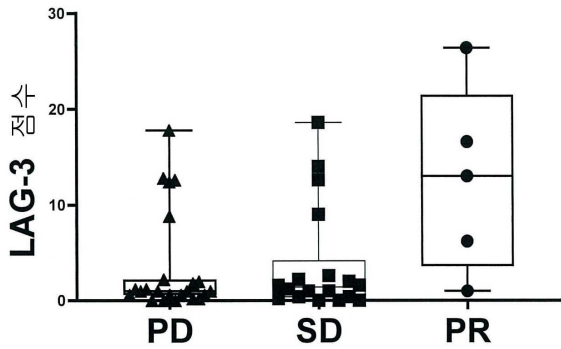
도면6a



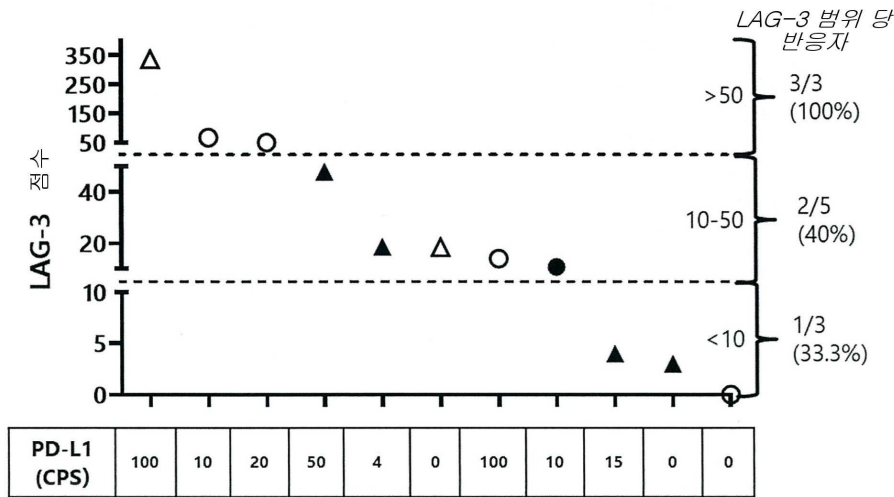
도면6b



도면6c

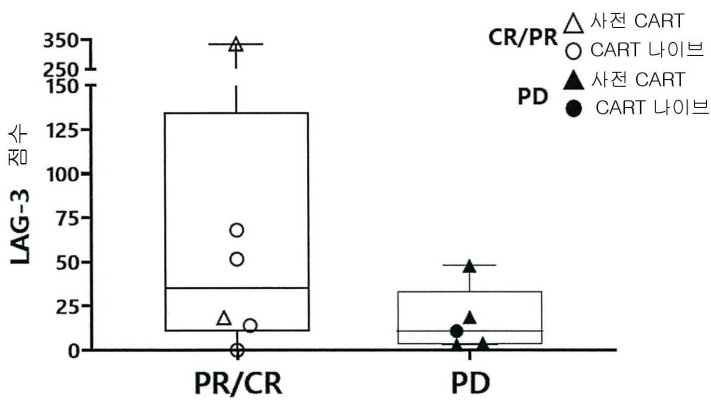


도면6d



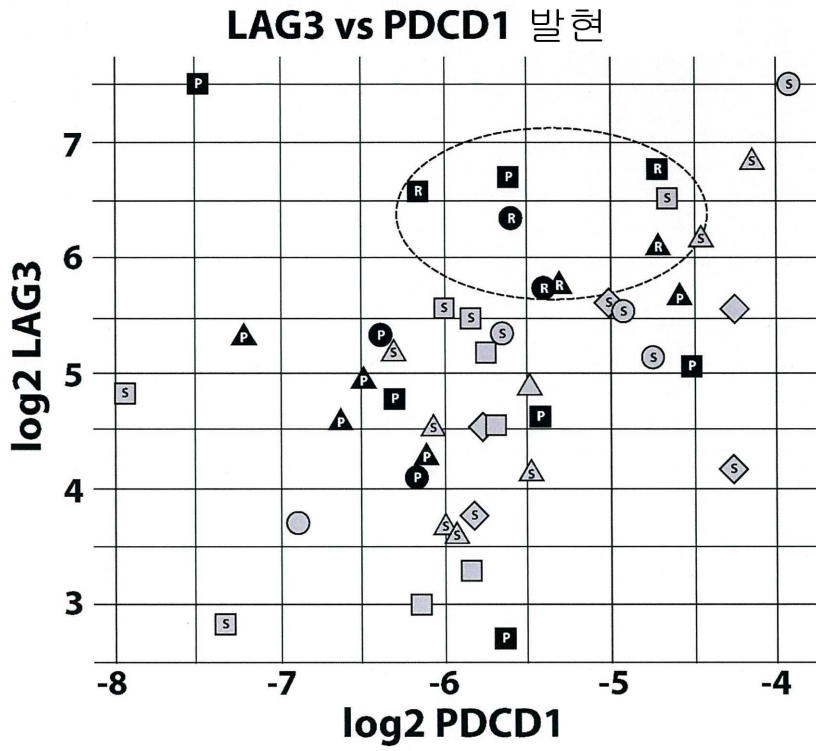
