



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0072928
 (43) 공개일자 2017년06월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *C12N 15/11* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
 (52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
A61K 39/39558 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2017-7013607
 (22) 출원일자(국제) 2015년10월20일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2017년05월19일
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2015/074271
 (87) 국제공개번호 WO 2016/062722
 국제공개일자 2016년04월28일
 (30) 우선권주장
 62/068,141 2014년10월24일 미국(US)

(71) 출원인
아스트라제네카 아베
 스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제
 (72) 발명자
웨스너, 리처드
 미국 02451 메사추세츠주 월섬 게이트하우스 드라
 이브 아스트라제네카 35
맥쿤, 패트리샤, 엘리자베스
 미국 02451 메사추세츠주 월섬 게이트하우스 드라
 이브 아스트라제네카 35
라인, 폴, 더모트
 미국 02451 메사추세츠주 월섬 게이트하우스 드라
 이브 아스트라제네카 35
 (74) 대리인
양영준, 류현경

전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 **조합물**

(57) 요약

본 발명은 필요로 하는 대상체에서 면역조절제, 예컨대 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 이용하여 암을 치료하는 방법을 특징으로 한다.

(52) CPC특허분류

C12N 15/111 (2013.01)

C12N 15/113 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

C12N 2310/11 (2013.01)

C12N 2310/315 (2013.01)

C12N 2310/3231 (2013.01)

C12N 2310/341 (2013.01)

C12N 2310/346 (2013.01)

C12N 2320/31 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

(i) 면역조절제; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 면역조절제는 면역 관문 저해제 (immune checkpoint inhibitor)인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 면역조절제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법: 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 및 OX-40 작용제.

청구항 4

제1항에 있어서, 면역조절제는 하기로부터 선택되는 방법: MEDI4736, MPDL3280A, 2.7A4, AMP-714, MDX-1105, 니볼루맵 (nivolumab), 펌브롤리주맵 (pembrolizumab), 피딜리주맵 (pidilizumab), BMS936559, MPDL3280A, 트레멜리무맵 (tremelimumab), 이필리무맵 (ipilimumab) 및 OX40L.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 면역조절제는 MEDI4736인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 STAT1, STAT4, 또는 STAT6을 저해하지 않는 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 안티센스 올리고뉴클레오티드인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150인 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 환자는 암을 갖는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 암은 하기로부터 선택되는 방법: 비소세포 폐암 (NSCLC)을 포함하는 폐암, 췌장암, 결장직장암, 간세포 암종 (HCC), 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC)을 포함하는 두경부암, 및 미만성 거대 B-세포 암종 (DLBCL)을 포함하는 림프종.

청구항 11

제10항에 있어서, 암세포는 PD-L1을 발현하는 방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 필요로 하는 환자는 PD-L1 양성인 암을 갖는 것으로 확인된 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체는 MEDI4736이며, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합

물은 AZD9150인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 약 1 mg/kg 내지 20 mg/kg의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 1 mg/kg 내지 10 mg/kg의 AZD9150을 필요로 하는 환자에게 투여하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 치료제를 1주마다, 2주마다, 3주마다, 또는 4주마다 투여하는 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 면역조절제 전에 환자에게 투여하는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 면역조절제가 환자에게 투여되기 적어도 1일 전에 환자에게 투여하는 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 투약당 약 10 mg/kg의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 3 mg/kg의 AZD9150을 투여하는 방법.

청구항 19

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 투약당 약 20 mg/kg의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 3 mg/kg의 AZD9150을 투여하는 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, MEDI4736 또는 AZD9150 단독의 투여와 비교하여 무진행 생존성 및/또는 전체 생존성을 증가시키는 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, AZD9150 및 MEDI4736, 또는 이의 항원-결합 단편을 동시에 또는 상이한 시점에 투여하는 방법.

청구항 22

면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 포함하는 암 치료용 키트.

청구항 23

제약상 허용가능한 희석제 또는 담체와 결합된, 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 포함하는 제약 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 면역조절제는 MEDI4736이며, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150인 제약 조성물.

청구항 25

제24항에 있어서, 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 용량의 AZD9150을 제공하도록 제형화된 제약 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 약 10 mg/kg의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 3 mg/kg의 용량의 AZD9150

을 제공하도록 제형화된 제약 조성물.

청구항 27

인간 등의 온혈 동물에서의 면역 침윤 세포의 조절 방법으로서, 유효량의 AZD9150 전에, 유효량의 AZD9150 후에 또는 유효량의 AZD9150과 동시에 유효량의 MEDI4736 또는 이의 항원 결합 단편을 상기 동물에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 28

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, AZD9150, MEDI4736 및 트레멜리무맙을 필요로 하는 환자에게 투여하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

서열 목록

[0002]

본 출원은 전자 포맷의 서열 목록과 함께 출원 중이다. 서열 목록은 2015년 10월 19일자로 생성되고 크기가 65 kb인, 명칭이 200252_ST25PCT.txt인 파일로서 제공된다. 전자 포맷의 서열 목록에서의 정보는 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0003]

STAT3 mRNA 또는 단백질의 발현을 저해할 수 있는 에이전트 (agent) 및 면역조절제의 투여에 의해 동물에서 암, 예를 들어 B-세포 림프종을 치료하기 위한 방법, 화합물, 및 조성물이 본원에서 제공된다. 특정한 실시 양태에서, STAT3 mRNA 또는 단백질의 발현을 저해할 수 있는 에이전트는 STAT3 mRNA 또는 단백질의 발현의 저해에 대하여 선택적이다. 특정한 실시 양태에서, 병용 요법은 이를 필요로 하는 환자에게 STAT3에 표적화되는 안티센스 (antisense) 화합물 및 PD-L1 리간드의 그의 수용체에의 결합을 저해할 수 있는 에이전트 (예컨대 항체)를 투여하는 것을 포함한다. 그러한 방법, 화합물, 및 조성물은 B-세포 림프종 및 면역 관문 저해제 (immune checkpoint inhibitor)에 의한 응답에 민감한 다른 암의 치료, 예방 또는 개선에 유용하다.

배경 기술

[0004]

종양 제어에서 면역계, 특히 T 세포-매개성 세포독성의 역할은 잘 인식되어 있다. T 세포는 암환자에 있어서 (이 질환의 초기 및 말기 둘 모두에 있어서) 종양의 성장 및 생존성을 제어한다는 증가하고 있는 증거가 있다. 그러나, 종양-특이적 T 세포 반응은 암환자에 있어서 증가 및 지속이 어렵다.

[0005]

지금까지 상당한 주목을 받고 있는 T 세포 경로는 세포독성 T 림프구 항원-4 (CTLA-4, CD152), 예정 사멸 리간드 1 (PD-L1; B7-H1 또는 CD274로도 공지됨), 및 OX40 (CD134; TNFRSF4)을 통하여 시그널링한다 (signal).

[0006]

CTLA-4는 활성화된 T 세포 상에서 발현되며, CD28-매개성 T 세포 활성화 후 체크에서 T 세포 반응을 유지하기 위한 공동 저해자로서의 역할을 한다. CTLA-4는 TCR 참여 (engagement) 후 나이브 (naïve) 및 기억 T 세포의 조기 활성화의 폭을 조절하고 항종양 면역 및 자가면역 둘 모두에 영향을 주는 중추성 저해 경로 (central inhibitory pathway)의 일부인 것으로 생각된다. CTLA-4는 배타적으로 T 세포 상에서 발현되며, 그의 리간드인 CD80 (B7.1) 및 CD86 (B7.2)의 발현은 주로 항원-제시 세포, T 세포, 및 기타 면역 매개 세포에 제한된다. CTLA-4는 면역 관문 단백질 (immune checkpoint protein)로 공지된 부류의 분자에 속한다. CTLA-4 시그널링 경로를 차단하는 길항성 항-CTLA-4 항체는 T 세포 활성화를 향상시키는 것으로 보고되었다. 1가지 그러한 항체, 이필리무맙 (ipilimumab)은 전이성 흑색종의 치료용으로 2011년에 FDA에 의해 승인되었다. 또 다른 항-CTLA-4 항체인 트레멜리무맙 (tremelimumab)은 진행성 흑색종의 치료에 대하여 제III상 임상시험에서 테스트되었지만, 그 시점에 케어 기준 (테모졸로미드 (temozolomide) 또는 다카르바진 (dacarbazine))과 비교하여 환자의 전체 생존성을 유의하게 증가시키지 않았다.

[0007]

PD-L1 및 PD1은 면역 관문 단백질로서 공지된 부류의 분자에 속한다. 이러한 단백질은 건강한 개체에서 면역계의 과잉 반응을 방지하기 위하여 면역 반응을 약화시키는 세포 표면-결합된 리간드-수용체 쌍이다. 암세포는 종종 리간드 PD-L1을 과다발현함으로써 정상적인 PD-L1-PD1 면역 관문 메커니즘 (mechnism)을 탈취하는데, 상기 리간드 PD-L1은 이펙터 (effector) CD8 T 세포 상의 PD1에 결합함으로써 T 세포가 종양에 대한 면역 반응을 증가시키는 것을 방지한다. PD-L1은 넓은 범위의 암에서 높은 빈도로 발현된다. 종양 PD-L1 과다발현은 다수의 암

에서의 불량한 예후와 상관된다 (예를 들어, 문헌[Hamid and Carvajal. Expert Opin. Biol. Ther. 13(6):847-861, 2013] 참조).

- [0008] PD-L1과 그의 수용체 사이의 상호작용을 차단하는 항체는 시험관 내에서 PD-L1-의존성 면역억제 효과를 경감시켜 항종양 T 세포의 세포독성 활성을 향상시킬 수 있다. MEDI4736 (더발루맵 (durvalumab)으로도 공지됨)은 PD-1 및 CD80 수용체 둘 모두에의 PD-L1의 결합을 차단할 수 있는, 인간 PD-L1에 대하여 유도된 인간 단클론 항체이다.
- [0009] 항-PD-L1 및 항-PD1 치료용 차단 항체는 시험 중에 있는 것으로서, 폐암, 흑색종, 신장 세포 암종, 방광암, 위암, 두경부암 등을 포함하는 다수의 종양 유형에서 임상적 이점을 나타냈지만; 단지 소수의 환자가 이러한 치료법에 반응한다 (예를 들어, 문헌[Brahmer et al., New Engl. J. Med. 366(26):2455-2465, 2012]; 문헌[Harvey. Clinical Pharmacology & Therapeutics 96(2): 214-223, 2014] 참조). 이러한 응답 결여는 PD1/PD-L1 효과를 중단시키는 다른 면역억제 방식에 기인하였으며, 면역억제를 포함하는 조합 접근법이 고려 중에 있다 (문헌 [Dolan et al., Cancer Control 21(3)231-237]).
- [0010] OX40은 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포, 조절 T 세포 (Treg), 및 자연 살해 (natural killer; NK) 세포 상에서 주로 발견되는 종양 괴사 인자 수용체 (tumor necrosis factor receptor; TNFR)이다. 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포 상의 OX40을 통한 시그널링 (signaling)은 향상된 사이토카인 생성, 그랜자임 (granzyme) 및 퍼포린 (perforin) 방출과, 이펙터 (effector) 및 기억 T-세포 풀 (pool)의 확장을 초래한다. 게다가, Treg 세포 상에서의 OX40 시그널링은 Treg의 확장을 저해하고, Treg의 유도를 정지시키고, Treg-억제 기능을 차단한다.
- [0011] 암 치료에 있어서의 면역조절제 또는 면역 관문 저해제의 잠재력에도 불구하고, 본 기술 분야에서 암 치료에 있어서 이러한 에이전트 (agent)에의 응답에 개선을 가할 필요가 있다.

발명의 내용

- [0012] 하기에 기술된 바와 같이, 본 발명은 필요로 하는 대상체에서 면역조절제, 예컨대 면역 관문 저해제, 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 이용하여 암 (예를 들어, 림프종)을 치료하는 방법을 특징으로 한다. 특정한 면역조절제는 항-PD-L1 항체 (또는 이의 항원-결합 단편), 항-PD1 항체 (또는 이의 항원-결합 단편), 항-CTLA-4 항체 (또는 이의 항원-결합 단편) 및 OX40 작용제 (agonist) (예를 들어, OX40 리간드 용합 단백질, 또는 OX40 작용제 항체 또는 이의 항원-결합 단편)를 포함한다. 대상체는 임의의 포유류일 수 있다. 일 실시 양태에서, 대상체는 인간이다. 각각이 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 포함하는, 1가지 이상의 유형의 암의 치료에서 사용하기 위한 조합 생성물 및 키트가 또한 제공된다. 특정한 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오티드 (antisense oligonucleotide; ASO)이다.
- [0013] 선택적으로 CTLA-4, PD-L1 또는 PD-1에 결합하거나 CTLA-4, PD-L1 또는 PD-1의 결합 또는 활성화를 저해하는 항체가 본 발명의 방법에서 유용하다. 선택적으로 OX40에 결합하여 이를 활성화시키는 항체가 본 발명의 방법에서 유용하다.
- [0014] 항-PD-L1 항체는 본 기술 분야에 공지되어 있다. 예시적인 항-PD-L1 항체는 하기를 포함한다: MEDI4736 (더발루맵), MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714 및 MDX-1105.
- [0015] 항-PD-1 항체는 본 기술 분야에 공지되어 있다. 예시적인 항-PD-1 항체는 하기를 포함한다: 니볼루맵 (nivolumab), 펌브롤리주맵 (pembrolizumab), 피딜리주맵 (pidilizumab) 및 MPDL3280A.
- [0016] 항-CTLA-4 항체는 본 기술 분야에 공지되어 있다. 예시적인 항-CTLA-4 항체는 하기를 포함한다: 트레멜리무맵 및 이필리무맵 (MDX-010 (또는 BMS-734016)으로도 칭해짐).
- [0017] OX-40 작용제는 본 기술 분야에 공지되어 있다. 예시적인 OX-40 작용제는 하기를 포함한다: OX40L FP. AZD9150은 안티센스 올리고뉴클레오티드이며 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 일례이다.
- [0018] 일 실시 양태에서, 조합물은 안티센스 올리고뉴클레오티드 AZD9150 및 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 면역조절제를 포함한다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714, MDX-1105, 니볼루맵, 펌브롤리주맵, 피딜리주맵, MPDL3280A, 트레멜리무맵, 이필리무맵 및 OX40L FP.
- [0019] 일 실시 양태에서, 조합물은 항-PD-L1 항체 MEDI4736 및 안티센스 올리고뉴클레오티드 AZD9150을 포함한다.
- [0020] 일 실시 양태에서, 조합물은 안티센스 올리고뉴클레오티드 AZD9150, 항-PD-L1 항체 MEDI4736 (더발루맵) 및 항-

CTLA-4 항체 트레멜리무맙을 포함한다.

- [0021] PDL-1은 다양한 암이 신체에 의한 면역 감시를 회피하는 것을 돕는 데 연루되었다. 이와 같이, 본 발명은 임의의 암의 치료에 있어서 유의한 것으로 예측된다.
- [0022] 병용 치료가 제안되는 암의 유형의 예는 하기를 포함한다: 비소세포 폐암 (non small cell lung cancer; NSCLC)을 포함하는 폐암, 삼중 음성 유방암을 포함하는 유방암, 장액성 난소암을 포함하는 난소암, 췌장암, 결장직장암, 간세포 암종 (hepatocellular carcinoma; HCC), 두경부 편평 세포 암종 (head and neck squamous cell carcinoma; HNSCC)을 포함하는 두경부암, 및 미만성 거대 B-세포 암종 (diffuse large B-cell carcinoma; DLBCL)을 포함하는 림프종.
- [0023] 정의
- [0024] 달리 정의되지 않으면, 본원에서 사용되는 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 숙련자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 갖는다. 하기 참고 문헌은 본 발명에서 사용되는 많은 용어의 일반적인 정의를 당업자에게 제공한다: 문헌[Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994)]; 문헌[The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988)]; 문헌[The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991)]; 및 문헌[Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)]. 표준 기술이 화학적 합성 및 화학적 분석에 이용될 수 있다. 허용될 경우, 모든 특허, 출원, 공개된 출원 및 기타 간행물, 젠뱅크 (GENBANK) 등록 번호 및 미국 국립 생물공학 정보 센터 (National Center for Biotechnology Information; NCBI)와 같은 데이터베이스를 통하여 획득가능한 연관된 서열 정보 및 본원의 개시 내용 전체에 걸쳐 언급되는 기타 데이터는 본원에서 논의되는 그 문서의 일부에 대하여 참고로 포함되며, 이외에도, 그 전체가 참고로 포함된다.
- [0025] 달리 표시되지 않으면, 하기 용어는 하기 의미를 갖는다:
- [0026] "2'-데옥시뉴클레오시드"는 데옥시리보뉴클레오시드 (DNA)에서 자연적으로 나타나는 것으로 발견되는 바와 같이, 2'-H 푸라노실 당 모이어티 (moiety)를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 특정 실시 양태에서, 2'-데옥시뉴클레오시드는 변형 핵염기를 포함할 수 있거나 RNA 핵염기 (예를 들어, 우라실)를 포함할 수 있다.
- [0027] "2'-치환 뉴클레오시드"는 2'-위치에서 H 또는 OH 이외의 치환체를 포함하는 뉴클레오시드를 의미한다. 달리 표시되지 않으면, 2'-치환 뉴클레오시드는 이환식 뉴클레오시드가 아니다.
- [0028] "5'-메틸시토신"은 5' 위치에 부착된 메틸기로 변형된 시토신을 의미한다. 5-메틸시토신은 변형된 핵염기이다.
- [0029] 본원에서 사용되는 바와 같이, "약"이라는 용어는 본 기술 분야에서의 정상 공차 (normal tolerance)의 범위 이내인 것으로 이해되며, 일반적으로, 진술된 값의 $\pm 10\%$ 이내, 예컨대 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, 또는 0.01% 이내인 것을 의미한다. 예를 들어, "화합물이 STAT3의 적어도 약 70%의 저해를 일으켰다"는 것이 진술될 경우, STAT3 수준이 63%와 77%의 범위 이내에서 저해됨이 암시된다. 화합물이 약 20 mg/kg으로 사용된다는 것이 진술될 경우, 이것은 18 mg/kg부터 22 mg/kg까지의 범위를 포함한다. 문맥으로부터 달리 명백하지 않으면, 본원에 제공된 모든 수치 값은 약이라는 용어로 수식된다.
- [0030] "동시적으로 (concomitantly) 투여되는"은 2가지 에이전트를 임의의 방식으로 동시 투여 (co-administration)하는 것을 나타내며, 여기서, 이 둘의 약리학적 효과가 환자에서 동시에 나타난다. 동시적 투여는 두 에이전트가 단일 제약 조성물로, 동일 투여 형태로 또는 동일 투여 경로에 의해 투여되는 것을 요구하는 것은 아니다. 두 에이전트의 효과들은 동시에 자명할 필요는 없다. 상기 효과들은 단지 소정의 시간 기간 동안 중첩될 필요가 있으며, 동연적 (coextensive)일 필요는 없다.
- [0031] "에이전트"는 효과를 생성할 수 있는 물질, 예컨대 화합물, 안티센스 올리고뉴클레오티드 또는 항체 (등)를 나타낸다.
- [0032] "동물"은 마우스, 래트, 토끼, 개, 고양이, 돼지를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아닌 인간 또는 인간의 동물, 및 원숭이 및 침팬지를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아닌 인간외 영장류를 나타낸다.
- [0033] 본 발명에서 사용되는 바와 같이, "항체"라는 용어는 면역글로불린 또는 이의 단편 또는 유도체를 나타내며, 항원-결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩티드를 포함하고, 이는 이것이 시험관 내에서 생성되는지 생체 내에서 생성되는지에 관계 없이 그러하다. 상기 용어는 다클론, 단클론, 1특이성 (monospecific), 다중특이성 (polyspecific), 비특이성, 인간화, 단쇄, 키메라, 합성, 재조합, 하이브리드 (hybrid), 돌연변이, 및 그래프팅

된 (grafted) 항체를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 목적을 위하여, "온전한 항체"에서와 같이 "온전한"이라는 용어로 달리 수식되지 않으면, "항체"라는 용어는 항체 단편, 예컨대 Fab, F(ab')₂, Fv, scFv, Fd, dAb, 및 항원-결합 기능, 즉, 예를 들어, CTLA-4, PD-L1에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 다른 항체 단편을 또한 포함한다. 전형적으로, 그러한 단편은 항원-결합 도메인을 포함한다.

- [0034] "항-CTLA-4 항체"는 CTLA-4 폴리펩티드에 선택적으로 결합하는 항체를 의미한다. 예시적인 항-CTLA-4 항체는 예를 들어 미국 특허 제6,682,736호; 미국 특허 제7,109,003호; 미국 특허 제7,123,281호; 미국 특허 제7,411,057호; 미국 특허 제7,824,679호; 미국 특허 제8,143,379호; 미국 특허 제7,807,797호; 및 미국 특허 제8,491,895호 (그 안에서 트레멜리무맴은 11.2.1임)에 기술되어 있으며, 상기 미국 특허들은 본원에 참고로 포함된다. 트레멜리무맴 (미국 특허 제6,682,736호)은 예시적인 항-CTLA-4 항체이다.
- [0035] 트레멜리무맴 서열:
- [0036] VL - 서열 번호 13.
- [0037] VH - 서열 번호 14.
- [0038] VH CDR1 - 서열 번호 15; VH CDR2 - 서열 번호 16; VH CDR3 - 서열 번호 17.
- [0039] VL CDR1 - 서열 번호 18; VL CDR2 - 서열 번호 19; VL CDR3 - 서열 번호 20.
- [0040] "항-PD-L1 항체"는 PD-L1 폴리펩티드에 선택적으로 결합하는 항체를 의미한다. 예시적인 항-PD-L1 항체는 예를 들어 국제 공개 제2011/066389호, 미국 특허 출원 공개 제20130034559호 / 미국 특허 제8779108호 및 미국 특허 출원 공개 제20140356353호에 기술되어 있으며, 이들은 본원에 참고로 포함된다. MEDI4736은 예시적인 항-PD-L1 항체이다. 서열은 하기 서열 목록 (예를 들어, 서열 번호 3 내지 10)에 제공되어 있다. 다른 항-PD-L1 항체는 BMS-936559 (브리스톨-마이어스 스кви브 (Bristol-Myers Squibb)) 및 MPDL3280A (로슈 (Roche))를 포함한다.
- [0041] "항원-결합 도메인", "항원-결합 단편" 및 "결합 단편"이라는 용어는 항체와 항원 사이의 특이적 결합에 책임이 있는 아미노산을 포함하는 항체 분자의 일부를 나타낸다. 예를 들어, 항원이 클 경우, 항원-결합 도메인은 단지 항원의 일부에 결합할 수 있다. 항원-결합 도메인과의 특이적 상호작용에 책임이 있는 항원 분자의 일부분은 "에피토프" 또는 "항원 결정자"로 칭해진다. 전형적으로 항원-결합 도메인은 항체 경쇄 가변 영역 (V_L) 및 항체 중쇄 가변 영역 (V_H)을 포함하지만, 이것은 이들 둘 모두를 반드시 포함해야 할 필요는 없다. 예를 들어, 소위 Fd 항체 단편은 단지 V_H 도메인으로 이루어지지만, 온전한 항체의 일부 항원-결합 기능을 여전히 보유한다.
- [0042] 항체의 결합 단편은 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성된다. 결합 단편은 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 및 단쇄 항체를 포함한다. "2특이성" 또는 "2작용성 (bifunctional)" 항체 이외의 항체는 동일한 그의 결합 부위들 각각을 갖는 것으로 이해된다. 효소, 파파인을 이용한 항체의 소화는 "Fab" 단편으로도 공지된 2개의 동일한 항원-결합 단편, 및 항원-결합 활성을 갖지 않지만 결정화되는 능력은 갖는 "Fc" 단편을 생성한다. 효소, 펩신을 이용한 항체의 소화는 항체 분자의 2개의 아암 (arm)이 연결된 채로 있고 2개의 항원 결합 부위를 포함하는 F(ab')₂ 단편을 생성한다. F(ab')₂ 단편은 항원을 가교결합시키는 능력을 갖는다. 본원에서 사용될 때, "Fv"는 항원-인식 부위 및 항원-결합 부위 둘 모두를 보유하는 항체의 최소 단편을 나타낸다. 본원에서 사용될 때, "Fab"는 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 CHI 도메인을 포함하는 항체의 단편을 나타낸다.
- [0043] "mAb"라는 용어는 단클론 항체를 나타낸다. 본 발명의 항체는 제한 없이, 전체 천연 항체, 2특이성 항체; 키메라 항체; Fab, Fab', 단쇄 V 영역 단편 (scFv), 융합 폴리펩티드, 및 비통상적 항체를 포함한다.
- [0044] "안티센스 화합물"은 수소 결합을 통하여 표적 핵산에의 혼성화를 겪을 수 있는 올리고머 화합물을 의미한다. 안티센스 화합물의 예는 단일 가닥 및 이중 가닥 화합물, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오티드, siRNA, shRNA, snoRNAs, miRNA, 메로듀플렉스 (meroduplex) (mdRNA) 및 새틸라이트 반복체 (satellite repeat)를 포함한다.
- [0045] "STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물"은 수소 결합을 통하여 STAT3 표적 핵산에의 혼성화를 겪을 수 있는 올리고머 화합물을 의미한다.
- [0046] "안티센스 올리고뉴클레오티드"는 표적 핵산의 상응하는 영역 또는 절편에의 혼성화를 허용하는 핵염기 서열을 갖는 단일 가닥 올리고뉴클레오티드를 의미한다.

- [0047] "항-중양 활성화"는 중양 세포의 증식 또는 생존을 감소시키거나 안정화시키는 임의의 생물학적 활성을 의미한다. 일 실시 양태에서, 항-중양 활성화는 항-중양 면역 반응이다.
- [0048] "이환식 당"은 2개의 원자의 가교에 의해 변형된 푸로실 고리를 의미한다. 이환식 당은 변형된 당이다.
- [0049] "암"은 과도한 증식 또는 감소된 아포토시스 (apoptosis)를 특징으로 하는 질환 또는 장애를 의미한다. 본 발명이 이용될 수 있는 예시적인 암은 백혈병 (예를 들어, 급성 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수구성 백혈병, 급성 골수모구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 골수단구성 백혈병, 급성 단구성 백혈병, 급성 적백혈병, 만성 백혈병, 만성 골수구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병), 진성 적혈구 증가증, 림프종 (호지킨병 (Hodgkin's disease), 비호지킨병, DLBCL), 발덴스트롬 마크로글로불린혈증 (Waldenstrom's macroglobulinemia), 중쇄병 (heavy chain disease), 및 고형 종양, 예컨대 육종 및 암종 (예를 들어, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종, 척삭종, 혈관육종, 내피육종, 림프관 육종, 림프관내피육종 (lymphoendotheliosarcoma), 활막종 (synovioma), 증피종, 유잉 종양 (Ewing's tumor), 평활근 육종, 횡문근 육종, 결장 암종, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암, 편평 세포 암종, 기저 세포 암종, 선암종, 한선 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 낭선암종, 수질성 암종, 기관지 유래 암종, 신장 세포 암종, 간암, 나일 덕트 (nile duct) 암종, 용모막암종, 정상피종, 배아 암종, 빌름 종양 (Wilm's tumor), 자궁경부암, 자궁암, 고환암, 폐암종, 소세포폐암종, 방광암종, 상피암종, 신경교종, 다형성 교모세포종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 뇌실막세포종 (ependymoma), 송과체종, 혈관모세포종, 청신경종, 뿔피신경교종, 신경집종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 및 망막모세포종을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0050] "키메라 안티센스 화합물"은 적어도 2개의 화학적으로 특유한 영역을 갖는 안티센스 화합물을 의미한다.
- [0051] "동시 투여"는 2가지 이상의 의약제 (pharmaceutical agent)를 개체에 투여하는 것을 의미한다. 상기 2가지 이상의 의약제는 단일 제약 조성물 형태로 존재할 수 있거나, 별개의 제약 조성물들의 형태로 존재할 수 있다. 상기 2가지 이상의 의약제 각각은 동일하거나 상이한 투여 경로를 통하여 투여될 수 있다. 동시 투여는 병행 (parallel) 또는 순차 투여를 포함한다. 일 실시 양태에서, 동시 투여는 두 약물들의 약동학적 특성을 기반으로 하여 동시에 둘 모두의 약물에 환자를 노출시키도록 실시된다.
- [0052] "속박형 에틸 뉴클레오사이드 (constrained ethyl nucleoside)" (또한 cEt 뉴클레오사이드)는 4'-CH(CH₃)-O-2' 가교체를 포함하는 이환식 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오사이드를 의미한다.
- [0053] "연접 핵염기"는 서로에게 바로 인접한 핵염기를 의미한다.
- [0054] "질환"은 세포, 조직, 또는 기관의 정상 기능을 손상시키거나, 방해하거나, 이상조절하는 (dysregulate) 임의의 병태 또는 장애를 의미한다. 암 (예를 들어, 폐암)과 같은 질환에서, 세포, 조직 또는 기관의 정상 기능은 면역 회피 및/또는 도피를 가능하게 하도록 와해된다.
- [0055] "CTLA-4 폴리펩티드"는 젠뱅크 등록 번호 AAL07473.1에 대하여 적어도 85%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편을 의미하며, 이는 T 세포 저해 활성을 갖는다. AAL07473.1의 서열은 본원에서 서열 번호 21에 개시되어 있다.
- [0056] "CTLA-4 핵산 분자"는 CTLA-4 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 CTLA-4 폴리뉴클레오티드는 젠뱅크 등록 번호 AAL07473에 제공되어 있다.
- [0057] "희석제"는 약리학적 활성은 결여되어 있지만 제약상 필요하거나 바람직한 조성물 중 성분을 의미한다. 예를 들어, 주사 조성물 중 희석제는 액체, 예를 들어 식염수일 수 있다.
- [0058] "용량"은 단위 투여에서, 또는 특정된 시간 기간 내에 제공되는 의약제의 특정된 양을 의미한다. 특정 실시 양태에서, 용량은 1회분의, 2회분의, 또는 이보다 더 많은 볼루스, 정제, 또는 주사제로 투여될 수 있다. 예를 들어, 피하 투여가 요망되는 특정 실시 양태에서, 요망되는 용량은 단위 주사제에 의해 용이하게 제공되는 것이 아닌 부피를 요구하며, 따라서 2회분 이상의 주사제를 이용하여 요망되는 용량을 달성할 수 있다. 특정 실시 양태에서, 의약제는 연속적으로 또는 장시간에 걸쳐 주입에 의해 투여된다. 용량은 시간당, 일일, 주당, 또는 1개월당 의약제의 양으로 기술될 수 있다.
- [0059] "유효량"은 활성 의약제를 필요로 하는 개체에서 요망되는 생리학적 결과를 이루기에 충분한 활성 의약제의 양을 의미한다. 유효량은 치료되는 개체의 건강 및 신체 조건, 치료되는 개체의 분류군, 조성물의 제형, 개체의 의학적 상태의 평가, 및 기타 관련 요인에 따라 개체간에 달라질 수 있다.

- [0060] "갭머 (gapmer)"는 RNase H 절단을 지원하는 복수의 뉴클레오시드를 갖는 내부 영역이 1개 이상의 뉴클레오시드를 갖는 외부 영역들 사이에 위치하는 키메라 안티센스 화합물을 의미하며, 여기서, 내부 영역에 포함되는 뉴클레오시드들은 외부 영역들에 포함되는 뉴클레오시드(들)과는 화학적으로 별개의 것이다. 내부 영역은 "갭"으로 칭해질 수 있으며, 외부 영역들은 "윙 (wing)"으로 칭해질 수 있다.
- [0061] "혼성화"는 상보성 핵산 분자들의 어닐링 (annealing)을 의미한다. 특정 실시 양태에서, 상보성 핵산 분자들은 안티센스 화합물 및 표적 핵산을 포함한다.
- [0062] "면역 관문 저해제"는 CTLA-4 또는 PD-1 경로를 저해하는 에이전트를 의미하며, 특정한 관문 저해제는 PD-1, PD-L1 또는 CTLA-4를 저해하는 항체를 포함한다.
- [0063] "면역조절제"는 면역 반응 (예를 들어, 항-종양 면역 반응)을 향상시키는 에이전트를 의미한다. 본 발명의 예시적인 면역조절제는 항체, 예컨대 항-CTLA-4 항체, 항-PD-L1 항체, 항-PD-1 항체 및 이들 중 임의의 것의 항원 단편, 및 OX40 리간드 융합 단백질과 같은 단백질을 포함하는 OX-40 작용제, 또는 이들의 단편을 포함한다. 일 실시 양태에서, 면역조절제는 면역 관문 저해제이다.
- [0064] "STAT3을 저해하는"은 STAT3 안티센스 화합물, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오티드의 부재 하에서의 STAT3 mRNA의 발현 및/또는 단백질 수준과 비교하여 STAT3 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 STAT3 안티센스 화합물의 존재 하에서의 STAT3 mRNA의 발현 및/또는 단백질 수준을 감소시킴을 의미한다.
- [0065] "개체"는 치료 또는 치료법을 위하여 선택되는 인간 또는 인간의 동물을 의미한다.
- [0066] "뉴클레오시드간 결합"은 뉴클레오시드들 사이의 화학적 결합을 나타낸다.
- [0067] "연결된 뉴클레오시드들"은 함께 결합된 인접 뉴클레오시드들을 의미한다.
- [0068] "변형된 뉴클레오시드간 결합"은 천연 발생 뉴클레오시드간 결합 (즉, 포스포디에스테르 뉴클레오시드간 결합)으로부터의 치환 또는 임의의 변화를 나타낸다.
- [0069] "변형된 핵염기"는 아데닌, 시토신, 구아닌, 티미딘 또는 우라실 이외의 임의의 핵염기를 나타낸다. "비변형된 핵염기"는 퓨린 염기인 아데닌 (A) 및 구아닌 (G)과, 피리미딘 염기인 티미딘 (T), 시토신 (C) 및 우라실 (U)을 의미한다.
- [0070] "변형된 뉴클레오티드"는 독립적으로, 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오시드간 결합, 또는 변형된 핵염기를 갖는 뉴클레오티드를 의미한다. "변형된 뉴클레오시드"는 독립적으로, 변형된 당 모이어티 또는 변형된 핵염기를 갖는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0071] "변형된 올리고뉴클레오티드"는 변형된 뉴클레오시드간 결합, 변형된 당, 및/또는 변형된 핵염기를 포함하는 올리고뉴클레오티드를 의미한다.
- [0072] "변형된 당"은 천연 당으로부터의 치환 또는 변화를 나타낸다.
- [0073] "천연 발생 뉴클레오시드간 결합"은 3'→5' 포스포디에스테르 결합을 의미한다.
- [0074] "핵산"은 단량체형 뉴클레오티드로 구성된 분자를 나타낸다. 핵산은 리보핵산 (RNA), 데옥시리보핵산 (DNA), 단일 가닥 핵산, 이중 가닥 핵산, 소형 간섭 리보핵산 (small interfering ribonucleic acid; siRNA), 및 마이크로RNA (microRNA; miRNA)를 포함한다.
- [0075] "핵염기"는 또 다른 핵산의 염기와 쌍을 형성할 수 있는 복소환식 모이어티를 의미한다.
- [0076] "핵염기 서열"은 임의의 당, 결합, 또는 핵염기 변형과는 관계없이 연결 핵염기들의 순서를 의미한다.
- [0077] "뉴클레오시드"는 당에 결합된 핵염기를 의미한다.
- [0078] "뉴클레오티드"는 뉴클레오시드의 당 부분에 공유 결합된 포스페이트 기를 갖는 뉴클레오시드를 의미한다.
- [0079] "올리고머 화합물" 또는 "올리고머"는 적어도 핵산 분자의 소정 영역에 혼성화될 수 있는 결합 단량체형 서브유닛들의 중합체를 의미한다.
- [0080] "올리고뉴클레오티드"는 각각이 서로와 관계없이 변형되거나 비변형될 수 있는 결합된 뉴클레오시드들의 중합체를 의미한다.
- [0081] "전체 생존성"은 질환, 예컨대 암의 치료의 시작으로부터의, 그 질환으로 진단된 환자가 여전히 살아있는 시간

의 길이를 의미한다. 전형적으로 전체 생존성 수치는 적절한 크기의 임상 실험으로부터의 평균으로 결정된다.