CR/PR  $\Delta$  사전 CART  
 O CART 나이브  
 PD  $\blacktriangle$  사전 CART  
 ● CART 나이브

도면6e

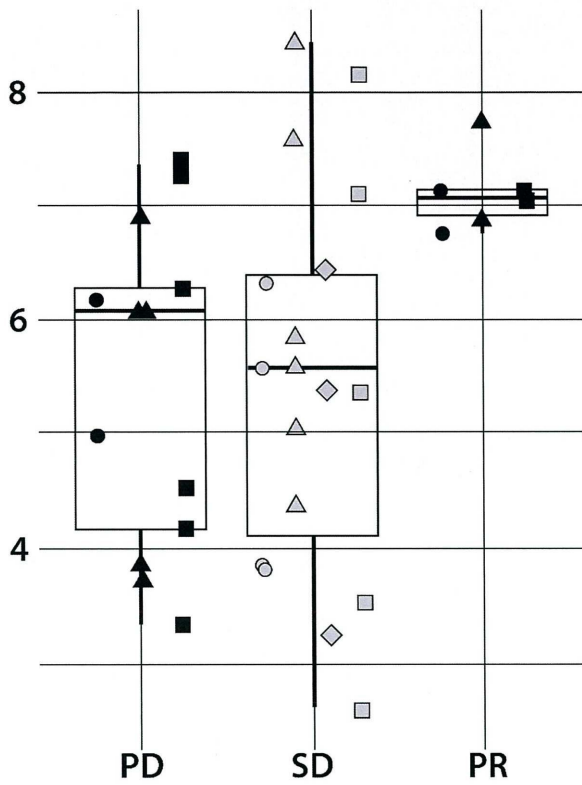


CR/PR  $\Delta$  사전 CART  
 O CART 나이브  
 PD  $\blacktriangle$  사전 CART  
 ● CART 나이브

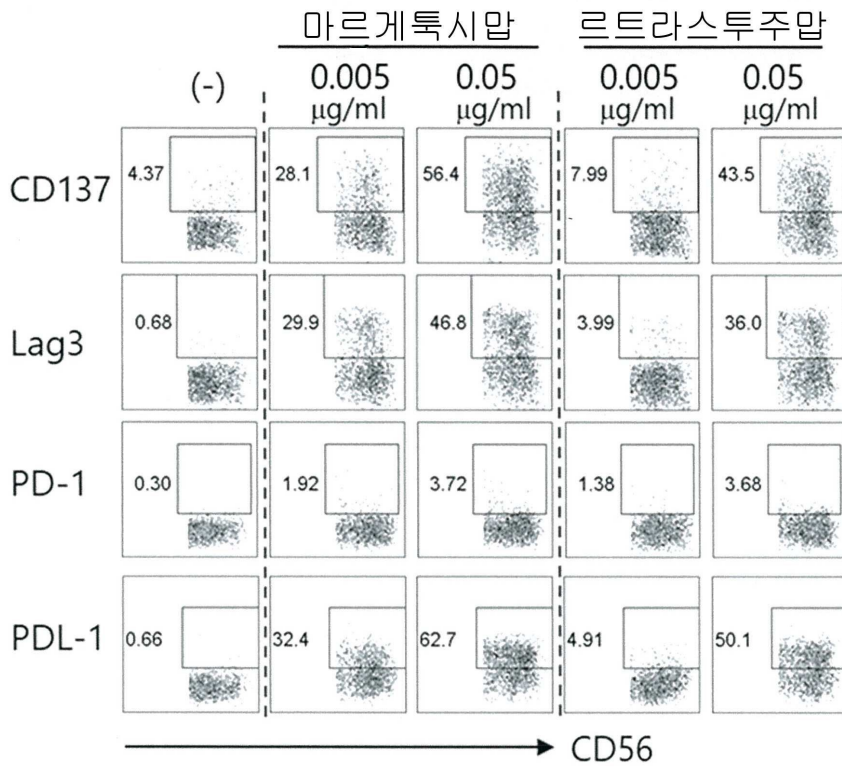
도면7



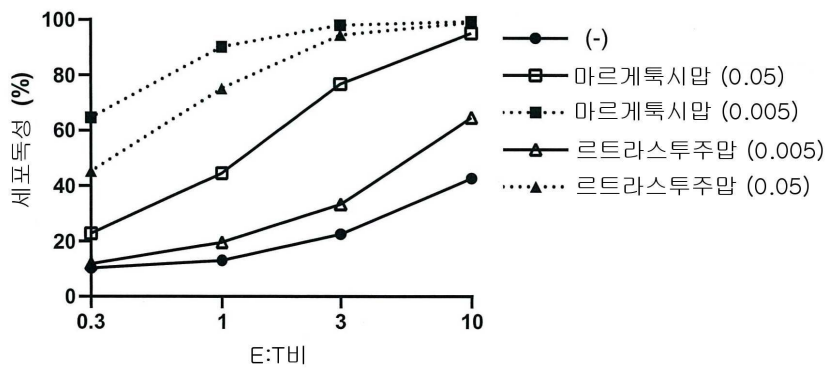
도면8



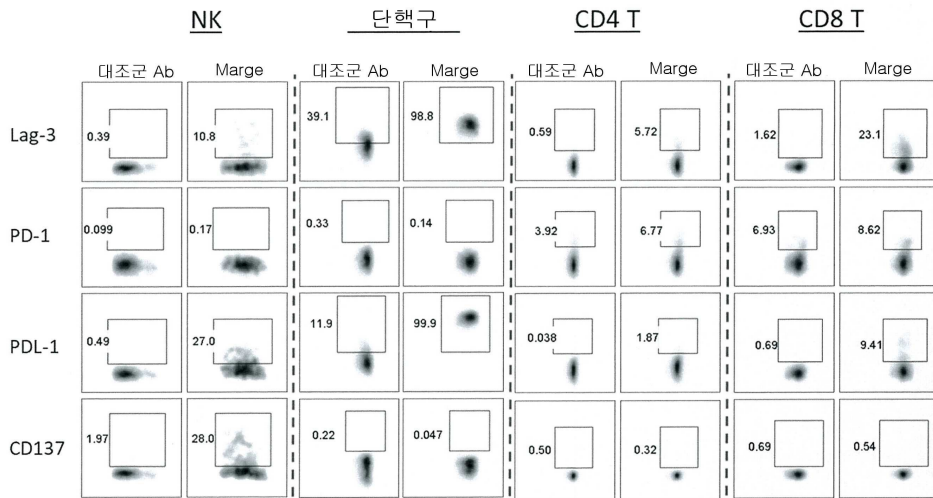
도면9



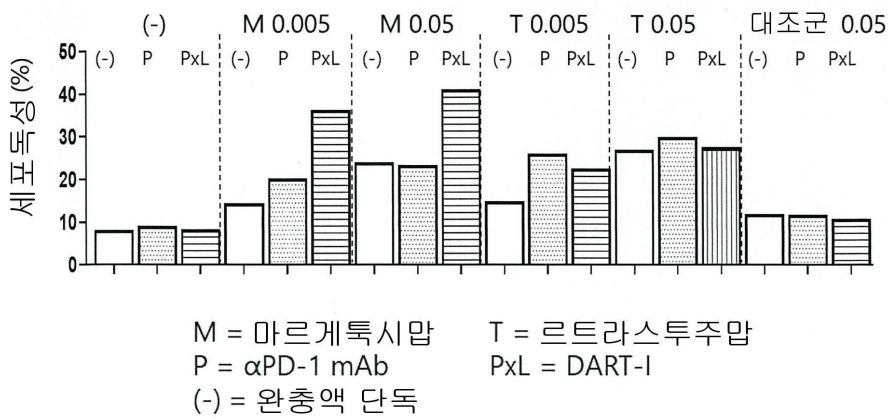
도면10



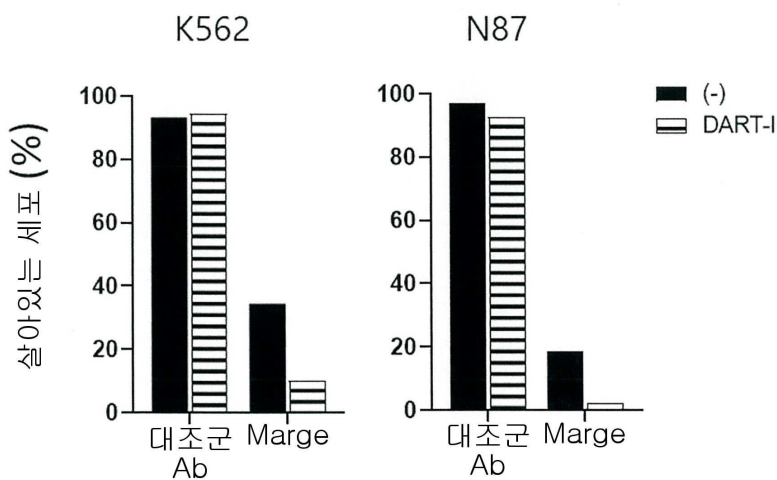
도면11



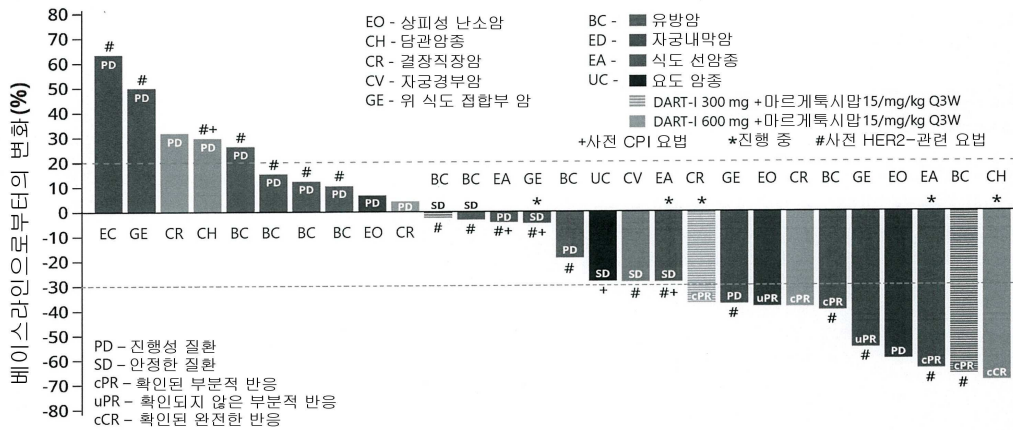
도면12



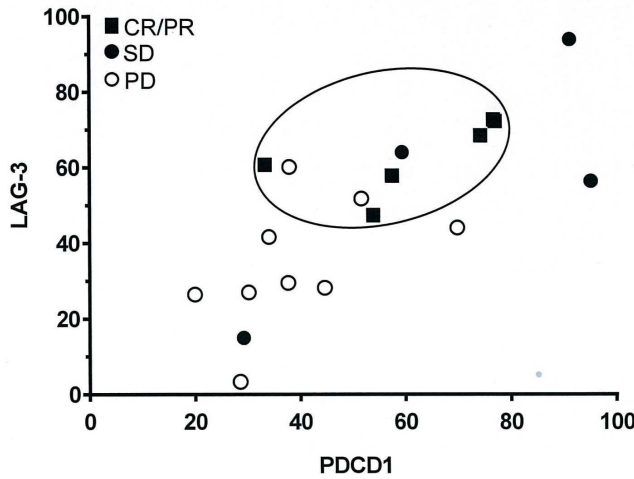
도면13