- [0082] "OX40 폴리펩티드"는 NCBI 등록 번호 NP_003318에 대하여 적어도 약 85%의 아미노산 동일성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편을 의미한다. OX40은 항원-활성화 포유류 CD4+ 및 CD8+ T 림프구의 표면 상에서 발현되는 수용체의 TNFR-수퍼패밀리 (superfamily)의 구성원이다. 예를 들어, 문헌[Paterson et al., Mol Immunol 24, 1281-1290 (1987)]; 문헌[Mallett et al., EMBO J 9, 1063-1068 (1990)]; 및 문헌[Calderhead et al., J Immunol 151, 5261-5271 (1993)]을 참조한다. OX40은 CD134, ACT-4, 및 ACT35로도 칭해진다. OX40 수용체 서열은 본 기술 분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, 젠뱅크 등록 번호: AAB33944 또는 CAE11757로 제공된다. 예시적인 인간 OX40 아미노산 서열이 본원에서 서열 번호 22에 개시되어 있다.
- [0083] "OX40 리간드"는 NCBI 등록 번호 NP_003317에 대하여 적어도 약 85%의 아미노산 동일성을 갖고, OX40 수용체에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 또는 이의 단편을 의미한다. 예를 들어, 문헌[Baum P.R., et al. EMBO J. 13:3992-4001(1994)]을 참조한다. OX40L이라는 용어는 전체 OX40 리간드, 용해성 OX40 리간드, 및 제2 모이어티, 예를 들어 단백질 도메인에 공유 결합된 OX40 리간드의 기능적 활성 부분을 포함하는 융합 단백질을 포함한다. 아미노산 서열이 천연 발생 OX40L과는 다르지만 OX40 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 변이체가 OX40L의 정의 내에 또한 포함된다. OX40의 생물학적 활성을 향상시키는 변이체가 OX40L의 정의 내에 또한 포함된다. OX40 리간드 서열은 본 기술 분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, 젠뱅크 등록 번호 NP_003318로 제공된다.
- [0084] 예시적인 인간 OX40 리간드 아미노산 서열은 본원에서 서열 번호 23에 개시되어 있다.
- [0085] "OX40 작용제"는 특이적으로 OX40 수용체와 상호작용하여 이의 생물학적 활성을 증가시키는 OX40 리간드를 의미한다. 바람직하게는, 상기 생물학적 활성은 적어도 약 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 또는 심지어 100%만큼 증가된다. 특정 측면에서, 본원에 개시된 OX40 작용제는 OX40 결합 폴리펩티드, 예컨대 항-OX40 항체 (예를 들어, OX40 작용제 항체), OX40 리간드, 또는 이러한 분자의 단편 또는 유도체를 포함한다.
- [0086] "OX40 항체"는 OX40에 특이적으로 결합하는 항체를 의미한다. OX40 항체는 OX40에 특이적인 단클론 및 다클론 항체와 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 측면에서, 본원에 개시된 항-OX40 항체는 단클론 항체 (또는 이의 항원-결합 단편), 예를 들어, 쥐과, 인간화, 또는 완전 인간 (fully human) 단클론 항체이다. 특정한 일 실시 양태에서, OX40 항체는 문헌[Weinberg et al., J Immunother 29, 575-585 (2006)]에 기술된 마우스 항-인간 OX40 단클론 항체 (9B12)와 같은 OX40 수용체 작용제이다. 다른 실시 양태에서, OX40에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 mAb 9B12와 동일한 OX40 에피토프에 결합한다.
- [0087] "OX40 리간드 융합 단백질"은 특이적으로 OX40 수용체에 결합하여 면역 반응을 증가시키는 단백질을 의미한다. 일 실시 양태에서, OX40 수용체에 OX40 리간드 융합 단백질의 결합은 T-세포 인식을 상승시킴으로써 종양 항원 특이적 면역 반응을 향상시킨다. 예시적인 OX40 리간드 융합 단백질은 발명의 명칭이 "삼량체형 OX40 면역글로불린 융합 단백질 및 사용 방법[Trimeric OX40 Immunoglobulin Fusion Protein and Methods of Use]"인 미국 특허 제7,959,925호에 기술되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 제7,959,925호, 서열 번호 8을 참조한다. 이 서열은 본원에서 서열 번호 24로서 재현된다. 다른 OX40 리간드 융합 단백질이 예를 들어, 미국 특허 제6,312,700호에 기술되어 있다. 일 실시 양태에서, OX40 리간드 융합 단백질은 종양-특이적 T-세포 면역을 향상시킨다. 특정한 실시 양태에서, OX40 리간드 융합 단백질은 서열 번호 32, 34 또는 36에 개시된 아미노산 서열을 갖는다 (그러한 변이체는 본원에서 OX40L FP로 칭해진다).
- [0088] "비경구 투여"는 주사 (예를 들어, 볼루스 주사) 또는 주입을 통한 투여를 의미한다. 비경구 투여는 피하 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여 또는 두개내 투여, 예를 들어, 척수강내 또는 뇌혈관내 투여를 포함한다.
- [0089] "PD-L1 폴리펩티드"는 NCBI 등록 번호 NP_001254635에 대하여 적어도 약 85%의 아미노산 동일성을 가지며, PD-1 및 CD80 결합 활성을 갖는 폴리펩티드 또는 이의 단편을 의미한다.
- [0090] "PD-L1 핵산 분자"는 PD-L1 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 예시적인 PD-L1 핵산 분자 서열은 NCBI 등록 번호 NM_001267706에 제공되어 있다.
- [0091] "PD-L1 양성"은 면역조직화학의 맥락에서, 암 샘플 중 세포가 PD-L1에 대한 염색을 나타냄을 의미한다. 생물학적으로 유의한 양성 수준은 종양 유형, 및 종양 환경의 면역 상태를 기반으로 하여 달라질 수 있다.
- [0092] "펩티드"는 아마이드 결합에 의한 적어도 2개의 아미노산의 결합에 의해 형성된 분자를 의미한다. 펩티드는 폴리

펩티드 및 단백질을 나타낸다.

- [0093] "계약 조성물"은 개체에 투여하기에 적합한 물질들의 혼합물을 의미한다. 예를 들어, 계약 조성물은 1가지 이상의 활성 의약제 및 살균 수성 용액을 포함할 수 있다. 특정 실시 양태에서, 계약 조성물은 특정 세포주에서 자유 흡수 분석법 (free uptake assay)에서 활성을 나타낸다.
- [0094] "포스포로티오에이트 결합"은 비-가교 산소 원자들 중 하나가 황 원자로 대체됨으로써 포스포디에스테르 결합이 변형된 뉴클레오시드들 사이의 결합을 의미한다. 포스포로티오에이트 결합 (P=S)은 변형된 뉴클레오시드간 결합이다.
- [0095] "부분"은 규정된 수의, 핵산의 연결 (즉, 결합) 핵염기를 의미한다. 특정 실시 양태에서, 일부분은 규정된 수의, 표적 핵산의 연결 핵염기이다. 특정 실시 양태에서, 일부분은 규정된 수의 안티센스 화합물의 연결 핵염기이다.
- [0096] "예방하다"는 질환, 장애, 또는 병태의 발병 또는 발생을 수 분으로부터 무기한까지의 시간 기간 동안 지연시키거나 미연에 방지하는 것을 나타낸다. 예방하다는 또한 질환, 장애 또는 병태의 발병 위험을 감소시킴을 의미한다.
- [0097] "무진행 생존 (progression free survival)"은 질환, 예컨대 암의 치료 동안 및 상기 치료 후의, 환자가 그 질환을 갖고서 살고 있지만 질환이 악화되지는 않는 시간의 길이를 의미한다. 무진행 생존 수치는 전형적으로 적절한 크기의 임상 실험으로부터의 평균으로 결정된다.
- [0098] 본원에서 제공되는 범위들은 그 범위 내의 값 전부의 약칭인 것으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 50의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50으로 이루어진 군으로부터의 임의의 수, 수들의 조합, 또는 하위 범위 (sub-range)를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0099] "기준"은 비교의 기준을 의미한다.
- [0100] 치료법의 맥락에서 "응답성"은 치료에 민감함을 의미한다.
- [0101] "신호 전달자 및 전사 활성화자 3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) 핵산" 또는 "STAT3 핵산"은 STAT3을 코딩하는 임의의 핵산을 의미한다. 예를 들어, 특정 실시 양태에서, STAT3 핵산은 STAT3을 코딩하는 DNA 서열, STAT3을 코딩하는 DNA (인트론 및 엑손을 포함하는 게놈 DNA를 포함함)로부터 전사된 RNA 서열, 및 STAT3을 코딩하는 mRNA 서열을 포함한다. "STAT3 mRNA"는 STAT3 단백질을 코딩하는 mRNA를 의미한다.
- [0102] "단일 가닥 올리고뉴클레오티드"는 상보성 가닥에 혼성화되지 않는 올리고뉴클레오티드를 의미한다.
- [0103] "특이적으로 결합하다"는 분자 (예를 들어, 폴리펩티드)를 인식하여 이에 결합하지만 샘플, 예를 들어 생물학적 샘플 중 다른 분자를 실질적으로 인식하여 이에 결합하는 것은 아닌 화합물 (예를 들어, 항체)을 의미한다. 예를 들어, 특이적으로 결합하는 두 분자는 생리학적 조건 하에서 상대적으로 안정한 복합체를 형성한다. 특이적 결합은, 일반적으로 낮은 친화도를 갖고 중간 정도의 능력 내지 높은 능력을 갖는 비특이적 결합과는 구별되는 바와 같이, 높은 친화도 및 낮은 능력 내지 중간 정도의 능력을 특징으로 한다. 전형적으로, 친화성 상수 K_A 가 $10^6 M^{-1}$ 초과, 또는 더 바람직하게는 $10^8 M^{-1}$ 초과일 때 결합이 특이적인 것으로 간주된다. 필요할 경우, 비특이적 결합은 결합 조건을 다르게 함으로써 특이적 결합에 실질적으로 영향을 주지 않고서 감소될 수 있다. 적절한 결합 조건, 예컨대 항체의 농도, 용액의 이온 강도, 온도, 결합에 허용되는 시간, 차단제 (예를 들어, 혈청 알부민, 밀크 카제인 (milk casein)의 농도 등은 일상적인 기술을 이용하여 당업자에 의해 최적화될 수 있다.
- [0104] "특이적으로 혼성화가능한"은 특이적 결합이 요망되는 조건 하에서, 즉, 생체 내 분석법 및 치료적 치료의 경우에 생리학적 조건 하에서 비-표적 핵산에는 최소의 효과를 나타내거나 효과를 전혀 나타내지 않으면서, 요망되는 효과를 유도하기에 충분한 정도의, 안티센스 올리고뉴클레오티드와 표적 핵산 사이의 상보성 (핵염기들 사이의 쌍 형성)을 갖는 안티센스 화합물을 나타낸다.
- [0105] "대상체"는 인간 또는 인간의 포유류, 예컨대 소, 말, 개, 양 또는 고양이를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아닌 포유류를 의미한다.
- [0106] "표적화하는" 또는 "표적화되는"은 ~을 겨냥함을 의미한다. 항체와 관련하여, 이것은 기준 단백질에 결합하는 능력을 나타낸다. 안티센스 화합물과 관련하여, 이것은 특이적으로 표적 핵산에 혼성화하여 요망되는 효과를 유

도하는 그의 능력을 나타낸다.

- [0107] "표적 핵산", "표적 RNA", "표적 mRNA" 및 "표적 RNA 전사체" 전부는 안티센스 화합물에 의해 표적화될 수 있는 핵산을 나타낸다.
- [0108] "표적 절편"은 안티센스 화합물이 표적화하는 표적 핵산의 뉴클레오타이드의 서열을 의미한다. "5' 표적 부위"는 표적 절편의 가장 5'쪽인 뉴클레오타이드 (the 5'-most nucleotide)를 나타낸다. "3' 표적 부위"는 표적 절편의 가장 3'쪽인 뉴클레오타이드 (the 3'-most nucleotide)를 나타낸다.
- [0109] "치료적 유효량"은 치료 효과 (therapeutic benefit)를 개체에게 제공하는 의약제의 양을 의미한다.
- [0110] "치료하다", "치료하는", "치료" 등은 질환, 장애 또는 병태 및/또는 이와 연관된 임의의 증상을 감소시키거나 개선시키기 위한 제약 조성물의 투여를 나타낸다. 장애 또는 병태의 치료는, 배제되는 것은 아니지만 그 장애, 병태 또는 이와 연관된 증상이 완전히 제거되는 것을 요구하는 것은 아님이 인정된다.
- [0111] "비변형된 뉴클레오타이드"는 천연 발생 핵염기, 당 모이어티 및 뉴클레오시드간 결합으로 구성된 뉴클레오타이드를 의미한다. 특정 실시 양태에서, 비변형된 뉴클레오타이드는 RNA 뉴클레오타이드 (즉, β-D-리보뉴클레오시드) 또는 DNA 뉴클레오타이드 (즉, β-D-데옥시리보뉴클레오시드)이다.
- [0112] 구체적으로 진술되지 않거나 문맥으로부터 명확한 것이 아니면, 본원에서 사용되는 바와 같이, "또는"이라는 용어는 포괄적인 것으로 이해된다. 구체적으로 진술되지 않거나 문맥으로부터 명확한 것이 아니면, 본원에서 사용되는 바와 같이, 단수형 용어 ("a", "an", 및 "the")는 단수형 또는 복수형인 것으로 이해된다.
- [0113] 본 발명에서, "포함하다", "포함하는", "함유하는" 및 "갖는" 등은 미국 특허법에서 이들에 대하여 기술된 의미를 가질 수 있으며, "포함하고 있다", "포함하고 있는" 등을 의미할 수 있고; 이와 마찬가지로, "~로 본질적으로 이루어진" 또는 "본질적으로 이루어지다"는 미국 특허법에서 기술된 의미를 가지며, 상기 용어는 개방형이어서, 인용된 것의 기본적인거나 신규한 특성이 인용된 것보다 더 많은 것의 존재에 의해 변화되는 것이 아니라면 인용된 것보다 더 많은 것의 존재를 허용하지만, 종래 기술의 실시 양태는 제외된다.
- [0114] 본원에서 사용되는 바와 같이, "결정하는", "평가하는", "분석하는", "측정하는" 및 "탐지하는"이라는 용어는 정량적 및 정성적 결정 둘 모두를 나타내며, 따라서, 본원에서 "결정하는"이라는 용어는 "분석하는", 측정하는" 등과 상호교환가능하게 사용된다. 정량적 결정이 의도되는 경우, 분석물의 "양을 결정하는"이라는 어구 등이 사용된다. 정성적 및/또는 정량적 결정이 의도되는 경우, 분석물의 "수준을 결정하는" 또는 분석물을 "탐지하는"이라는 어구가 사용된다.
- [0115] "단리된", "정제된" 또는 "생물학적으로 순수한"이라는 용어는 물질의 천연 상태에서 발견되는 바와 같이 물질에 정상적으로 동반되는 성분이 없는 내지는 다양한 정도로 있는 물질을 나타낸다. "단리하다"는 원래의 소스 (source) 또는 주위로부터의 소정의 정도의 분리를 나타낸다. "정제하다"는 단리보다 더 고도의 소정의 정도의 분리를 나타낸다. "정제된" 또는 "생물학적으로 순수한" 단백질은 실질적으로 어떠한 불순물도 그 단백질의 생물학적 특성에 영향을 주지 않거나 다른 불리한 결과를 야기하지 않도록 하기에 충분하게 다른 물질이 없다. 즉, 본 발명의 핵산 또는 펩티드는, 재조합 DNA 기술에 의해 생성될 경우 세포 물질, 바이러스 물질, 또는 배양 배지가 이것에 실질적으로 없거나, 화학적으로 합성될 경우 화학 전구체 또는 기타 화학물질이 이것에 실질적으로 없는 경우 정제된 것이다. 전형적으로 순도 및 균질성은 분석 화학 기술, 예를 들어 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 또는 고성능 액체 크로마토그래피를 이용하여 결정된다. "정제된"이라는 용어는 핵산 또는 단백질이 전기영동 겔에서 본질적으로 1개의 밴드를 생성함을 나타낼 수 있다. 변형될 수 있는, 예를 들어, 포스포릴화될 수 있거나 글리코실화될 수 있는 단백질의 경우, 상이한 변형들은 상이한 단리된 단백질이 생기기 할 수 있으며, 이는 개별적으로 정제될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0116] 하기에 기술된 바와 같이, 본 발명은 필요로 하는 대상체에서 암 (예를 들어, 폐암, 예컨대 비소세포 폐암 (NSCLC); 삼중 음성 유방암을 포함하는 유방암; 장액성 난소암을 포함하는 난소암; 췌장암; 결장직장암; 림프종, 예컨대 미만성 거대 B-세포 폐암 (DLBCL) 또는 호지킨 림프종; 또는 두경부암, 예컨대 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC))을 면역조절제, 예컨대 항-PD-L1 항체, 예컨대 MEDI4736, 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물, 예컨대 AZD9150으로 치료하는 방법을 특징으로 한다.
- [0117] **항-PD-L1 항체**

- [0118] 특이적으로 PD-L1에 결합하여 이를 저해하는 항체가 본 발명에서 유용하다.
- [0119] MEDI4736은 PD-L1 폴리펩티드에 선택적이고 PD-1 및 CD80 수용체에의 PD-L1의 결합을 차단하는 예시적인 항-PD-L1 항체이다. MEDI4736은 시험관 내에서 인간 T-세포 활성화의 PD-L1 매개된 억제체를 경감시킬 수 있으며, 이중 이식 모델에서 T-세포 의존성 기작을 통하여 종양 성장을 저해한다.
- [0120] 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 MEDI4736 (또는 이의 단편)에 관한 정보는 미국 특허 제8,779,108호에서 발견될 수 있으며, 상기 미국 특허의 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. MEDI4736의 결정화가 가능한 단편 (fragment crystallizable; Fc) 도메인은 항체-의존성 세포-매개성 세포독성 (ADCC)의 매개에 책임이 있는 Fc γ 수용체 및 보체 성분 C1q에의 결합을 감소시키는 IgG1 중쇄의 불변 도메인에서의 삼중 돌연변이를 포함한다.
- [0121] 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 MEDI4736 및 이의 항원-결합 단편은 중쇄 및 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정한 측면에서, 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정한 측면에서, 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서, 중쇄 가변 영역은 서열 번호 5 내지 7의 카바트 (Kabat)-정의된 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열 번호 8 내지 10의 카바트-정의된 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함한다. 당업자라면, 당업자에게 공지된 초티아 (Chothia)-정의된 정의, Abm-정의된 정의 또는 기타 CDR 정의를 용이하게 확인할 수 있을 것이다. 특정한 측면에서, 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 국제 공개 제 2011/066389 A1호에 개시된 바와 같이 2.14H90PT 항체의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 CDR 서열을 포함하는데, 상기 국제 공개는 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.
- [0122] MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714 및 MDX-1105와 같은, 개발중인 및/또는 임상 실험 중인 화합물을 포함하는, 본 발명에서 특징적일 수 있는 다수의 항-PDL-1 항체가 공개된 문헌에 있다. 본 발명에서 유용할 수 있는 항-PDL-1 항체가 개시된 특허 명세서에는 하기를 포함한다: 국제 공개 제2007/005874호 (BMS/메다렉스 (Medarex)), 국제 공개 제01/14556호 (다나 파버 (Dana Farber)), 미국 특허 출원 공개 제2011/0271358호 (다나 파버), 국제 공개 제2010/036959호 (다나 파버), 국제 공개 제2010/077634호 (제넨테크 (Genentech)) (허여된 미국 특허 제8,217,149호를 포함함), 미국 특허 출원 공개 제2012/0039906호 (INSERM), 국제 공개 제2012/145493호 (앰플리문 (Amplimmune)), 미국 특허 제8,779,108호 (메드이문 (MedImmune) - MEDI4726 및 2.7A4의 경우), 미국 특허 출원 공개 제20140044738호 (앰피문 (Ampimmune) - AMP-714의 경우) 및 국제 공개 제2009/089149호 (존스 홉킨스 유니버시티 (John's Hopkins University)). 이러한 개시 내용 각각은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.
- [0123] **항-CTLA-4 항체**
- [0124] 특이적으로 CTLA-4에 결합하여 CTLA-4 활성을 저해하는 항체는 항-종양 면역 반응을 향상시키는 데 유용하다. 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 트레멜리무맙 (또는 이의 항원-결합 단편)에 관한 정보는 미국 특허 제6,682,736호에서 발견될 수 있으며 (여기서 이것은 11.2.1로 칭해짐), 상기 미국 특허의 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 트레멜리무맙 (CP-675,206, CP-675, CP-675206, 및 티실리무맙 (ticilimumab)으로도 공지됨)은 CTLA-4에 대하여 고도로 선택적이며 CD80 (B7.1) 및 CD86 (B7.2)에의 CTLA-4의 결합을 차단하는 인간 IgG₂ 단클론 항체이다. 이것은 시험관 내에서 면역 활성화를 생성하는 것으로 밝혀졌으며, 트레멜리무맙으로 치료된 일부 환자는 종양 퇴행을 나타냈다.
- [0125] 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 트레멜리무맙은 중쇄 및 경쇄 또는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 특정한 측면에서, 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 트레멜리무맙 또는 이의 항원-결합 단편은 상기에서 본원에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 및 상기에서 본원에 나타낸 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 특정한 측면에서, 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 트레멜리무맙 또는 이의 항원-결합 단편은 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서, 중쇄 가변 영역은 상기에서 본원에 나타낸 카바트-정의된 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함하며, 경쇄 가변 영역은 상기에서 본원에 나타낸 카바트-정의된 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 포함한다. 당업자라면, 당업자에게 공지된 초티아-정의된 정의, Abm-정의된 정의 또는 기타 CDR 정의를 용이하게 확인할 수 있을 것이다. 특정한 측면에서, 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 트레멜리무맙 또는 이의 항원-결합 단편은 미국 특허 제6,682,736호

에 개시된 바와 같이 11.2.1 항체의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 CDR 서열을 포함하는데, 상기 미국 특허는 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0126] 다른 항-CTLA-4 항체가 예를 들어 미국 특허 출원 공개 제20070243184호에 기술되어 있다. 일 실시 양태에서, 항-CTLA-4 항체는 MDX-010으로도 칭해지는 이필리무맙; BMS-734016이다.

[0127] **OX40 작용제**

[0128] OX40 작용제는 항원에 의한 프라이밍 (priming) 동안 또는 상기 프라이밍 직후 CD4⁺ T-세포 상의 OX40 수용체와 상호작용하여 그 항원에 대한 CD4⁺ T-세포의 응답을 증가시킨다. 항원 특이적 CD4⁺ T-세포 상의 OX40 수용체와 상호작용하는 OX40 작용제는 항원 단독에 대한 응답과 비교하여 T 세포 증식을 증가시킬 수 있다. 항원에 대한 상승된 응답은 OX40 작용제의 부재 하에서보다 실질적으로 더 긴 시간 기간 동안 유지될 수 있다. 따라서, OX40 작용제를 통한 자극은 항원, 예를 들어 종양 세포의 T-세포 인식을 증대시킴으로써 항원 특이적 면역 반응을 향상시킨다. OX40 작용제는 예를 들어 미국 특허 제6,312,700호, 미국 특허 제7,504,101호, 미국 특허 제7,622,444호, 및 미국 특허 제7,959,925호에 기술되어 있으며, 상기 미국 특허들은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 암 치료에서의 그러한 작용제의 사용 방법은 예를 들어 국제 공개 제2013/119202호 및 국제 공개 제2013/130102호에 기술되어 있으며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0129] OX40 작용제는 OX40 결합 분자, 예를 들어, 결합 폴리펩티드, 예를 들어, OX40 리간드 ("OX40L") 또는 이의 OX40-결합 단편, 변이체, 또는 유도체, 예컨대 용해성 세포의 리간드 도메인 및 OX40L 융합 단백질, 및 항-OX40 항체 (예를 들어, 단클론 항체, 예컨대 인간화 단클론 항체), 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 또는 유도체를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 항-OX40 단클론 항체의 예는 예를 들어 미국 특허 제5,821,332호 및 미국 특허 제6,156,878호에 기술되어 있으며, 이들의 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 특정 실시 양태에서, 항-OX40 단클론 항체는 9B12, 또는 이의 항원-결합 단편, 변이체 또는 유도체이며, 이는 그 전체가 본원에 참고로 포함된 문헌[Weinberg, A.D., et al. *J Immunother* 29, 575-585 (2006)]에 기술된 바와 같다.

[0130] 본원에 개시된 다양한 측면의 특정 실시 양태에서, OX40 작용제는 항체 VH 및 항체 VL을 포함하는 인간화 항-OX40 항체 또는 이의 항원-결합 단편이며, 여기서, VL은 하기 기준 아미노산 서열에 대하여 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSKLHSGVPSRF
SGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK (서열 번호 25) 또는
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTSKLHSGVPSRF
SGSGSRTDYTLTISSLPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK (서열 번호 26).

[0131] 일 실시 양태에서, 인간화 항-OX40 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체 VH 및 항체 VL을 포함하며, 여기서,

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSKLHSGVPSRF
VL은 하기 아미노산 서열: SGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYYCQQGSALPWTFGQGTKVEIK (서열 번호 25) 을
포함하고, VH는 하기 아미노산 서열:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCAVYGGSFSSGYWNWIRKHPGKGLYIGYISYNGITYHNPS
LKSRTINRDTSKNQYSLQLNSVTPEDTAVYYCARYKYDYDGGHAMDYWGQGLTVVSS
(서열 번호 27) 을 포함한다.

[0133] 다른 특정 실시 양태에서, 인간화 항-OX40 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 항체 중쇄 또는 이의 단편 및 항체 경쇄 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서, 중쇄는 본원에서 서열 번호 28에 개시된 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄는 본원에서 서열 번호 29에 개시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0134] 다른 실시 양태에서, OX40에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 mAb 9B12와 동일한 OX40 에피토프에 결합한다.

[0135] 예시적인 인간화 OX40 항체는 문헌[Morris et al., *Mol Immunol*. May 2007; 44(12): 3112-3121]에 기술되어 있으며, 본원에서 서열 번호 30에 개시된 서열을 갖는다.

[0136] 9B12는 인간 OX40 (CD134)의 세포의 도메인에 대하여 유도된 쥐과 IgG1, 항-OX40 mAb이다 (문헌[Weinberg,

A.D., et al. *J Immunother* 29, 575-585 (2006)]. 이것은 OX40 시그널링에 있어서 작용제 응답을 일으키는 그의 능력, 안정성 때문에, 그리고 하이브리도마에 의한 그의 높은 생성 수준 때문에 항-OX40 단클론 항체의 패널로부터 선발되었다. 임상적 응용에서 사용하기 위하여, 9B12 mAb를 pH 7.0의 인산염 완충 염수로 평형시키며, 그의 농도를 정용여과에 의해 5.0 mg/ml까지 조정한다.

[0137] "OX40 리간드" ("OX40L") (또한 중앙 피사 인자 리간드 수퍼패밀리 구성원 4, gp34, TAX 전사-활성화 당단백질-1, 및 CD252로 다양하게 칭해짐)는 주로 항원 제시 세포 (APC) 상에서 발견되며, 활성화된 B 세포, 수지상 세포 (dendritic cell; DC), 랑게르한스 (Langerhans) 세포, 플라마사이토이드 (plasmacytoid) DC, 및 대식 세포 상에서 유도될 수 있다 (문헌[Croft, M., (2010) *Ann Rev Immunol* 28:57-78]). 활성화된 T 세포, NK 세포, 비만 세포, 내피 세포, 및 평활근 세포를 포함하는 기타 세포는 염증성 사이토카인에 응답하여 OX40L을 발현할 수 있다 (상기 문헌). OX40L은 OX40 수용체에 특이적으로 결합한다. 그 인간 단백질은 미국 특허 제6,156,878호에 기술되어 있다. 마우스 OX40L은 미국 특허 제5,457,035호에 기술되어 있다. OX40L은 세포의 표면 상에서 발현되며, 세포내, 막관통 및 세포의 수용체-결합 도메인을 포함한다. 기능적 활성 용해성 형태의 OX40L은 예를 들어 미국 특허 제5,457,035호; 미국 특허 제6,312,700호; 미국 특허 제6,156,878호; 미국 특허 제6,242,566호; 미국 특허 제6,528,055호; 미국 특허 제6,528,623호; 미국 특허 제7,098,184호; 및 미국 특허 제7,125,670호에 기술된 바와 같이 세포내 및 막관통 도메인의 결실에 의해 생성될 수 있으며, 상기 미국 특허의 개시 내용은 모든 목적을 위하여 본원에 포함된다. 기능적 활성 형태의 OX40L은 OX40에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는, 즉, OX40 "수용체 결합 도메인"을 보유하는 형태이다. 일례로는 인간 OX40L의 아미노산 51 내지 183이 있다. OX40L 분자 또는 유도체가 OX40에 특이적으로 결합하는 능력을 결정하는 방법은 하기에 논의되어 있다. OX40L 및 그의 유도체 (예컨대 OX40 결합 도메인을 포함하는 유도체)의 제조 및 사용 방법은 미국 특허 제6,156,878호; 미국 특허 제6,242,566호; 미국 특허 제6,528,055호; 미국 특허 제6,528,623호; 미국 특허 제7,098,184호; 및 미국 특허 제7,125,670호에 기술되어 있으며, 상기 미국 특허에는 배양된 세포로부터의 OX40 리간드의 정제를 용이하게 하도록, 또는 포유류에게의 생체 내에서의 투여 후 그 분자의 안정성을 향상시키도록 생성될 수 있는, 인간 면역글로불린 ("Ig") Fc 영역과 같은 다른 펩티드에 연결된 OX40L의 용해성 형태를 포함하는 단백질이 또한 기술되어 있다 (미국 특허 제5,457,035호 및 미국 특허 제7,959,925호를 또한 참조하는데, 이들 둘 모두는 그 전체가 본원에 참고로 포함됨).

[0138] 본원에서 사용되는 바와 같이, "OX40L"이라는 용어는 전체 OX40 리간드, 용해성 OX40 리간드, 및 OX40 리간드의 기능적 활성 부분을 포함한다. 아미노산 서열이 천연 발생 OX40 리간드 분자와는 다르지만 OX40 수용체에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 OX40 리간드 변이체가 OX40L의 정의 내에 또한 포함된다. 그러한 변이체는 미국 특허 제5,457,035호; 미국 특허 제6,156,878호; 미국 특허 제6,242,566호; 미국 특허 제6,528,055호; 미국 특허 제6,528,623호; 미국 특허 제7,098,184호; 및 미국 특허 제7,125,670호에 기술되어 있다. 관련 실시 양태에서, OX40에 특이적으로 결합하는 능력이 상실된 OX40L의 돌연변이체, 예를 들어, 인간 OX40L의 수용체-결합 도메인의 위치 180의 페닐알라닌이 알라닌으로 대체된 (F180A) 아미노산 51 내지 183이 사용된다.

[0139] OX40 작용제는 OX40L의 1개 이상의 도메인이 1개 이상의 추가의 단백질 도메인에 공유 결합된 융합 단백질을 포함한다. OX40 작용제로 사용될 수 있는 예시적인 OX40 융합 단백질이 미국 특허 제6,312,700호에 기술되어 있으며, 이의 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 일 실시 양태에서, OX40 작용제는 다량체형 (예를 들어, 삼량체형 또는 육량체형) OX40 융합 단백질로 자가 조립되는 OX40 융합 폴리펩티드를 포함한다. 그러한 융합 단백질은 예를 들어 미국 특허 제7,959,925호에 기술되어 있으며, 상기 미국 특허는 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. 다량체형 OX40 융합 단백질은, 고도로 안정한 삼량체 및 육량체로 자발적으로 조립되는 그의 능력으로 인하여, 대상체, 특히 인간 대상체에서 항원 특이적 면역 반응을 향상시키는 데 있어서 증가된 효능을 나타낸다.

[0140] 또 다른 실시 양태에서, 다량체 형태로 조립될 수 있는 OX40 작용제는 N-말단에서 C-말단 방향으로 Fc 도메인을 포함하는 면역글로불린 도메인, 코일드 코일 (coiled coil) 삼량체화 도메인을 포함하는 삼량체화 도메인, 및 OX40 수용체 결합 도메인, 예를 들어, OX40 또는 이의 OX40-결합 단편, 변이체, 또는 유도체인 수용체 결합 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드를 포함하며; 여기서, 융합 폴리펩티드는 삼량체형 융합 단백질로 자가 조립될 수 있다. 일 측면에서, 다량체 형태로 조립될 수 있는 OX40 작용제는 OX40 수용체에 결합하여 적어도 1가지의 OX40 매개된 활성을 촉진할 수 있다. 특정 측면에서, OX40 작용제는 OX40 리간드의 세포의 도메인을 포함한다.

[0141] 다량체 형태로 조립될 수 있는 OX40 작용제의 삼량체화 도메인은 개개의 OX40L 융합 폴리펩티드 분자가 삼량체형 단백질로 자가 조립되는 것을 촉진하는 역할을 한다. 따라서, 삼량체화 도메인을 갖는 OX40L 융합 폴리펩티드는 삼량체형 OX40L 융합 단백질로 자가 조립된다. 일 측면에서, 삼량체화 도메인은 이소류신 지퍼 (zipper)

도메인 또는 다른 코일드 코일 폴리펩티드 구조이다. 예시적인 코일드 코일 삼량체화 도메인은 하기를 포함한다: TRAF2 (젠뱅크® 등록 번호 Q12933, 아미노산 299-348); 트롬보스폰딘 (Thrombospondin) 1 (등록 번호 P07996, 아미노산 291-314); 매트릴린 (Matrilin)-4 (등록 번호 O95460, 아미노산 594-618); CMP (매트릴린-1) (등록 번호 NP-002370, 아미노산 463-496); HSF1 (등록 번호 AAX42211, 아미노산 165-191); 및 쿠빌린 (Cubilin) (등록 번호 NP-001072, 아미노산 104-138). 소정의 특정 측면에서, 삼량체화 도메인은 TRAF2 삼량체화 도메인, 매트릴린-4 삼량체화 도메인, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0142] OX40L FP는 특이적으로 TNFR 슈퍼패밀리의 구성원인 인간 OX40 수용체에 결합하여 상기 수용체에 의한 시그널링을 트리거 (trigger)하는 인간 OX40 리간드 IgG4P 융합 단백질이다. OX40L FP는 서열 번호 31, 33 및 35 중 임의의 것에 개시된 핵산 및 이에 상응하게 코딩된, 각각 서열 번호 32, 34 및 36에 개시된 아미노산 서열을 가질 수 있다. OX40L FP는 그 전체가 본원에 참고로 포함된 국제 특허 출원 제PCT/US2015/032598호에 또한 개시되어 있다. OX40L FP는 하기 3개의 특유한 도메인으로 구성된다: (1) 호모삼량체 (homotrimer)를 형성하고 OX40 수용체에 결합하는 인간 OX40 리간드 세포의 수용체 결합 도메인 (receptor binding domain; RBD); (2) OX40 리간드 RBD의 호모삼량체 구조를 안정화시키는, TNFR-연관 인자 2로부터 유래된 이소류신 지퍼 삼량체화 도메인; 및 (3) OX40 수용체에 결합될 때 융합 단백질의 Fc γ 수용체 클러스터링 (clustering)을 용이하게 하고 힌지 영역 (IgG4P)에서의 위치 228 (EU 넘버링 (numbering)에 따름)에서 세린에서 프롤린으로의 치환을 포함하여 두 세트의 OX40 리간드 RBD 호모삼량체의 안정성을 촉진하는 인간 IgG4 단편 결정화가능 감마 (Fc γ) 도메인. IgG4P Fc 도메인은 인간 종양 괴사 인자 2 (TRAF2)의 아미노산 잔기 310-349로부터 유래된 이소류신 지퍼 삼량체화 도메인에 직접적으로 융합된다. TRAF2 도메인의 c-말단에는 인간 OX40L (유전자명: TNFSF4)의 세포의 수용체 결합 도메인 (RBD)의 아미노산 잔기 51-183이 융합된다. TRAF2 도메인은 OX40L RBD의 호모삼량체 구조를 안정화시켜 OX40의 결합 및 활성화를 가능하게 하는 반면, IgG4P Fc 도메인은 OX40L 삼량체의 이량체화, 혈청중 안정성을 부여하고, 육량체형 융합 단백질의 Fc γ 수용체 클러스터링을 용이하게 한다. 하나의 그러한 OX40L FP는 서열 번호 31 및 32에 개시된 서열을 갖는다. 하나의 OX40L FP 변이체는 OX40L에서 위치 180에 상응하는 아미노산에서 페닐알라닌 (F)의 알라닌 (A)으로의 돌연변이를 보유한다 (서열 번호 33 및 34). 또 다른 OX40L FP 변이체는 인간 IgG1 Fc 도메인으로 대체된 IgG4P Fc 도메인을 갖는다 (서열 번호 35 및 36). 특정한 실시 양태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 OX40 작용제는 OX40L FP 변이체들 중 하나이다.

[0143] 특정한 실시 양태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 OX40 작용제는 그의 혈청중 반감기를 증가시키도록 변형되었다. 예를 들어, OX40 작용제의 혈청중 반감기는 이종 (heterologous) 분자, 예컨대 혈청 알부민, 항체 Fc 영역, 또는 PEG에의 콘주게이션 (conjugation)에 의해 증가될 수 있다. 특정 실시 양태에서, OX40 작용제를 다른 치료제 또는 독소에 콘주게이션시켜 면역콘주게이트 및/또는 융합 단백질을 형성할 수 있다. 특정 실시 양태에서, OX40 작용제는 활성제의 안정성을 촉진하고 투여를 용이하게 하도록 제형화될 수 있다.

[0144] **유도체**

[0145] 본 발명에서 사용하기 위한 항체 (예를 들어, 항-CTLA-4, 항-PD-L1, 항-PD-1, 항-OX40)는 그의 표적에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 이러한 서열의 변이체를 포함할 수 있다. 그러한 변이체는 본 기술 분야에 잘 알려진 기술을 이용하여 당업자에 의해 이러한 항체의 서열로부터 유도될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 치환, 결실 또는 부가가 FR에서 및/또는 CDR에서 이루어질 수 있다. FR에서의 변화는 일반적으로 항체의 안정성 및 면역원성을 개선시키도록 설계되는 반면, CDR에서의 변화는 전형적으로 항체의 그의 표적에 대한 친화도를 증가시키도록 설계된다. FR의 변이체는 천연 발생 면역글로불린 알로타입 (allotype)을 또한 포함한다. 그러한 친화도를 증가시키는 변화는 CDR을 변경시키는 것 및 항체의 그의 표적에 대한 친화도를 테스트하는 것을 포함하는 일상적인 기술에 의해 경험적으로 결정될 수 있다. 예를 들어, 보존적 아미노산 치환은 개시된 CDR들 중 어느 하나 내에서 이루어질 수 있다. 다양한 변경이 문헌[Antibody Engineering, 2nd ed., Oxford University Press, ed. Borrebaeck, 1995]에 기술된 방법에 따라 이루어질 수 있다. 이것은 서열 내에서 기능적으로 등가인 아미노산 잔기를 코딩하는 상이한 코돈들을 치환함으로써 "침묵적 (silent)" 변화를 생성함에 의해 변경되는 뉴클레오타이드 서열을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 비극성 아미노산은 알라닌, 류신, 이소류신, 발린, 프롤린, 페닐알라닌, 트립토판, 및 메티오닌을 포함한다. 극성 중성 아미노산은 글리신, 세린, 트레오닌, 시스테인, 타이로신, 아스파라긴, 및 글루타민을 포함한다. 양으로 하전된 (염기성) 아미노산은 아르기닌, 라이신 및 히스티딘을 포함한다. 음으로 하전된 (산성) 아미노산은 아스파르트산 및 글루탐산을 포함한다.

[0146] 본 발명의 항체의 유도체 및 유사체는 재조합적 방법 및 합성 방법을 비롯하여 본 기술 분야에 잘 알려진 다양한 기술에 의해 생성될 수 있다 (문헌[Maniatis (1990) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd ed.,

Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.], 및 문헌[Bodansky *et al.* (1995) *The Practice of Peptide Synthesis*, 2nd ed., Springer Verlag, Berlin, Germany]). 유사한 셔플링 (shuffling) 또는 조합 기술이 문헌[Stemmer (*Nature* (1994) 370: 389-391)]에 또한 개시되어 있으며, 상기 문헌에서는 β -락타마아제 유전자와 관련된 기술이 기술되어 있지만 상기 접근법이 항체의 생성에 이용될 수 있음이 관찰된다.