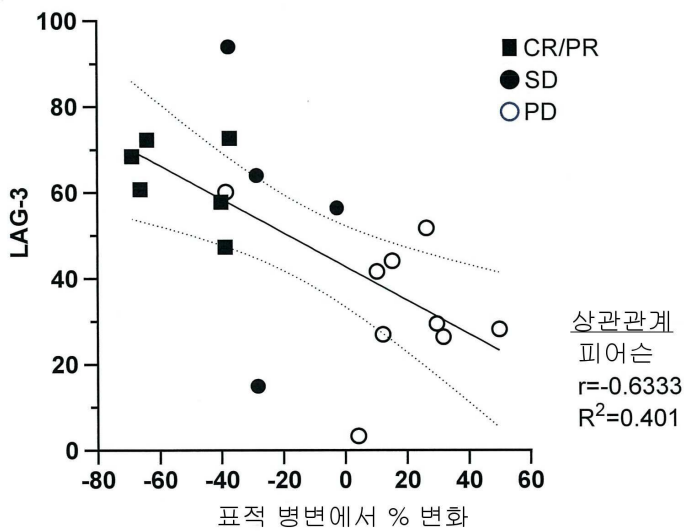
도면14



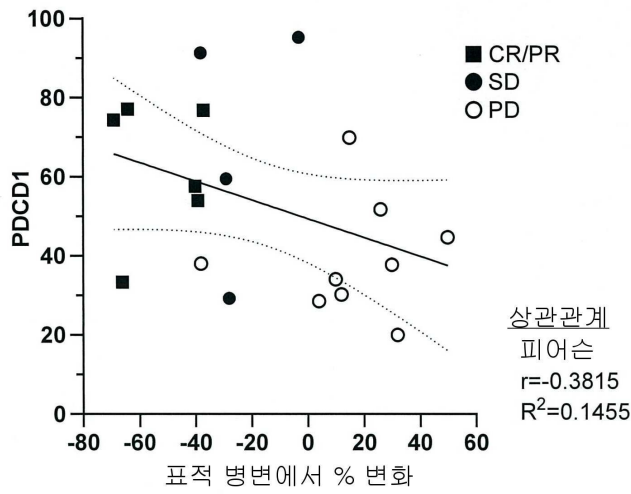
도면15a



도면15b



도면15c



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> MacroGenics, Inc.

Sumrow, Bradley

La Motte-Mohs, Ross

Wigginton, Jon

Bonvini, Ezio

Moore, Paul

Koenig, Scott

Zhang, Xiaoyu

<120> Therapy for the Treatment of Cancer

<130> 1301.166PCT

<150> US 63/123,581

<151> 2020-12-10

<150> US 63/031,453

<151> 2020-05-28

<150> US 63/021,556

<151> 2020-05-07

<150> US 63/019,857

<151> 2020-05-04

<150> US 62/952,878

<151> 2019-12-23

<150> US 62/952,859

<151> 2019-12-23

<160> 80

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(107)