- [0147] 하나 이상의 선택된 VH 및/또는 VL 유전자의 무작위 돌연변이 유발을 이용하여 본원에 개시된 서열로부터 유발되는 하나 이상의 서열을 지닌 신규한 VH 또는 VL 영역을 생성할 수 있다. 하나의 그러한 기술, 예러 유발 (error-prone) PCR이 문헌[Gram *et al.* (*Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* (1992) 89: 3576-3580)]에 기술되어 있다.
- [0148] 사용될 수 있는 또 다른 방법으로는 VH 또는 VL의 CDR의 유전자에 대한 돌연변이 유발을 지시하는 것이 있다. 그러한 기술은 문헌[Barbas *et al.* (*Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* (1994) 91: 3809-3813)] 및 문헌[Schier *et al.* (*J. Mol. Biol.* (1996) 263: 551-567)]에 개시되어 있다.
- [0149] 이와 유사하게, 하나 이상의 CDR 또는 모든 3개의 CDR이 VH 또는 VL 도메인의 레퍼토리 (repertoire) 내에 그려프팅될 수 있으며, 이는 그 후 CTLA-4 또는 PD-L1에 특이적인 항원-결합 단편에 대하여 스크리닝된다.
- [0150] 면역글로불린 가변 도메인의 일부분은 실질적으로 본원에 개시된 CDR들 중 적어도 하나, 및 임의로, 본원에 개시된 scFv 단편으로부터의 개재 프레임워크 (intervening framework) 영역을 포함한다. 상기 부분은 적어도 약 50%의 FR1 및 FR4 중 어느 하나 또는 이들 둘 모두를 포함할 수 있으며, 상기 50%는 FR1의 C-말단 50% 및 FR4의 N-말단 50%이다. 가변 도메인의 상당한 부분의 N-말단 또는 C-말단에서의 추가의 잔기는 보통 천연 발생 가변 도메인 영역과 결부되지 않는 것일 수 있다. 예를 들어, 재조합 DNA 기술에 의한 항체의 구성은 클로닝 또는 다른 조작 단계를 용이하게 하기 위하여 도입되는 링커에 의해 코딩되는 N- 또는 C-말단 잔기의 도입으로 이어질 수 있다. 다른 조작 단계는 면역글로불린 중쇄 불변 영역, 다른 가변 도메인 (예를 들어, 디아바디 (diabody)의 생성에서), 또는 단백질성 표지체를 포함하는 추가의 단백질 서열에 가변 도메인을 연결시키기 위한 링커의 도입을 포함하며, 이는 하기에 추가로 상세하게 논의되는 바와 같다.
- [0151] 당업자라면 VL 또는 VH 도메인 중 어느 하나로부터의 단일 CDR만을 포함하는 항원-결합 단편을 본 발명에서 사용하기 위한 항체가 포함할 수 있음을 인식할 것이다. 단쇄 특이적 결합 도메인들 중 어느 하나를 이용하여, 예를 들어 CTLA-4 및 PD-L1에 결합할 수 있는 2개 도메인 특이적 항원-결합 단편을 형성할 수 있는 상보성 도메인에 대하여 스크리닝할 수 있다.
- [0152] 본원에 개시된 본 발명에서 사용하기 위한 항체는 또 다른 기능성 분자, 예를 들어, 또 다른 펩티드 또는 단백질 (알부민, 또 다른 항체 등)에 연결될 수 있다. 예를 들어, 항체는 화학적 가교결합에 의해 또는 재조합적 방법에 의해 연결될 수 있다. 또한 항체는 미국 특허 제4,640,835호; 미국 특허 제4,496,689호; 미국 특허 제4,301,144호; 미국 특허 제4,670,417호; 미국 특허 제4,791,192호; 또는 미국 특허 제4,179,337호에 개시된 방식으로 다양한 비단백질성 중합체, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 또는 폴리옥시알킬렌 중 하나에 연결될 수 있다. 항체는, 예를 들어 그의 순환 반감기를 증가시키기 위하여 중합체와의 공유적 콘주게이션에 의해 화학적으로 변형될 수 있다. 이를 부착시키기 위한 예시적인 중합체 및 방법이 미국 특허 제4,766,106호; 미국 특허 제4,179,337호; 미국 특허 제4,495,285호, 및 미국 특허 제4,609,546호에 또한 예시되어 있다.
- [0153] 항체는 또한 천연 패턴과는 다른 글리코실화 패턴을 갖도록 변경될 수 있다. 예를 들어, 1개 이상의 탄수화물 모이어티가 결실될 수 있고/있거나 1개 이상의 글리코실화 부위가 원래의 항체에 부가될 수 있다. 현재 개시된 항체에의 글리코실화 부위의 부가는 본 기술 분야에 공지된 글리코실화 부위 컨센서스 (consensus) 서열을 포함하도록 아미노산 서열을 변경시킴으로써 성취될 수 있다. 항체 상의 탄수화물 모이어티의 수를 증가시키는 또 다른 수단으로는 항체의 아미노산 잔기에 글리코시드를 화학적으로 또는 효소적으로 커플링시킴에 의한 것이 있다. 그러한 방법은 국제 공개 제87/05330호 및 문헌[Aplin *et al.* (1981) *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 22: 259-306]에 기술되어 있다. 항체로부터의 임의의 탄수화물 모이어티의 제거는, 예를 들어 문헌[Hakimuddin *et al.* (1987) *Arch. Biochem. Biophys.*, 259: 52]; 및 문헌[Edge *et al.* (1981) *Anal. Biochem.*, 118: 131]과 문헌[Thotakura *et al.* (1987) *Meth. Enzymol.*, 138: 350]에 기술된 바와 같이 화학적으로 또는 효소적으로 성취될 수 있다. 항체는 또한 검출가능한 또는 기능성 표지체로 태그될 수 있다. 검출가능한 표지체는 방사성 표지체, 예컨대 ¹³¹I 또는 ⁹⁹Tc를 포함하는데, 이는 또한 통상적인 화학적 특성을 이용하여 항체에 부착될 수 있다. 또한 검출가능한 표지체는 효소 표지체, 예컨대 서양 고추냉이 퍼옥시다아제 또는 알칼리 포스파타아제를 포함한다. 검출가능한 표지체는 추가로 화학적 모이어티, 예컨대 바이오틴을 포함하며, 이는 특정한 동족 검출가능 모

이어티, 예를 들어, 표지된 아비딘에의 결합을 통하여 검출될 수 있다.

- [0154] CDR 서열이 본원에 개시된 것과 단지 비실질적으로 (insubstantially) 다른 항체가 본 발명의 범주 내에 포함된다. 전형적으로, 아미노산은 유사한 전하, 소수성, 또는 입체화학적 특성을 갖는 관련 아미노산으로 치환된다. 그러한 치환은 당업자의 통상적인 기술 이내에 있다. CDR과는 달리, 더 상당한 변화가 항체의 결합 특성에 불리하게 영향을 주지 않고서 FR에서 이루어질 수 있다. FR에 대한 변화는 항원 접촉에 또는 결합 부위의 안정화에 중요한 비-인간 유래된 특정 프레임워크 잔기의 인간화 또는 엔지니어링 (engineering), 예를 들어, 불변 영역의 클래스 또는 하위클래스 (subclass)의 변화, Fc 수용체 결합과 같은 이펙터 기능을 변경시킬 수 있는 특정 아미노산 잔기의 변화 (예를 들어, 미국 특허 제5,624,821호 및 미국 특허 제5,648,260호와 문헌[Lund *et al.* (1991) *J. Immun.* 147: 2657-2662] 및 문헌[Morgan *et al.* (1995) *Immunology* 86: 319-324]에 기술된 바와 같음), 또는 불변 영역이 유래된 종의 변화를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0155] 당업자라면 상기에 기술된 변형이 전부 완전한 것은 아니며 본 발명의 교시를 고려하면 많은 다른 변형이 당업자에게 명백함을 인정할 것이다.
- [0156] **안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는 STAT3 안티센스 화합물**
- [0157] 특이적으로 결합하여 STAT3 mRNA 또는 단백질 발현을 저해하는, 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함하는, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물이 본 발명에서 유용하다.
- [0158] STAT3 저해성 안티센스 올리고뉴클레오티드는 본 기술 분야에 공지되어 있다.
- [0159] 국제 공개 제2000/061602호 및 국제 공개 제2005/083124호 (둘 모두 이시스 파마슈티칼스 인크. (Isis Pharmaceuticals Inc.))에는 본 발명에서 특징적일 수 있는 다수의 STAT3 저해성 안티센스 올리고뉴클레오티드가 개시되어 있다.
- [0160] 또한 국제 공개 제2012/135736호 (이시스 파마슈티칼스 인크.)에는 본 발명에서 특징적일 수 있는 다수의 STAT3 저해성 안티센스 올리고뉴클레오티드가 개시되어 있다. 본원에서 제공되는 실시 양태에서 사용하기에 적합한 안티센스 올리고뉴클레오티드는 국제 공개 제2012/135736호에 개시된 서열 번호 9-426, 430-442, 445-464, 471-498, 500-1034, 및 1036-1512의 서열을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 국제 공개에서 ISIS 481464로 확인되는 이들 중 하나는 AZD9150으로도 공지된 분자이다. 이것은 3-10-3 배열 (configuration)을 갖는 겹머 분자이며, 그 중심 겹 절편은 10개의 2'-데옥시뉴클레오시드를 포함하고, 이는 각각 3개의 뉴클레오시드를 포함하는 윙이 양쪽 측면에 있다 (5' 및 3' 방향). 5' 윙 절편에서의 각각의 뉴클레오시드 및 3' 윙 절편에서의 각각의 뉴클레오시드는 cET 당 변형을 갖는다. 각각의 겹머 전체에 걸친 뉴클레오티드간 결합은 포스포로티오에이트 (P=S) 결합이다. 겹머에서의 모든 시토신 잔기는 5'-메틸시토신이다. AZD9150/ISIS481464의 전 16-머 (16-mer) 핵염기 서열은 CTATTTGGATGTCAGC (본원에서 서열 번호 2로 개시됨)이다. 윙 절편에는 밑줄이 그어져 있다. AZD9150은 본원에 서열 번호 1로서 포함됨, 젠뱅크 등록 번호 NM 139276.2의 STAT3 서열에서의 핵염기 3016-3031에 상보성이다.
- [0161] 국제 공개 제2014/070868호 (이시스 파마슈티칼스 인크.)에는 AZD9150의 특정한 투여량 및 이를 이용한 특정한 암의 치료 방법이 개시되어 있다.
- [0162] AZD9150은 현재 제I상 임상 시험에서 테스트 중에 있으며, 내성 용량 (tolerated dose)에서 DLBCL 및 HCC에서 임상적 응답을 나타냈다.
- [0163] STAT3에 표적화되는 다른 안티센스 화합물은 예를 들어 국제 공개 제2008109494호 (STAT3 메로듀플렉스 리보핵산 분자 (mdRNA)가 개시됨) 및 미국 특허 출원 공개 제20100298409호 (STAT3 siRNA 분자가 개시됨)에 개시되어 있다.
- [0164] 이러한 개시 내용 각각은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.
- [0165] *특정한 실시 양태*
- [0166] 일 측면에서, 본 발명은 필요로 하는 환자에게 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일 실시 양태에서, 에이전트들 ((i) 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물))은 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0167] 일 측면에서, 본 발명은 (i) 적어도 하나의 면역조절제; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법을 제공한다. 일 실시 양태에서, 에이전트들은 동시에, 별도로

로 또는 순차적으로 투여된다.

- [0168] 일 측면에서, 본 발명은 필요로 하는 환자의 치료에서 사용하기 위한, 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 제공한다. 일 실시 양태에서, 상기 두 에이전트는 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0169] 일 측면에서, 본 발명은 필요로 하는 환자의 치료에서 사용하기 위한, 적어도 하나의 면역조절제, 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 제공한다. 일 실시 양태에서, 에이전트들은 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0170] 일 측면에서, 본 발명은 필요로 하는 환자의 치료에서 사용하기 위한 면역조절제를 제공하며, 여기서, 상기 환자는 또한 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물로 치료 중이다. 일 실시 양태에서, 에이전트들은 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0171] 일 측면에서, 본 발명은 필요로 하는 환자의 치료에서 사용하기 위한, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 제공하며, 여기서, 상기 환자는 또한 면역조절제로 치료 중이다. 일 실시 양태에서, 에이전트들은 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0172] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서의 면역조절제의 용도를 제공하며, 상기 환자는 또한 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물로 치료 중이다.
- [0173] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서의 면역조절제의 용도를 제공하며, 여기서, 면역조절제는 필요로 하는 환자에게 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물과 동시에, 이와 별도로, 또는 순차적으로 투여된다.
- [0174] 일 측면에서, 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서의 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 용도를 제공하며, 상기 환자는 또한 면역조절제로 치료 중이다.
- [0175] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서의 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 용도를 제공하며, 여기서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 면역조절제와 동시에, 이와 별도로, 또는 순차적으로 투여된다.
- [0176] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서의 (i) 면역조절제; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 용도를 제공한다. 일 실시 양태에서, 상기 두 에이전트 (안티센스 화합물 및 면역조절제)는 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0177] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료에서 사용하기 위한 면역조절제를 제공하며, 상기 환자는 또한 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물로 치료 중이다.
- [0178] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료에서 사용하기 위한 면역조절제를 제공하며, 여기서, 면역조절제는 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물과 동시에, 이와 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0179] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료에서 사용하기 위한 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 제공하며, 상기 환자는 또한 면역조절제로 치료 중이다.
- [0180] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료에서 사용하기 위한 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 제공하며, 여기서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 면역조절제와 동시에, 이와 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0181] 일 측면에서, 본 발명은 암을 앓고 있는 환자의 치료에서 사용하기 위한, (i) 면역조절제; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 제공하며, 여기서, 각각의 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 환자에게 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여된다.
- [0182] 본원에 개시된 다양한 측면에서, 면역조절제를 이용한 환자의 치료를 언급할 때, 이것은 또한 1가지 초과 면역조절제를 이용한 치료를 포함한다.
- [0183] 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 면역 관문 저해제이다.
- [0184] 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0185] 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원-결합

단편이다.

- [0186] 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0187] 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 OX-40 작용제이다. 특정한 실시 양태에서, OX-40 작용제는 하기로부터 선택된다: 항-OX40 작용제 항체 또는 이의 항원-결합 단편, OX40 리간드 또는 이의 단편 또는 유도체, 또는 OX40 리간드 융합 단백질.
- [0188] 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714, MDX-1105, 니볼루맙, 펠브롤리주맙, 피딜리주맙, MPDL3280A, 트레멜리주맙, 이필리주맙 및 OX40L FP.
- [0189] 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 일 실시 양태에서, STAT3은 인간 STAT3이며, 따라서 조합물 및 치료 방법 등에서는 인간 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물이 이용된다.
- [0190] 특정 측면은 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물과 1가지 이상의 면역조절제의 조합물에 관한 것이다. 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물과 1가지 이상의 면역조절제의 그러한 조합물은 AZD9150 및 하기로부터 선택되는 1가지 이상의 에이전트를 포함한다: 항-PD-L1 항체, 항-PD1 항체, 및 항-CTLA-4 항체 및 OX-40 작용제. 특정 실시 양태에서, 그러한 조합물은 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물로서 AZD9150과, 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 1가지 이상의 면역조절제를 포함한다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714, MDX-1105, 니볼루맙, 펠브롤리주맙, 피딜리주맙, MPDL3280A, 트레멜리주맙, 이필리주맙 및 OX40L FP.
- [0191] 본원에 개시된 치료 방법 측면 또는 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 2가지 이상의 면역조절제가 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물과 조합되어 투여될 수 있다. 예를 들어, 병용 치료는 STAT3 ASO, 항-PDL-1 항체 및 항-CTLA-4 항체, 예컨대 AZD9150, MEDI4736 및 트레멜리주맙을 포함할 수 있다. 1가지 대안은 STAT3 ASO, 항-PDL-1 항체 및 OX40 작용제, 예컨대 AZD9150, MEDI4736 및 OX40L FP를 포함한다. 또 다른 대안은 STAT3 ASO, 항-PDL-1 항체 및 항-CTLA-4 항체, 예컨대 AZD9150, MEDI4736 및 트레멜리주맙을 포함한다.
- [0192] 본원에 개시된 치료 방법 측면 또는 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 하기로부터 선택되는, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714 및 MDX-1105, 또는 이들 중 임의의 것의 항원-결합 단편.
- [0193] 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 상기 치료 방법 측면 또는 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 항-PD-L1 항체는 MEDI4376, 또는 이의 항원 결합 단편이다.
- [0194] 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 상기 치료 방법 측면 또는 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 PD-1 및 CD80 수용체와의 PD-L1의 결합을 차단한다.
- [0195] 상기 치료 방법 측면 또는 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 면역조절제 전에 환자에게 투여된다. 특정한 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 및 면역조절제의 투여 사이의 지속 시간은 적어도 10분, 1시간, 2시간, 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 36시간, 48시간, 5일, 7일, 10일 또는 14일이다. 특정한 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물이 먼저 환자에게 투여되고, 그 후 면역조절제가 상이한 시점에 그리고 상이한 방문에 이후에 투여된다. 이러한 맥락에서 상이한 방문은, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 제공/투여했을 때의 방문과는 상이한 방문에서 환자에게 면역조절약을 공급하거나 투여하는 건강 관리 제공자가 그렇게 함을 의미할 수 있다. 분명히, 방문 장소는 중요하지 않다. 환자가 건강 관리 제공자를 방문 중일 수 있거나 그 반대일 수 있다.
- [0196] 상기 치료 방법 측면 또는 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, 면역조절제는 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 전에 환자에게 투여된다.
- [0197] 특정한 실시 양태에서, (i) 면역조절제; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 투여 사이의 지속 시간은 적어도 10분, 1시간, 2시간, 6시간, 12시간, 18시간, 24시간, 36시간, 48시간, 5일, 7일, 10일 또는 14일이다.

- [0198] 상기 치료 방법 측면 또는 다양한 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 각각에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 안티센스 올리고뉴클레오티드일 수 있다.
- [0199] 상기 치료 방법 측면 또는 첫 번째 또는 두 번째의 의학적 용도 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150일 수 있다.
- [0200] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 STAT1, STAT4, 또는 STAT6을 저해하지 않는다.
- [0201] 특정 실시 양태에서, 환자는 암을 갖는다. 일 실시 양태에서, 환자는 하기로부터 선택되는 암을 갖는다: 두경부암 (편평 세포 암종 (HNSCC)을 포함함), 림프종 (미만성 거대 B-세포 암종 (DLBCL) 또는 호지킨 림프종을 포함함), 유방암 (삼중 음성 유방암을 포함함), 난소암 (장액성 난소암을 포함함), 췌장암, 결장직장암, 폐암 (소세포 폐암 (NSCLC)을 포함함), 및 간세포 암종 (HCC).
- [0202] 특정 실시 양태에서, 암세포는 PD-L1을 발현한다.
- [0203] 특정 실시 양태에서, 필요로 하는 환자는 PD-L1 양성인 암을 갖는 것으로 확인되었다. 특정한 실시 양태에서, 환자의 종양 세포에서의 세포의 적어도 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 이보다 더 많은 것이 면역화학을 이용하여 평가할 때 PD-L1 양성이다.
- [0204] 일 실시 양태에서, 폐암은 소세포 폐암 또는 비소세포 폐암 (예를 들어, 편평 세포 암종, 선암종, 거대 세포 암종, 선편평세포 암종 및 육종암 암종)이다.
- [0205] 일 실시 양태에서, 두경부암은 HNSCC이다.
- [0206] 일 실시 양태에서, 림프종은 DLBCL이다.
- [0207] 또 다른 측면에서, 본 발명은 MEDI4736 또는 이의 항원 결합 단편, 및 AZD9150을 암을 갖는 것으로 확인된 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법을 제공한다. 이러한 특정한 측면의 일 실시 양태에서, 암은 하기로부터 선택된다: HNSCC, DLBCL, 췌장암, 유방암, 난소암, NSCLC 및 HCC.
- [0208] 또 다른 측면에서, 본 발명은 주당 약 0.5 내지 20 mg/kg의 MEDI4736 또는 이의 항원 결합 단편, 및 주당 약 0.3 내지 5 mg/kg의 AZD9150을 암을 갖는 것으로 확인된 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법을 제공한다. 특정한 실시 양태에서, AZD9150 및 MEDI4736에 더하여, 주당 약 1 내지 10 mg/kg의 트레멜리루마피 또한 환자에게 투여된다. 특정 실시 양태에서, 대상체의 체중은 하기 데바인 (Devine) 식을 이용하여 이상적인 체중으로서 계산된다 (문헌[Pai, M.P. and Paloucek, F.P. Ann. Pharmacol. 2000. 34: 1066-1069]): 남성 (kg 단위) = 50 + 5피트를 초과하는 인치당 2.3 kg; 여성 (kg 단위) = 45.5 + 5피트를 초과하는 인치당 2.3 kg.
- [0209] 특정 실시 양태에서, 관찰된 치료 효과 때문에, 면역조절제 및/또는 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 단일요법제로서 사용될 때에는 동일 에이전트보다 더 낮은 용량으로 투여될 수 있다. 특정 실시 양태에서, 본원에서 제공되는 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 주당 대상체의 체중 1 kg당 안티센스 화합물 약 0.3 내지 5 밀리그램의 범위 (0.3-5 mg/kg/주)로 대상체에게 투여된다. 그러한 용량 범위는 암 치료에 있어서 예기치 않게 낮다. 비교에 의하면, cap-결합 단백질 진해 개시 인자 4E (eukaryotic initiation factor 4E; eIF-4E)에 표적화된 안티센스 올리고뉴클레오티드인 LY2275796의 제1상 연구는 로딩 및 유지 용량 섭생법 하에서 LY2275796의 최대 내성 용량 (maximum tolerable dose; MTD) 및 생물학적 유효 용량 (biologically effective dose; BED)이 1,000 mg이지만 심지어 1,000 mg의 용량에서도 종양 응답이 전혀 관찰되지 않는다는 결론을 내렸다 (문헌[Hong D.S. et al., Clin Cancer Res. 2011 17(20):6582-91]). 특정 실시 양태에서, 면역조절제는 주당 대상체의 체중 1 kg당 항체 화합물 약 1 내지 20 밀리그램 (1 내지 20 mg/kg/주)의 범위로 대상체에게 투여된다.
- [0210] 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는, 상기 측면들 중 임의의 것 또는 본원에 설명된 본 발명의 임의의 측면의 다양한 실시 양태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기로부터 선택된다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714 및 MDX-1105, 또는 이들 중 임의의 것의 항원-결합 단편.
- [0211] 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는, 상기 측면들 중 임의의 것 또는 본원에 설명된 본 발명의 임의의 측면의 다양한 실시 양태에서, 항-PD1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기로부터 선택된다: 니블루마피, 팜브롤리주마피, 피딜리주마피 및 MPDL3280A.
- [0212] 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는, 상기 측면들 중 임의의 것 또는 본원에 설명된 본 발명의 임의의 측면의 다양한 실시 양태에서, CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기로부터 선택된다: 트레

벨리무맙 및 이필리무맙.

- [0213] OX040 작용제를 포함하는, 상기 측면들 중 임의의 것 또는 본원에 설명된 본 발명의 임의의 측면의 다양한 실시 양태에서, OX-40 작용제는 OX40L FP이다.
- [0214] 상기 측면들 중 임의의 것 또는 본원에 설명된 본 발명의 임의의 측면의 다양한 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150이다
- [0215] 특정 실시 양태에서, 안티센스 화합물이 혼성화될 수 있는 STAT3 핵산은 젠뱅크 등록 번호 NM_139276.2 (본원에 서열 번호 1로서 포함됨)에 개시된 서열들 중 임의의 것 또는 뉴클레오티드 4185000 내지 4264000에서 절두된 젠뱅크 등록 번호 NT_010755.14 (국제 공개 제2012/135736호에서 서열 번호 2로 칭해짐)의 상보체이다. 특정 실시 양태에서, 본원에서 사용하기에 적합한 안티센스 올리고뉴클레오티드는 국제 공개 제2012/135736호에 개시된 서열 번호 9 내지 426, 430 내지 442, 445 내지 464, 471 내지 498, 500 내지 1034, 및 1036 내지 1512의 서열을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 특정 실시 양태에서, 본 발명에서 사용하기 위한 안티센스 올리고뉴클레오티드는 서열 번호 1의 핵염기 3008 내지 3033의 동일 길이 부분에 상보성인 적어도 12개의 연결 핵염기의 부분을 포함하는 핵염기 서열을 갖는 12 내지 30개의 연결된 뉴클레오티드로 이루어진 변형된 올리고뉴클레오티드를 포함하며, 여기서, 핵염기 서열은 서열 번호 1의 서열에 대하여 상보성이다. 특정 실시 양태에서, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 AZD9150이다.
- [0216] 본원에서 제공되는 방법에서 사용하기 위한 AZD9150 (ISIS 481464로도 알려짐)에 관한 정보는 실시예 1에서와 같은 국제 공개 제2012/135736호에서 발견될 수 있으며, 상기 국제 공개의 개시 내용은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다. AZD9150은 10개의 연결된 데옥시뉴클레오티드 (갭 절편), 3개의 연결된 뉴클레오티드로 이루어진 5' 텡 절편; 및 3개의 연결된 뉴클레오티드로 이루어진 3' 텡 절편을 포함하는 단일 가닥 변형 올리고뉴클레오티드이다. 갭 절편은 5' 텡 절편과 3' 텡 절편 사이에 위치하며, 각각의 텡 절편의 각각의 뉴클레오티드는 속박형 에틸 뉴클레오티드를 포함한다. 상기 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오티드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이며, 올리고뉴클레오티드의 각각의 시토신은 5'-메틸시토신이다. AZD9150의 전 16-머 핵염기 서열은 CTATTGGATGTCAGC (본원에서 서열 번호 2로 개시됨)이며, 텡 절편들에는 밑줄이 그어져 있다. 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 12 내지 30개의 연결된 뉴클레오티드로 이루어지고 서열 번호 2의 핵염기 서열의 적어도 12개의 연결 핵염기를 포함하는 핵염기 서열을 갖는 변형 올리고뉴클레오티드를 포함하는 화합물이다.
- [0217] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드는 단일 가닥 변형 올리고뉴클레오티드로 이루어진다.
- [0218] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 적어도 1개의 뉴클레오티드간 결합은 변형 뉴클레오티드간 결합이다.
- [0219] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 각각의 뉴클레오티드간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 결합이다.
- [0220] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 적어도 1개의 뉴클레오티드는 변형 당을 포함한다.
- [0221] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 적어도 1개의 변형 당은 이환식 당이다.
- [0222] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 이환식 당은 4'-CH₂-O-2' 가교체 또는 4'-CH(CH₃)-O-2' 가교체를 포함한다.
- [0223] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 변형 당은 2'-O(CH₂)₂-OCH₃ 기 또는 2'-O-CH₃ 기를 포함한다.
- [0224] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드의 적어도 1개의 뉴클레오티드는 변형 핵염기를 포함한다. 특정 실시 양태에서, 상기 변형 핵염기는 5'-메틸시토신이다.
- [0225] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 변형 올리고뉴클레오티드는
- [0226] 1 내지 5개의 연결된 뉴클레오티드로 이루어진 5'-텡;

- [0227] 1 내지 5개의 연결된 뉴클레오시드로 이루어진 3'-윙;
- [0228] 8 내지 12개의 연결된 2'-데옥시뉴클레오시드로 이루어진 5'-윙과 3'-윙 사이의 겹을 포함하며,
- [0229] 여기서, 5'-윙과 3'-윙 중 적어도 하나는 적어도 하나의 이환식 뉴클레오시드 또는 2'-치환 뉴클레오시드를 포함한다.
- [0230] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 5'에서 3' 방향으로 표기될 때 이것이 표적화하는 표적 핵산의 표적 절편의 역 상보체를 포함하는 핵염기 서열을 갖는다.
- [0231] 본원에 포함된 각각의 서열 번호로 개시되는, 그리고 안티센스 분자/화합물에 적용되는 서열은 당 모이어티, 뉴클레오시드간 결합 또는 핵염기에 대한 임의의 변형과는 관계없음이 이해된다. 이와 같이, 서열 번호로 정의되는 안티센스 화합물은 독립적으로, 당 모이어티, 뉴클레오시드간 결합 또는 핵염기에 대한 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다.
- [0232] *변형*
- [0233] 뉴클레오시드는 염기-당 조합물이다. 뉴클레오시드의 핵염기 (염기로도 공지됨) 부분은 보통은 복소환식 염기 모이어티이다. 뉴클레오티드는 뉴클레오시드의 당 부분에 공유 결합된 포스페이트 기를 추가로 포함하는 뉴클레오시드이다. 펜토피라노실 당을 포함하는 뉴클레오시드에 있어서, 포스페이트 기는 당의 2', 3' 또는 5' 히드록실 모이어티에 결합될 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 선형 중합체형 올리고뉴클레오티드를 형성하도록 인접 뉴클레오시드들의 서로에게의 공유 결합을 통하여 형성된다. 올리고뉴클레오티드 구조 내에서, 포스페이트 기는 일반적으로 올리고뉴클레오티드의 뉴클레오시드간 결합을 형성하는 것으로 나타낸다.
- [0234] 안티센스 화합물에 대한 변형은 뉴클레오시드간 결합, 당 모이어티 또는 핵염기에 대한 치환 또는 변화를 포함한다. 변형 안티센스 화합물은 종종, 예를 들어 향상된 세포 흡수성, 핵산 표적에 대한 향상된 친화성, 뉴클레아제의 존재 하에서의 증가된 안정성, 또는 증가된 저해 활성과 같은 바람직한 특성 때문에 천연 형태에 비하여 바람직하다.
- [0235] 화학적 변형 뉴클레오시드는 또한 짧아지거나 절두된 안티센스 올리고뉴클레오티드의 그의 표적 핵산에 대한 결합 친화도를 증가시키는 데 이용될 수 있다. 그 결과, 그러한 화학적 변형 뉴클레오시드를 갖는 더 짧은 안티센스 화합물에서 비견되는 결과가 종종 수득될 수 있다.
- [0236] *변형 뉴클레오시드간 결합*
- [0237] RNA 및 DNA의 천연 발생 뉴클레오시드간 결합은 3'→5' 포스포디에스테르 결합이다. 예를 들어 향상된 세포 흡수성, 핵산 표적에 대한 향상된 친화성, 및 뉴클레아제의 존재 하에서의 증가된 안정성과 같은 바람직한 특성 때문에 천연 발생 뉴클레오시드간 결합을 갖는 안티센스 화합물에 비하여 1개 이상의 변형된, 즉, 천연 비발생성의 뉴클레오시드간 결합을 갖는 안티센스 화합물이 종종 선택된다.
- [0238] 변형 뉴클레오시드간 결합을 갖는 올리고뉴클레오티드는 인 원자를 보유하는 뉴클레오시드간 결합과, 인 원자를 갖지 않는 뉴클레오시드간 결합을 포함한다. 대표적인 인 함유 뉴클레오시드간 결합은 포스포디에스테르, 포스포트리에스테르, 메틸포스포네이트, 포스포르아미데이트, 및 포스포로티오에이트를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 인-함유 및 인-비함유 결합의 제조 방법은 잘 알려져 있다.
- [0239] 특정 실시 양태에서, STAT3 핵산에 표적화되는 안티센스 화합물은 1개 이상의 변형 뉴클레오시드간 결합을 포함한다. 특정 실시 양태에서, 변형 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 결합이다. 특정 실시 양태에서, 안티센스 화합물의 각각의 뉴클레오시드간 결합은 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합이다.
- [0240] *변형 당 모이어티*
- [0241] 본원에서 제공되는 안티센스 화합물은 당 기가 변형된 1개 이상의 뉴클레오시드를 임의로 포함할 수 있다. 그러한 당 변형 뉴클레오시드는 증가된 뉴클레아제 안정성, 증가된 결합 친화성, 또는 일부 다른 유익한 생물학적 특성을 안티센스 화합물에 부여할 수 있다. 특정 실시 양태에서, 뉴클레오시드는 화학적 변형 리보푸라노스 고리 모이어티를 포함한다. 화학적 변형 리보푸라노스 고리의 예는 제한 없이, 치환기 (5' 및 2' 치환기를 포함함)의 부가; 이환식 핵산 (bicyclic nucleic acid; BNA)을 형성하기 위한 비-제미날 (geminal) 고리 원자들의 가교; S, N(R), 또는 C(R1)(R)2 (R = H, C₁-C₁₂ 알킬 또는 보호기)에 의한 리보실 고리 산소 원자의 대체; 및 이들의 조합을 포함한다. 화학적 변형 당의 예는 2'-F-5'-메틸 치환 뉴클레오시드 (다른 개시된 5', 2'-비스

치환 뉴클레오시드에 대해서는 국제 공개 제2008/101157호 참조), S에 의한 리보실 고리 산소 원자의 대체 (이때 2'-위치에서 추가로 치환됨) (미국 특허 출원 공개 제2005/0130923호 참조), 또는 대안적으로, BNA의 5'-치환 (국제 공개 제2007/134181호 참조, 여기서, LNA는 예를 들어 5'-메틸 또는 5'-비닐 기로 치환됨)를 포함한다.

[0242] 변형 당 모이어티를 갖는 뉴클레오시드의 예는 제한 없이, 5'-비닐, 5'-메틸 (R 또는 S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 및 2'-O(CH₂)₂OCH₃ 치환기를 포함하는 뉴클레오시드를 포함한다. 2' 위치에서의 치환체는 또한 알릴, 아미노, 아지도, 티오, 0-알릴, 0-C₁-C₁₀ 알킬, OCF₃, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(Rm)(Rn), 및 O-CH₂-C(=O)-N(Rm)(Rn)으로부터 선택될 수 있으며, 여기서 각각의 Rm 및 Rn은 독립적으로 H 또는 치환 또는 비치환 C₁-C₁₀ 알킬이다.

[0243] *콘주게이션된 안티센스 화합물*

[0244] 안티센스 화합물은 생성된 안티센스 올리고뉴클레오타이드의 활성, 세포 분포성 또는 세포 흡수성을 향상시키는 1개 이상의 모이어티 또는 콘주게이트에 공유 결합될 수 있다. 전형적인 콘주게이트 기는 콜레스테롤 모이어티 및 지질 모이어티를 포함한다. 추가의 콘주게이트 기는 탄수화물, 인지질, 바이오틴, 페나진, 플레이트, 페난트리딘, 안트라퀴논, 아크리딘, 플루오레세인, 로다민, 쿠마린 및 염료를 포함한다.

[0245] *제형*

[0246] 면역조절제(들) 및 STAT3 핵산에 표적화되는 안티센스 화합물(들)을 적합한 제약상 허용가능한 희석제 또는 담체와 조합함으로써 제약 조성물에서 이용될 수 있다. 제약상 허용가능한 희석제는 인산염 완충 염수 (PBS)를 포함한다. 담체의 적합한 예는 생리식염수, 폴리에틸렌 글리콜, 에탄올, 식물유, 이소프로필 미리스테이트 등을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0247] 치료적 용도를 위한 허용가능한 담체 또는 희석제는 제약 분야에서 잘 알려져 있으며, 예를 들어 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., A.R Gennaro edit., 1985]에 기술되어 있다.

[0248] 면역조절제 및/또는 안티센스 화합물을 포함하는 제약 조성물은 인간을 포함하는 동물에게 투여시에 (직접적으로 또는 간접적으로) 생물학적 활성 대사산물 또는 이의 잔사를 제공할 수 있는 임의의 제약상 허용가능한 염, 에스테르, 또는 그러한 에스테르의 염을 포함한다.

[0249] 특정 실시 양태에서, 상기 두 에이전트 (면역조절제 및 STAT3 안티센스 화합물)는 별도로 제형화된다.

[0250] 일 측면에 따르면, 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물과, 1가지 이상의 제약상 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물이 제공된다.

[0251] 본 발명의 에이전트들은 (예를 들어, 주사, 예를 들어 볼루스 주사 또는 연속 주입에 의한) 비경구 투여용으로 제형화될 수 있으며, 앰풀, 사전 충전된 시린지, 작은 부피의 주입물 형태의 단위 용량 형태로 또는 방부제가 첨가된 다중-용량 용기 형태로 제시될 수 있다. 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중 용액, 현탁액, 또는 에멀전, 예를 들어 수성 폴리에틸렌 글리콜 중 용액과 같은 형태를 취할 수 있다. 유성 또는 비수성 담체, 희석제 또는 비히클의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물유 (예를 들어, 올리브유), 및 주사가능 유기 에스테르 (예를 들어, 에틸 올레이트)를 포함한다. 조성물은 다른 제형화제, 예컨대 습윤제, 유화제 또는 현탁제, 방부제, 안정화제 및/또는 분산제를 또한 함유할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분은 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어, 무발열원 살균수를 이용한 재구성을 위하여 용액으로부터의 동결건조에 의해 또는 살균 고형물의 무균적 단리에 의해 수득되는 분말 형태로 존재할 수 있다.

[0252] 일 실시 양태에서, 항-PD-L1 항체 MEDI4736은 26 mM 히스티딘/히스티딘-HCl, 275 mM 트레할로스 2수화물, 0.02% (중량/부피 [w/v]) 폴리소르베이트 80 (pH 6.0) 중 50 mg/mL로 제형화된다. 그 후, 생성물은 예를 들어 탄성중합체성 마개 및 플립-오프 캡 오버시일 (flip-off cap overseal)로 닫힌 투명 유리 바이알 (예를 들어, 10R 바이알) 중의 백색 내지 황백색 동결건조 분말로서 공급될 수 있다. 각각의 바이알은 200 mg (공칭)의 활성 생성물을 포함한다. 그 후, MEDI4736은 무균 기술을 이용하여 50 mg/mL의 최종 농도를 제공하도록 4.0 mL의 살균 주사용수 (water for injection; WFI)로 재구성된다. 그 후, 재구성된 용액은 예를 들어 시린지 또는 백을 이용한 IV 주입을 위하여 0.9% (w/v) 식염수로 희석된다.

[0253] *치료 섭생법.*

[0254] 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, 치료제는 1주일, 2주일, 3주일 또는 4주일마다 투여된다.

다양한 실시 양태에서, 환자에게는 먼저 1회의 또는 일련의 로딩 용량(들)의 면역조절제 (예를 들어 항-PD-L1 항체 MEDI4736)가 투여된다. 이것은 초기 치료 단계 (로딩기)에서, 예를 들어, 제1주의 제1일, 제3일 및 제5일에 에이전트를 다회 투약하는 것을 수반할 수 있다.