<223> Representative Human CL Kappa Domain

<400> 1

```

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

<210> 2

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(104)

<223> Representative Human CL Lambda Domain

<400> 2

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu

1                    5                    10                    15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

                  50                    55                    60

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

65                    70                    75                    80

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

                  85                    90                    95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

                  100

<210> 3

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(98)

<223> Representative Human IgG1 CH1 Domain

<400> 3

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60



<222> (1)..(98)

<223> Representative Human IgG3 CH1 Domain

<400> 5

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

1                    5                    10                    15  
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

                  20                    25                    30  
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

                  35                    40                    45  
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

                  50                    55                    60  
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65                    70                    75                    80  
Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

                  85                    90                    95  
Arg Val

<210> 6

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(98)

<223> Representative Human IgG4 CH1 Domain

<400> 6

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

1                    5                    10                    15  
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

                  20                    25                    30  
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

                  35                    40                    45  
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

                  50                    55                    60  
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr



<223> Representative Human IgG3 Hinge Region

<400> 9

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys

1                    5                    10                    15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

                  20                    25                    30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu

                  35                    40                    45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

                  50                    55                    60

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(12)

<223> Representative Human IgG4 Hinge Region

<400> 10

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro

1                    5                    10

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Representative Human IgG4 Hinge Region Containing Stabilizing  
S228P Substitution

<400> 11

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1                    5                    10

<210> 12

<211> 217

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(217)

<223> Representative Human IgG1 CH2-CH3 Domain

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (217)..(217)

<223> Xaa is Lysine (K) or is Absent

<400> 12

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

                  35                    40                    45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

                  50                    55                    60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65                    70                    75                    80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

                  85                    90                    95

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

                  100                    105                    110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

                  115                    120                    125

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

                  130                    135                    140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145                    150                    155                    160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

                  165                    170                    175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

                  180                    185                    190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa  
 210 215

<210> 13  
 <211> 216  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(216)  
 <223> Representative Human IgG2 CH2-CH3 Domain  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (216)..(216)  
 <223> Xaa is Lysine (K) or is Absent

<400> 13

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 20 25 30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val  
 35 40 45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 50 55 60

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln  
 65 70 75 80

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly  
 85 90 95

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro  
 100 105 110

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr  
 115 120 125

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

130 135 140  
 Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 145 150 155 160  
 Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 165 170 175  
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 180 185 190

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 195 200 205  
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa  
 210 215

<210> 14

<211> 217

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(217)

<223> Representative Human IgG3 CH2-CH3 Domain

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (217)..(217)

<223> Xaa is Lysine (K) or is Absent

<400> 14

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

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

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
85 90 95  
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln  
100 105 110  
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
115 120 125  
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
130 135 140  
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
145 150 155 160  
Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
165 170 175  
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile  
180 185 190  
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln  
195 200 205  
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa  
210 215  
<210> 15  
<211> 217  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(217)  
<223> Representative Human IgG4 CH2-CH3 Domain  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (217)..(217)  
<223> Xaa is Lysine (K) or is Absent  
<400> 15  
Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
1 5 10 15  
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val



<222> (217)..(217)

<223> Xaa is Lysine (K) or is Absent

<400> 16

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35                    40                    45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu

50                    55                    60

Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ile Leu Thr Val Leu His

65                    70                    75                    80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85                    90                    95

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

100                    105                    110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

115                    120                    125

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

130                    135                    140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145                    150                    155                    160

Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

165                    170                    175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

180                    185                    190

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

195                    200                    205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa

210                    215

<210> 17  
 <211> 217  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> ADCC-Enhanced "FcMT2" Variant IgG1 Fc Domain Comprising L235V,  
 F243L, R292P, Y300L, and P396L Substitutions  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (217)..(217)  
 <223> Xaa is Lysine (K) or is Absent  
 <400> 17  
 Ala Pro Glu Leu Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys  
 1 5 10 15  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 20 25 30  
  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 35 40 45  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu  
 50 55 60  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 65 70 75 80  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 85 90 95  
  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 100 105 110  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 115 120 125  