- [0255] 본 발명자는 환자를 먼저 STAT3 저해제로 치료하고 이어서 나중에 면역조절제로 치료하는 것이 더 우수한 항암 결과를 생성함을 알아냈다. 다양한 실시 양태에서, 환자에게는 먼저 1회의 또는 일련의 로딩 용량(들)의 STAT3 핵산에 표적화되는 안티센스 화합물 (예를 들어 AZD9150)이 투여된다. 이것은 초기 치료 단계에서, 예를 들어, 제1주의 제1일, 제3일 및 제5일에 에이전트를 다회 투약하는 것을 수반할 수 있다.
- [0256] 로딩 용량기의 목적은 "유지" 치료기, 예를 들어 주 1회 전에, 에이전트의 정상 상태 또는 유효 수준 (혈액에서 측정될 때)에 더 빠르게 도달하기 위한 것이다.
- [0257] 또한 STAT3 선택적 저해제를 이용한 예비치료는 종양 침윤 CD45+ 세포를 증가시키고, 아마도 또한 종양 침윤 대식 세포를 감소시켜서 면역조절제를 이용한 효과적인 치료에 더 민감한 종양 환경을 제공하는 역할을 할 수 있다.
- [0258] 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, 약 1 mg/kg의 내지 20 mg/kg의 (포괄적임)의 면역조절제, 및 약 1 mg/kg의 내지 15 mg/kg의 (포괄적임)의, STAT3 핵산에 표적화되는 안티센스 화합물이 환자에게 투여된다.
- [0259] MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, 약 2 mg/kg의 내지 10 mg/kg의 (포괄적임)의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 1 mg/kg의 내지 3 mg/kg의 (포괄적임)의 AZD9150이 투여된다. MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, 약 1 mg/kg의 MEDI4736 및 약 1 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나, 약 1 mg/kg의 MEDI4736 및 약 2 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나, 약 1 mg/kg의 MEDI4736 및 약 3 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 1 mg/kg의 MEDI4736 및 약 10 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나, 약 3 mg/kg의 MEDI4736 및 약 1 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 3 mg/kg의 MEDI4736 및 약 2 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 3 mg/kg의 MEDI4736 및 약 3 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 3 mg/kg의 MEDI4736 및 약 10 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 10 mg/kg의 MEDI4736 및 약 1 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 10 mg/kg의 MEDI4736 및 약 2 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 10 mg/kg의 MEDI4736 및 약 3 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 10 mg/kg의 MEDI4736 및 약 10 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나, 약 15 mg/kg의 MEDI4736 및 약 1 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 15 mg/kg의 MEDI4736 및 약 2 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나; 약 15 mg/kg의 MEDI4736 및 약 3 mg/kg의 AZD9150이 투여되거나, 약 15 mg/kg의 MEDI4736 및 약 10 mg/kg의 AZD9150이 투여된다. 특정 실시 양태에서, 대상체의 체중은 데바인식을 이용하여 이상적인 체중으로서 계산된다.
- [0260] 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, 본 방법은 면역조절제 (예를 들어 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편) 또는 AZD9150 단독의 투여와 비교하여 전체 생존성을 증가시킨다 (예를 들어, 수 주, 수 개월 또는 수 년 증가시킨다). 특히, 생존성의 증가는 약 4 내지 6주, 1 내지 2개월, 3 내지 4개월, 5 내지 7개월, 6 내지 8개월, 또는 9 내지 12개월보다 더 크다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, 면역조절제 (예를 들어 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편)의 투여는 약 4주마다 반복된다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, AZD9150의 투여는 약 4주마다 반복된다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, AZD9150의 투여는 약 12주마다 반복된다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, AZD9150의 투여는 약 4주마다 (7회의 투여), 그리고 그 후 12주마다 투여된다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, 면역조절제 (예를 들어 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편)의 투여는 정맥내 주입에 의한 것이다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, AZD9150의 투여는 정맥내 주입에 의한 것이다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, AZD9150 및 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 동시에 또는 상이한 시점에 투여된다. 상기 측면들 중 임의의 것의 다양한 실시 양태에서, AZD9150 및 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 24시간, 48시간 또는 72시간 간격으로, 1주, 2주 또는 3주 간격으로, 또는 1개월, 2개월 및 3개월 사이의 간격으로 투여된다.
- [0261] 3가지 에이전트를 포함하는 조합물이 또한 고려된다. 본원에 개시된 측면들 중 임의의 것의 특정한 실시 양태에서, AZD9150, MEDI4736 및 트레멜리무맙이 조합물에서 및/또는 치료에서 사용된다. 이러한 에이전트의 특정한 투여량은 2 mg/kg 또는 3 mg/kg의 AZD9150, 5 mg/kg, 10 mg/kg 또는 20 mg/kg의 MEDI4736 및 1 mg/kg 또는 2 mg/kg의 트레멜리무맙을 포함한다.

- [0262] 본 발명의 다른 특징 및 강점은 [발명을 실시하기 위한 구체적인 내용], 및 [청구범위]로부터 명백해질 것이다.
- [0263] 특정 측면에서, 암/종양을 발현하는 환자에게 (i) 적어도 하나의 면역조절제; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물이 제약상 유효량으로 투여된다.
- [0264] 특정 측면에서, 암/종양을 발현하는 환자에게 (i) MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편; 및 (ii) AZD9150이 제약상 유효량으로 투여된다. 이러한 측면의 특정한 실시 양태에서, 환자에게 트레멜리무맙, 또는 이의 항원 결합 단편이 또한 투여된다. MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150은 단지 1회, 또는 효과를 환자에게 여전히 제공하는 동안 드물게 투여될 수 있다. 추가의 측면에서, 환자에게 추가의 후속 (follow-on) 용량이 투여된다. 후속 용량은 환자의 연령, 중량, 임상적 평가, 종양 부하, 및/또는 담당의의 판단을 포함하는 기타 요인에 따라 다양한 시간 간격으로 투여될 수 있다.
- [0265] 면역조절제 (예를 들어 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편 및/또는 트레멜리무맙 또는 이의 항원-결합 단편)의 용량과, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 (예를 들어 AZD9150)의 용량 사이의 간격은 매 1주, 2주, 3주, 4주, 5주 또는 6주일 수 있다. MEDI4736, 또는 이의 항원-결합 단편의 용량과, AZD9150의 용량 사이의 간격은 6회의 사이클 동안 매 4주, 그리고 그 후 매 12주일 수 있다. 특정 측면에서, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 AZD9150의 대략 2배만큼 빈번하게 투여된다. 특정 측면에서, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 AZD9150의 대략 6배만큼 빈번하게 투여된다. 특정 측면에서, AZD9150은 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편의 대략 2배만큼 빈번하게 투여된다. 특정 측면에서, AZD9150은 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편의 대략 6배만큼 빈번하게 투여된다.
- [0266] 일부 실시 양태에서, 각각의 에이전트의 적어도 3회 용량, 적어도 4회 용량, 적어도 5회 용량, 적어도 6회 용량, 적어도 7회 용량, 적어도 8회 용량, 적어도 9회 용량, 적어도 10회 용량, 또는 적어도 15회 용량, 또는 이보다 더 많은 용량이 환자에게 투여될 수 있다. 일부 실시 양태에서, 면역조절제 (예를 들어 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편)는 2주간의 치료 기간에 걸쳐, 4주간의 치료 기간에 걸쳐, 6주간의 치료 기간에 걸쳐, 8주간의 치료 기간에 걸쳐, 12주간의 치료 기간에 걸쳐, 24주간의 치료 기간에 걸쳐, 또는 1년간의 또는 이보다 더 긴 치료 기간에 걸쳐 투여된다. 일부 실시 양태에서, AZD9150은 2주간의 치료 기간에 걸쳐, 4주간의 치료 기간에 걸쳐, 8주간의 치료 기간에 걸쳐, 12주간의 치료 기간에 걸쳐, 24주간의 치료 기간에 걸쳐, 또는 1년간의 또는 이보다 더 긴 치료 기간에 걸쳐 투여된다.
- [0267] 개개의 환자에게 투여될 (i) 면역조절제, 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 양은 다양한 파라미터, 예컨대 환자의 연령, 중량, 임상적 평가, 종양 부하 및/또는 담당의의 판단을 포함하는 기타 요인에 따라 달라질 수 있다. 환자에게 투여될 면역조절제 (예를 들어 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편), 및 STAT3 핵산에 표적화되는 안티센스 화합물 (예를 들어 AZD9150)의 양은 환자 집단에서의 상기 에이전트들의 포괄적인 임상 실험으로부터 결정될 수 있다.
- [0268] 항-PD-L1 항체 MEDI4736을 포함하는 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 0.3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 10 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 15 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 20 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편의 용량들 각각은 적어도 1주 간격 (1qw)으로, 예컨대 qw, 2qw, 3qw, 4qw, 8qw 및 12qw로 투여된다. 특정 실시 양태에서, 대상체의 체중은 데바인식을 이용하여 이상적인 체중으로서 계산된다.
- [0269] AZD9150으로 공지된 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 포함하는 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 0.3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 10 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 15 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 20 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, AZD9150의 용량들 각각은 적어도 1주 간격으로 투여된다. 특정 실시 양태에서, AZD9150의 용량들 각각은 2주 간격 (2QW)으로 투여된다. 특정 실시

양태에서, AZD9150의 용량들 각각은 3주 간격 (3QW)으로 투여된다. 특정 실시 양태에서, AZD9150의 용량들 각각은 4주 간격 (4QW)으로 투여된다. 특정 실시 양태에서, AZD9150의 용량들 각각은 8주 간격 (8QW)으로 투여된다. 특정 실시 양태에서, AZD9150의 용량들 각각은 12주 간격 (12QW)으로 투여된다.

[0270] 항-CTLA-4 항체 트레멜리무맙 또는 이필리무맙, 또는 이들 중 어느 하나의 항원-결합 단편을 포함하는 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 1회 이상의 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 10 mg/kg이다.

[0271] 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 10 mg/kg이다. 일부 실시 양태에서, 상기 적어도 2회 용량은 약 4주 간격으로 투여된다. 일부 실시 양태에서, 상기 적어도 2회 용량은 약 12주 간격으로 투여된다.

[0272] 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 3회 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 3회 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 3회 용량의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 10 mg/kg이다. 일부 실시 양태에서, 상기 적어도 3회 용량은 약 4주 간격으로 투여된다. 일부 실시 양태에서, 상기 적어도 3회 용량은 약 12주 간격으로 투여된다.

[0273] 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 10 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 15 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편이 투여되며, 여기서, 용량은 약 20 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 1 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 2 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 환자에게 적어도 2회 용량의 AZD9150이 투여되며, 여기서, 용량은 약 3 mg/kg이다. 특정 실시 양태에서, 대상체의 체중은 데바인식을 이용하여 이상적인 체중으로서 계산된다.

[0274] 일부 실시 양태에서, 상기 적어도 2회 용량은 약 4주 간격으로 투여된다. 일부 실시 양태에서, 상기 적어도 2회 용량은 약 12주 간격으로 투여된다. 특정 실시 양태에서, 본원에 제공되는 방법에 따른, 에이전트들, 예컨대 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및/또는 AZD9150의 투여는 비경구 투여를 통한 것이다. 예를 들어, 1가지의 또는 둘 모두의 에이전트는 정맥내 주입에 의해 또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다. 일부 실시 양태에서, 투여는 정맥내 주입에 의한 것이다.

[0275] 면역조절제 (예컨대 항-CTLA-4 항체, 항-PD-L1 항체, 항-PD-1 항체, 및 OX40 작용제) 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 (예컨대 AZD9150)의 조합물을 이용한 효과적인 치료는, 예를 들어, 원발성 종양 부위에서의, 또는 하나 이상의 전이에서의 암의 진행 속도의 감소, 종양의 성장 또는 전이성 성장의 지연 또는 안정화, 종양 축소, 및/또는 종양 퇴행을 포함한다. 일부 측면에서, 종양 성장의 감소 또는 지연은 통계적으로 유의할 수 있다. 종양 성장의 감소는 예상되는 종양 성장에 대하여, 큰 환자 집단을 기반으로 한 예상되는 종양 성장에 대하여, 또는 대조 집단의 종양 성장에 대하여 기저선에서의 환자의 종양의 성장과의 비교에 의해 측정될 수 있다. 다른 실시 양태에서, 본 발명의 방법은 생존성을 증가시킨다.

[0276] 면역조절제 (예컨대 항-CTLA-4 항체, 항-PD-L1 항체, 항-PD-1 항체, 및 OX40 작용제) 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 (예컨대 AZD9150)의 투여에 대한 임상적 응답은, 자기 공명 영상 (magnetic resonance imaging; MRI) 스캔, x-방사선 영상 (x-radiographic imaging), 컴퓨터 단층 촬영 (computed tomographic; CT) 스캔, 유세포 분석법 또는 형광-활성화 세포 분류기 (fluorescence-activated cell sorter; FACS) 분석, 조직학, 육안 병리학, 및 혈액 화학 (ELISA, RIA 및 크로마토그래피에 의해 탐지가능한 변화를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아님)을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아닌, 임상에게 공지된 진단 기술을 이용하여 평가될 수

있다.

- [0277] 본원에서 제공되는 방법은 암 종양 성장을 감소시키거나 지연시킬 수 있다. 일부의 경우에, 상기 감소 또는 지연은 통계적으로 유의할 수 있다. 종양 성장의 감소는 예상되는 종양 성장에 대하여, 큰 환자 집단을 기반으로 한 예상되는 종양 성장에 대하여, 또는 대조 집단의 종양 성장에 대하여 기저선에서의 환자의 종양의 성장과의 비교에 의해 측정될 수 있다.
- [0278] 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 및 면역조절제의 당해 용량의 투여는 대상체에서 종양 크기 또는 종양 부피를 감소시킨다. 특정 실시 양태에서, 안티센스 화합물 및 면역조절제의 당해 용량의 투여는 대상체의 생존을 연장시킨다. 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 및 면역조절제의 당해 용량의 투여는 대상체에서 암, 예컨대 B-세포 림프종을 치료한다. 특정 실시 양태에서, 본 방법은 대상체에서 암의 치료에 효과적이고 허용가능한 내용성을 갖는다.
- [0279] 특정 실시 양태에서, 종양 응답은 면역-관련 응답 기준 (Immune-related Response Criteria; irRc)을 이용하여 측정된다. 특정 실시 양태에서, 종양 응답은 고형 종양에서의 응답 평가 기준 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumor; RECIST)을 이용하여 측정된다.
- [0280] 특정 실시 양태에서, 종양 응답은 제7주 또는 그 후, 예컨대 제13주, 제25주, 제41주, 제52주에 탐지가능하다.
- [0281] 특정 실시 양태에서, 환자는 질환 제어 (disease control; DC)를 달성한다. 질환 제어는 완전한 응답 (complete response; CR), 부분 응답 (partial response; PR), 또는 안정한 질환 (stable disease; SD)일 수 있다.
- [0282] "완전한 응답" (CR)은 측정가능하든지 그렇지 않든지 간에, 모든 병변의 사라짐 및 새로운 병변이 없음을 나타낸다. 확인은 첫 번째 기록일로부터의 4주 이상의 반복, 연속 평가를 이용하여 수득될 수 있다. 새로운, 측정불가능한 병변은 CR을 방해한다.
- [0283] "부분 응답" (PR)은 기저선에 비하여 30% 이상의 종양 부하 감소를 나타낸다. 확인은 첫 번째 기록일로부터의 적어도 4주간의 연속 반복 평가를 이용하여 수득될 수 있다.
- [0284] "안정한 질환" (SD)은 기저선에 비하여 약 30% 미만의 종양 부하 감소가 확립될 수 없으며 최저치와 비교하여 20% 이상의 증가가 확립될 수 없음을 나타낸다.
- [0285] 특정 실시 양태에서, 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 투여는 무진행 생존성 (PFS)을 증가시킬 수 있다.
- [0286] 특정 실시 양태에서, 면역조절제 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 투여는 전체 생존성 (overall survival; OS)을 증가시킬 수 있다.
- [0287] 특정 실시 양태에서, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150의 투여는 무진행 생존성 (PFS)을 증가시킬 수 있다.
- [0288] 특정 실시 양태에서, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150의 투여는 전체 생존성 (OS)을 증가시킬 수 있다.
- [0289] 일부 실시 양태에서, 환자는 이전에 적어도 1가지의 화학요법제를 이용한 치료를 받았었다. 일부 실시 양태에서, 환자는 이전에 적어도 2가지의 화학요법제를 이용한 치료를 받았었다. 화학요법제는 예를 들어, 그리고 제한 없이, 베무라페닙 (Vemurafenib), 게피티닙 (Gefitinib), 에를로티닙 (Erlotinib), 아파티닙 (Afatinib), 세톡시맵 (Cetuximab), 카르보플라틴 (Carboplatin), 베바시주맵 (Bevacizumab), 및/또는 페메트렉세드 (Pemetrexed)일 수 있다.
- [0290] 일부 실시 양태에서, 암은 적어도 1가지의 화학요법제에 대하여 난치성이거나 저항성이다. 일부 실시 양태에서, 암은 적어도 2가지의 화학요법제에 대하여 난치성이거나 저항성이다. 암은 예를 들어, 그리고 제한 없이, 베무라페닙, 게피티닙, 에를로티닙, 아파티닙, 세톡시맵, 카르보플라틴, 베바시주맵, 및/또는 페메트렉세드 중 1가지 이상에 대하여 난치성이거나 저항성일 수 있다.
- [0291] 일부 실시 양태에서, 환자는 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150의 투여 전에는 0, 1 또는 2의 ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) (문헌[Oken MM, et al. *Am. J. Clin. Oncol.* 5: 649-55 (1982)] 일반 상태 (performance status)를 갖는다.
- [0292] 본원에서 제공되는 바와 같이, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편은 유리 (용해성) PD-L1 수준을 또한 감소시

킬 수 있다. 유리 (용해성) PD-L1은 (예를 들어, MEDI4736이) 결합되지 않은 PD-L1을 나타낸다. 일부 실시 양태에서, sPD-L1 수준은 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150의 투여 후 감소되고/되거나 탐지불가능해진다. 일부 실시 양태에서, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150의 투여는 예를 들어 상기 투여 전 유리 (용해성) PD-L1 수준의 증가 속도와 비교하여 유리 (용해성) PD-L1 수준의 증가 속도를 감소시킨다.

[0293] 본원에서 제공된 (i) 면역조절제, 예컨대 MEDI4736, 또는 이의 항원-결합 단편; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물, 예컨대 AZD9150 둘 모두를 이용한 암환자의 치료 (즉, 공동치료법)는 상가 및/또는 상승작용 효과를 생성할 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "상승작용성"이라는 용어는 단일 요법제들의 상가 효과보다 더 효과적인 요법제들의 조합물 (예를 들어, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150의 조합물)을 나타낸다

[0294] 요법제들의 조합물 (예를 들어, MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150의 조합물)의 상승작용 효과는 치료제들 중 1가지 이상의 더 낮은 투여량의 이용 및/또는 암환자에게의 상기 치료제의 덜 빈번한 투여를 가능케 할 수 있다. 더 낮은 투여량의 치료제의 이용 능력 및/또는 상기 요법제의 덜 빈번한 투여 능력은 암 치료에서 상기 요법제의 효능을 감소시키지 않고서 대상체에게 상기 요법제를 투여하는 것과 연관된 독성을 감소시킨다. 게다가, 상승작용 효과는 암의 관리, 치료 또는 개선에서 치료제의 효능을 향상시킬 수 있다. 치료제들의 조합물의 상승작용 효과는 어느 하나의 단일 요법제의 이용과 연관된 불리하거나 원하지 않는 부작용을 회피하거나 감소시킬 수 있다. 치료제들의 조합물의 상승작용 효과는 또한 종양 매스 (mass)의 감소 (또는 종양 퇴행)로서 나타날 수 있다. 치료제들의 조합물의 상승작용 효과는 또한 종양 성장 속도의 지속된 감소로서 나타날 수 있다.

[0295] 공동치료법에서, 면역조절제 (예컨대 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편)는 임의로, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 (예컨대 AZD9150)과 동일한 제약 조성물 중에 포함될 수 있거나, 또는 별도의 제약 조성물 중에 포함될 수 있다. 이러한 후자의 경우에, 면역조절제를 포함하는 제약 조성물은 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 포함하는 제약 조성물의 투여 전에, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 포함하는 제약 조성물의 투여와 동시에, 또는 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물의 투여 후에 투여하기에 적합하다. 특정한 경우에, 면역조절제는 별도의 조성물 중의, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물과 중첩되는 시점에 투여된다.