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 130 135 140  
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 145 150 155 160  
  
 Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa  
 210 215

<210> 18

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ADCC-Enhanced "FcMT3" Variant IgG1 Fc Domain Comprising F243L,  
 R292P, and Y300L Substitutions

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (217)..(217)

<223> Xaa is Lysine (K) or is Absent

<400> 18

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro Lys  
 1 5 10 15  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu Glu  
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
 115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa  
 210 215

<210> 19

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH2-CH3 Domain of Variant IgG1 Fc Domain Having Little or No ADCC  
 Activity Comprising L234A, L235A, M252Y, S254T, and T256E  
 Substitutions

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (217)..(217)

<223> Xaa is Lysine (K) or is Absent

<400> 19

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val  
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65                      70                      75                      80  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
                                  85                      90                      95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
                                  100                      105                      110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
                                  115                      120                      125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
                                  130                      135                      140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 145                      150                      155                      160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
                                  165                      170                      175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
                                  180                      185                      190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
                                  195                      200                      205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa  
                                  210                      215

<210> 20

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH2-CH3 Domain of Variant IgG4 Fc Domain Having Extended  
 Half-Life Comprising M252Y, S254T, and T256E Substitutions

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (217)..(217)

<223> Xaa is Lysine (K) or is Absent

<400> 20

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 1                      5                      10                      15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val



Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 22

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Linker 2

<400> 22

Gly Gly Cys Gly Gly Gly

1 5

<210> 23

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heterodimer-Promoting "E-Coil" Domain

<400> 23

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val

1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys

20 25

<210> 24

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heterodimer-Promoting "K-Coil" Domain

<400> 24

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val

1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

20 25

<210> 25

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cysteine-Containing Heterodimer-Promoting "E-Coil" Domain

<400> 25

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val

1                    5                    10                    15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys

                  20                    25

<210> 26

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Cysteine-Containing Heterodimer-Promoting "K-Coil" Domain

<400> 26

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val

1                    5                    10                    15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

                  20                    25

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Alternative Linker 2

<400> 27

Ala Ser Thr Lys Gly

1                    5

<210> 28

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Illustrative Linker 3

<400> 28

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 29

<211> 6

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Illustrative Linker 3

<400> 29

Leu Gly Gly Gly Ser Gly

1                    5

<210> 30

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Illustrative Linker 3

<400> 30

Leu Glu Pro Lys Ser Ser

1                    5

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Illustrative Linker 3

<400> 31

Ala Pro Ser Ser Ser

1                    5

<210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Illustrative Linker 3

<400> 32

Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Glu

1                    5

<210> 33

<211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(10)  
 <223> Representative Human Hinge Region  
 <400> 33

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 1                    5                    10

<210> 34

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Artificial Linker

<400> 34

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1                    5                    10

<210> 35

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Domain of Humanized Antibody That Binds PD-1  
 (VLPD-1)

<400> 35

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35                    40                    45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser

50                    55                    60

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



<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That Binds PD-1  
(VHPD-1)

<400> 39

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

                  35                    40                    45

Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe

                  50                    55                    60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

                  100                    105                    110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

                  115

<210> 40

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds PD-1 (VHPD-1)

<400> 40

Ser Tyr Trp Met Asn

1                    5

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds PD-1 (VHPD-1)

<400> 41

Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp Gln Lys Phe Lys

1                    5                    10                    15

Asp

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds PD-1 (VHPD-1)

<400> 42

Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr

1                    5                    10

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Domain of Humanized Antibody That Binds  
PD-L1 (VLPD-L1)

<400> 43

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

1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly



1                    5  
 <210> 47  
 <211  
 > 118  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That Binds  
                   PD-L1 (VHPD-L1)  
 <400> 47  
 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 Ser Tyr  
                   20                    25                    30  
 Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45  
  
 Ala Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val  
                   50                    55                    60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65                    70                    75                    80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
                   100                    105                    110  
  
 Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115  
 <210> 48  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDRH1 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
                   Binds PD-L1 (VHPD-L1)  
 <400> 48  
 Ser Tyr Thr Met

1

<210> 49

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds PD-L1 (VHPD-L1)

<400> 49

Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys

1

5

10

15

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds PD-L1 (VHPD-L1)

<400> 50

Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1

5

<210> 51

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Domain of Humanized Antibody That Binds  
LAG-3 (VLLAG-3)

<400> 51

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

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Val

20

25

30

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

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly



Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 55

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That Binds LAG3  
(VHLAG-3)

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser

115

<210> 56

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds LAG3 (VHLAG-3)

<400> 56

Asp Tyr Asn Met Asp

1 5

<210> 57

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds LAG3 (VHLAG-3)

<400> 57

Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of Heavy Chain Variable Domain of Humanized Antibody That  
Binds LAG3 (VHLAG-3)

<400> 58

Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 59

<211> 496

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Amino Acid Sequence of the First and Third Polypeptide Chains of

DART-I

<400> 59

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Ser Val

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly  
 100 105 110  
 Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys  
 115 120 125  
  
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe  
 130 135 140  
 Thr Ser Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
 145 150 155 160  
 Glu Trp Ile Gly Val Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Trp Leu Asp  
 165 170 175  
 Gln Lys Phe Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser  
 180 185 190  
  
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val  
 195 200 205  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu His Tyr Gly Thr Ser Pro Phe Ala Tyr Trp  
 210 215 220  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val  
 245 250 255  
  
 Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Ser Lys Tyr  
 260 265 270  
 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro



<220><223> Amino Acid Sequence of the Second and Fourth Polypeptide Chains

of DART-I

<400> 60

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Gly Met Ser Phe Met Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35                    40                    45

Lys Leu Leu Ile His Ala Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Val Pro Ser

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Lys

85                    90                    95

Glu Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly

100                    105                    110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala

115                    120                    125

Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser

130                    135                    140

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro

145                    150                    155                    160

Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Asp Ile Asn Pro Asp Asn Gly Val

165                    170                    175

Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Glu Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp

180                    185                    190

Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp

195                    200                    205

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Ala Asp Tyr Phe Tyr Phe

210                    215                    220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys  
 225                      230                      235                      240

Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys  
                     245                      250                      255

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu  
                     260                      265                      270

<210> 61

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain Variable Domain of Margetuximab

<400> 61

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly  
 1                      5                      10                      15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala  
                     20                      25                      30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
                     35                      40                      45

Tyr Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly  
                     50                      55                      60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala  
 65                      70                      75                      80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro  
                     85                      90                      95

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

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of Light Chain Variable Domain of Margetuximab

<400> 62

Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala

1                    5                    10

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of Light Chain Variable Domain of Margetuximab

<400> 63

Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr

1                    5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of Light Chain Variable Domain of Margetuximab

<400> 64

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1                    5

<210> 65

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain of Margetuximab

<400> 65

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

20                    25                    30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35                    40                    45

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

50                    55                    60

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





<400> 69

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 70

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain of Margetuximab, Comprising the FcMT2 ADCC-Enhanced

Fc Domain (Comprising L235V, F243L, R292P, Y300L, and P396L

Substitutions)

<400> 70

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35                    40                    45

Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Asp Pro Lys Phe

50                    55                    60

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100                    105                    110

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115                    120                    125

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

130                    135                    140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145                    150                    155                    160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val



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

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

Gly Lys  
 450

<210> 71  
 <211> 107  
 <212>  
 > PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Light Chain Variable Domain of Enoblituzumab  
 <400> 71

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn  
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 72  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDRL1 of Light Chain Variable Domain of Enoblituzumab  
 <400> 72

Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala

1                    5                    10

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of Light Chain Variable Domain of Enoblituzumab

<400> 73

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1                    5

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of Light Chain Variable Domain of Enoblituzumab

<400> 74

Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe Thr

1                    5

<210> 75

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light Chain of Enoblituzumab

<400> 75

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

1                    5                    10                    15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

                  50                    55                    60

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



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 Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95  
 Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp

100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125  
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140  
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160  
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175  
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190  
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205  
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val

210 215 220  
 <210> 77

<211> 5  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDRH1 of Heavy Chain Variable Domain of Enoblituzumab

<400> 77  
 Ser Phe Gly Met His

1 5  
 <210> 78

<211> 17  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of Heavy Chain Variable Domain of Enoblituzumab

<400> 78

Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 79

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of Heavy Chain Variable Domain of Enoblituzumab

<400> 79

Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 80

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy Chain of Enoblituzumab Comprising the FcMT2 ADCC-Enhanced

Fc Domain (Comprising L235V, F243L, R292P, Y300L, and P396L

Substitutions)

<400> 80

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 Ser Phe

20                    25                    30

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

35                    40                    45

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val

50                    55                    60

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



Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 325 330 335  
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 340 345 350  
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 355 360 365  
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 370 375 380  
  
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 385 390 395 400  
 Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 405 410 415  
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 420 425 430  
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 435 440 445  
  
 Ser Pro Gly Lys  
 450