[0296] *키트*

[0297] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (i) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 (예컨대 AZD9150); 및 (ii) 면역조절제 (예컨대 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편)를 포함하는 암 치료용 키트를 제공한다. 일 실시 양태에서, 키트는 각각 단위 투여 형태의, 면역조절제 (예컨대 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편), 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 (예컨대 AZD9150)을 포함하는 치료 조성물을 포함한다. 특정 실시 양태에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150일 수 있고/있거나 면역조절제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714, MDX-1105, 니블루맙, 램브롤리주맙, 피딜리주맙, MPDL3280A, 트레멜리주맙, 이필리주맙 및 OX40L FP.

[0298] 면역조절제가 항-PD-L1 항체일 때, 이것은 하기로부터 선택될 수 있다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714 및 MDX-1105, 또는 이들 중 임의의 것의 항원-결합 단편.

[0299] 일부 실시 양태에서, 키트는 1가지 이상의 치료 조성물을 포함하는 살균 용기를 포함하며; 그러한 용기는 박스, 앰플, 병, 바이알, 튜브, 백, 파우치, 블리스터-팩, 또는 본 기술 분야에 공지된 다른 적합한 용기 형태일 수 있다. 그러한 용기는 플라스틱, 유리, 적층지, 금속 포일, 또는 의약을 수용하기에 적합한 기타 물질로 만들어질 수 있다.

[0300] 요망될 경우, 키트는 면역조절제 (예를 들어 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편), 및 STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 (예를 들어 AZD9150)을 암을 갖는 대상체에게 투여하는 것에 대한 설명서를 추가로 포함한다. 특정한 실시 양태에서, 상기 설명서는 하기 중 적어도 1가지를 포함한다: 치료제(들)에 대한 설명; 암 또는 이의 증상의 치료 또는 예방을 위한 투약 일정 및 투여; 방지책; 경고; 지시; 금기; 과다 투여에 대한 정보; 부작용; 동물 약리학; 임상 연구; 및/또는 참고 자료. 설명서는 (존재할 때) 용기 상에 직접적으로 인쇄되거나, 용기에 적용된 라벨로서, 또는 용기 내에 또는 용기와 함께 제공되는 별도의 시트, 팜플렛, 카드 또는 폴더 (folder)로서 존재할 수 있다.

[0301] 또 다른 측면에서, 암 치료에서 동시에, 별도로 또는 순차적으로 사용하기 위한 병용 제제로서의, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물 및 면역조절제를 포함하는 생성물이 제공된다.

- [0302] 그러한 생성물에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150이거나 AZD9150일 수 있고/있거나 면역조절제는 하기이거나 하기로부터 선택될 수 있다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714, MDX-1105, 니볼루맙, 켈브롤리주맙, 피딜리주맙, MPDL3280A, 트레멜리주맙, 이필리주맙 및 OX40L FP.
- [0303] 다른 실시 양태에서, 그러한 생성물에서, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150이거나 AZD9150일 수 있고/있거나 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기이거나 하기로부터 선택될 수 있다: MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714 및 MDX-1105, 또는 이들 중 임의의 것의 항원-결합 단편.
- [0304] 본 발명의 실시는, 달리 지시되지 않으면, 분자 생물학 (재조합 기술을 포함함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학, 면역조직화학 및 면역학의 통상적인 기술을 이용하는데, 이들은 충분히 당업자의 범위 내에 있다. 그러한 기술은 문헌, 예컨대 문헌["Molecular Cloning: A Laboratory Manual", second edition (Sambrook, 1989)]; 문헌["Oligonucleotide Synthesis" (Gait, 1984)]; 문헌["Animal Cell Culture" (Freshney, 1987)]; 문헌["Methods in Enzymology" "Handbook of Experimental Immunology" (Weir, 1996)]; 문헌["Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells" (Miller and Calos, 1987)]; 문헌["Current Protocols in Molecular Biology" (Ausubel, 1987)]; 문헌["PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis, 1994)]; 문헌["Current Protocols in Immunology" (Coligan et al., 1991)]에 충분히 설명되어 있다. 이러한 기술은 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드의 생성에 적용가능하며, 따라서 본 발명의 제조 및 실시에서 고려될 수 있다. 특정한 실시 양태에 특히 유용한 기술은 하기 섹션에서 논의될 것이다.
- [0305] 하기 실시예 및 도면은 당업자에게 본 발명의 다양한 측면의 제조 및 사용 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 제공하도록 개시되며, 본 발명자에 의한 발명으로 간주되는 것의 범주를 제한하고자 하는 것이 아니다.
- [0306] [도면의 간단한 설명]
- [0307] 도 1: muSTAT3 ASO로 처리된 마우스로부터의 CT-26 종양에서의 종양 침윤 백혈구 (비히클 대조구와 비교하여 총 생세포의 %).
- [0308] 도 2: 단일 에이전트로서의 그리고 PD-L1을 표적화하는 항체와 조합된 마우스 STAT3 ASO를 이용한 처리 후 CT-26 종양 부피 (평균 +/- SEM (2a) 및 개개의 마우스 (2b) 및 (2c)).
- [0309] 도 3: 단일 에이전트로서의 그리고 PD-L1 Ab, CTLA-4 Ab, 또는 OX4- 리간드 융합 단백질과 조합된 마우스 STAT3 ASO를 이용한 처리 후 CT-26 종양 부피.
- [0310] 도 4: 단일 에이전트로서의 AZD9150, PD-L1 Ab, 또는 아이소타입 대조 Ab, 또는 AZD9150 + PD-L1 Ab의 조합물을 이용한 처리 후 CT-26 종양 부피.
- [0311] 도 5: JAK1 선택성 저해제로 처리한 마우스로부터의 CT-26 종양에서의 종양 침윤 림프구 (비히클 대조구와 비교하여 총 생세포의 %).
- [0312] 도 6: AZ-JAK1, 항-PD-L1 Ab, 또는 이 두 치료제의 조합물을 이용한 처리 후 CT-26 종양 부피. 평균 ± SEM.
- [0313] 도 7: STAT3 ASO, 항-PD-L1 Ab, 또는 이 두 치료제의 조합물을 이용한 처리 후 CT-26 종양을 갖는 마우스로부터의 종양 샘플 및 혈액 샘플 중의 STAT3 mRNA 수준. 각각의 처리군으로부터의 4개의 샘플의 평균 +/- SEM.
- [0314] **실시예:**
- [0315] **실시예 1. 마우스에서 ASO를 이용한 STAT3 저해가 면역계를 강화함을 보여주는 전임상 연구.**
- [0316] *사용한 안티센스 올리고:*
- [0317] 사용한 ASO 둘 모두는 cET의 화학적 특성 및 포스포로티오에이트 결합을 가진 3'-10-3 겹머이며, 모든 염기는 2'-데옥시뉴클레오시드이다. 윙 부분은 밑줄이 그어져 있다.
- [0318] *마우스 STAT3 ASO: GAAATTCATTCTCCA (서열 번호 11)*
- [0319] *대조 ASO: GGCTACTACGCCGTCA (서열 번호 12)*
- [0320] 올리고는 문헌[Seth et al., (J Med Chem. 52(1): 10-13, 2009)]에 개시된 것과 같은 표준 기술에 따라 합성할 수 있다.
- [0321] CT-26 마우스 결장 종양 세포 (5 x 10⁵/마우스)를 암컷 BALB/c 마우스에 피하 이식하였다. 마우스를 무작위로

(체중을 기반으로 하여) 8개의 군으로 나누고, 50 mg/kg의, PBS 비히클, 비-표적화 대조 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO) (서열 번호 12), 또는 마우스 STAT3 표적화 ASO (서열 번호 11)로 처리하였다. 모든 ASO는 PBS에서 제형화하였으며 종양을 이식한지 2일 후에 시작하여, 5일 온/2일 오프 일정으로 하루 한 번씩 50 mg/kg으로 피하로 투약하였다. 투약 시작 후 12일과 26일에, 각 군으로부터 4마리의 마우스를 선택하고 종양을 수확하여 유세포 분석을 위해 프로세싱하였다. 제12일 (제2주)에 수확한 종양으로부터의 세포를 작은 종양 크기로 인해 분석 전에 풀링하였으며 (pooled), 제26일 (제4주)에 수확한 종양을 개별적으로 분석하였다. CD45+ 세포를 제2주 및 제4주에 정량화하였다. 대식 세포는 제4주에 정량화하였다. 다양한 세포를 면역염색 및 BD FACS 칸토 (Canto) II 유세포 분석기 및 플로우조 (FlowJo) 소프트웨어를 이용하는 유세포 분석에 의해 확인하고 정량화하였다.

[0322] 본 발명의 실시는 달리 지시되지 않으면, 세포 생물학, 면역조직화학 및 면역학에서의 통상적인 기술을 이용하는데, 이들은 충분히 당업자의 범위 내에 있다. 그러한 기술은 문헌["Handbook of Experimental Immunology" (Weir, 1996)] 및 문헌["Current Protocols in Immunology" (Coligan et al., 1991)]에 충분히 설명되어 있다.

[0323] STAT3 ASO로 처리하면, 비히클 및 대조 ASO 처리된 마우스에 비하여, 종양 면역 침윤물이 변화되었다 (도 1). 비히클 및 대조 ASO 처리된 군에 비하여, 마우스 STAT3 ASO 처리된 군에서 총 면역 침윤물 (CD45+ 백혈구)에서의 증가가 제2주 (149%) 및 제4주 (353%)에 관찰되었다. 대식 세포 (CD45+F4/80+)는 제4주에 종양에서 더 낮았다 (65% 감소).

[0324] 종양 침윤 대식 세포의 감소와 함께, 종양 침윤 CD45+ 세포의 상승은 STAT3 ASO 처리와 연관된 면역 조절 및 향상된 항종양 면역 반응을 나타낸다.

[0325] **실시예 2. 항-PD-L1 항체 처리와 조합된 마우스 STAT3 ASO의 동시 처리에 비하여 사전처리가 항종양 활성을 향상시킨다.**

[0326] CT-26 마우스 결장 종양 세포 (5×10^5 /마우스)를 암컷 BALB/c 마우스에 피하 이식하였다. 마우스를 PBS 비히클, 마우스 STAT3 ASO (실시예 1에서 사용된 것과 동일), 항-PD-L1 항체 (항-마우스 PD-L1, 클론 10F.9G2, 래트 IgG2b 아이소타입, 미국 뉴햄프셔주 웨스트 레바논의 바이오엑셀 (BioXCell)로부터 구입), 아이소타입 대조 Ab (래트 IgG2b, 제품 LTF-2, 미국 뉴햄프셔주 웨스트 레바논의 바이오엑셀로부터 구입), 또는 마우스 STAT3 ASO + PD-L1 항체 조합물로 처리하였다. ASO 처리는 처리군으로 무작위화 하기 전 (이식 후 제2일) 또는 무작위화시에 (이식 후 제9일)에 시작하였다. 무작위화시에, ASO 처리를 받은 마우스에서 종양 부피는 ASO 처리를 받지 않은 마우스에서의 종양 부피와 유의하게 다르지 않았다. 각 처리 군에는 10마리의 마우스가 있었다. ASO는 PBS에서 제형화하였으며 피하 투약하였다. Ab를 또한 PBS에서 제형화하였으며, 복강내로 투약하였다. 실험 과정 동안, 종양 길이 및 폭은 캘리퍼스에 의해 측정하였으며, 종양 부피는 하기 식을 이용하여 계산하였다: 부피 = (길이 x 폭²) * π /6.

[0327] 도 2a에 나타낸 바와 같이, 대조 Ab를 이용한 처리는 종양 성장에 유의한 영향을 주지 않았다. 단일 에이전트로서 마우스 STAT3 ASO 및 항-PD-L1 Ab로 처리한 경우 종양 성장에 대해 온건한 영향을 주었다. STAT3 ASO + 항-PD-L1 Ab 조합물의 처리는 단일 에이전트 처리보다 더 큰 항종양 활성을 가졌다.

[0328] 항-PD-L1 Ab로 처리하기 전에 STAT3 ASO의 처리를 시작한 경우 (ASO 처리를 제2일에 시작하고 Ab 처리를 제9일에 시작함), 종양 퇴행이 10마리중 6마리의 마우스 (60%)에서 관찰된 반면, 두 처리 모두를 제9일에 시작한 경우에는 종양 퇴행이 10마리 중 1마리의 마우스 (10%)에서만 관찰되었다. 도 2a는 평균 +/- SEM을 보여준다. 도 2b는 동시에 투약될 경우 조합물에 대한 개별 동물을 보여준다. 도 2c는 ASO가 사전 투약될 경우 조합물에 대한 개별 동물을 보여준다.

[0329] 이들 결과는 관문 저해제 처리 전에 STAT3 ASO 처리를 시작하는 것이 더 큰 항종양 활성을 제공함을 나타낸다. 따라서, STAT3 ASO 처리의 면역 자극 효과가 관문 저해제 처리시에 이미 진행중이도록 할 수 있는 것이 유익한 것으로 보인다.

[0330] **실시예 3. 마우스 STAT3 ASO 처리의 추가는 마우스 동계 종양 모델에서, PD-L1 및 CTLA-4를 표적화하는 항체, 및 OX40 리간드 융합 단백질의 항종양 활성을 향상시킨다**

[0331] 사용한 관문 저해제 또는 면역 자극제:

[0332] 항-마우스 CTLA-4: 클론 9D9, 마우스 IgG2b 아이소타입. 미국 뉴햄프셔주 웨스트 레바논의 바이오엑셀로부터 구매

[0333] 항-마우스 PD-L1: 클론 10F.9G2, 래트 IgG2b 아이소타입. 미국 뉴햄프셔주 웨스트 레바논의 바이오엑셀로부터 구매

[0334] 마우스 OX40 리간드 융합 단백질 (mIgG1Fc_mTF2mOX40L 또는 OX40FP)을 사내에서 생성하였다. DNA 및 아미노산 서열은 각각 서열 번호 37 및 서열 번호 38로서 제시된다.

[0335] PD-L1 또는 CTLA-4를 표적화하는 항체, 또는 OX40 리간드 융합 단백질과 조합된 마우스 STAT3 ASO의 항종양 효능을 3가지의 마우스 동계 종양 모델에서 평가하였다: CT-26 (결장직장), 4T1 (유방) 및 A20 (림프종). 각 모델을 위한 종양 이식 및 처리 일정의 상세 사항은 하기 표에 있다. STAT3 ASO (실시에 1에서 사용된 것과 동일한 ASO)를 위한 주당 매일 5회의 투약 일정은 5일 처리 후 2일 무처리였다. 항체를 위한 주당 2회의 투약 일정은 일주일 과정에 걸쳐 균일한 간격의 주당 2회 처리 (예를 들어, 월요일과 목요일 또는 화요일과 금요일 등)였다. ASO 처리는 처리군으로 무작위화하기 전에 시작하였다. 무작위화시에, ASO 처리를 받은 마우스에서의 종양 부피는 ASO 처리를 받지 않은 마우스에서의 종양 부피와 유의하게 상이하지 않았다. 각 처리 군에는 10마리의 마우스가 있었다.

	CT-26	4T1	A20
이식	오십만개의 세포, 오른쪽 옆구리에 피하로	유방 지방 패드에 사십만개의 세포	백만개의 세포, 오른쪽 옆구리에 피하로
무작위화시에 종양 부피	평균: 147 mm ³ 범위: 58 내지 248 mm ³	평균: 123 mm ³ 범위: 70 내지 182 mm ³	평균: 218 mm ³ 범위: 122 내지 277 mm ³
ASO 처리의 일정	Ab 또는 FP로 처리하기 7일 전에 시작, 4주 동안 주당 매일 5회, 피하 투약	Ab 또는 FP로 처리하기 5일 전에 시작, 1주 동안 주당 매일 7회, 이어서 3주 동안 주당 매일 5회, 피하 투약	Ab 또는 FP로 처리하기 4일 전에 시작, 3주 동안 주당 매일 5회, 피하 투약
무작위화(이식 후 일수)	7	5	13
PD-L1 및 CTLA-4 항체를 위한 투약 일정 (무작위화한지 1일 후에 시작)	3주 동안 주당 2회, 복강내 투약	1주 동안 주당 2회, 복강내 투약	2주 동안 주당 2회, 복강내 투약
OX40 융합 단백질을 위한 투약 일정 (무작위화한지 1일 후에 시작)	1주 동안 주당 2회, 복강내 투약	1주 동안 주당 2회, 복강내 투약	1주 동안 주당 2회, 복강내 투약

[0336] 마우스 STAT3 ASO를 PBS에서 제형화하였으며 피하로 투약하였다. Ab 및 FP를 또한 PBS에서 제형화하였으며, 복강내로 투약하였다. 실험 과정 동안, 종양 길이 및 폭은 캘리퍼스에 의해 측정하였으며, 종양 부피를 하기 식을 이용하여 계산하였다: 부피 = (길이 x 폭²) * π/6.

[0338] 결과를 도 3에 나타낸다. 이 실험에서 투여된 투여량과 일정에서, 항-PD-L1 및 항-CTLA-4 Ab, OX40 리간드 FP, 및 마우스 STAT3 표적화된 ASO는 약한 내지 온건한 단일 에이전트 항종양 활성을 가졌다. 마우스 STAT3 ASO 처리의 추가는 항체 및 FP 처리의 항종양 활성을 많은 경우에 유의하게 향상시켰다. 일부의 경우에, 효과는 상승 작용적인 것으로 보였다. PD-L1 Ab, CTLA-4 Ab, 또는 OX40 리간드 FP에의 마우스 STAT3 ASO의 첨가는 CT-26 및 A20 모델에서 평균 종양 정체 또는 퇴행을 야기하였다. 4T1 모델에서, 마우스 STAT3 ASO + CTLA-4 항체의 조합

물은 종양 퇴행을 유도하였다. 게다가, 조합물 처리는 CT-26, 4T1 및 A20 모델에서 마우스 STAT3 ASO + CTLA-4 Ab 조합물에 의해 마우스의 30% (10마리 중 3마리); A20 모델에서 PD-L1 조합물에 의해 20% (10마리 중 2마리), 및 A20 모델에서 OX40 조합물에 의해 50% (10마리 중 5마리)를 비롯하여, 일부 개별 마우스에서 장기적인 완전한 응답 (처리 종료 후 수 주간 측정가능한 종양이 없음)을 유도하였다.

[0339] 이들 모델에서 단일 에이전트에 비하여 조합물 처리의 향상된 항종양 활성은, STAT3 표적화된 안티센스 분자를 이용한 처리가 여러 종양 타입에서 PD-L1, CTLA-4, 및 OX40을 표적화하는 에이전트를 비롯한, 사용된 관문 저해제 또는 면역 자극제의 활성을 향상시키는 잠재력을 나타낸다. 조합 활성은 STAT3 ASO를 이용한 처리가 종양에서 항종양 면역 침윤물의 증가를 야기하는 기작과 일치하며 (실시에 1), 항종양 면역 침윤물의 증가는 면역 관문이 PD-L1 및 CTLA-4를 표적화하는 치료제를 이용한 처리에 의해 차단될 경우 또는 OX40 작용제와 같은 면역 자극제가 사용될 경우 종양 성장 억제 향상을 가능하게 한다.

[0340] **실시에 4. CT-26 종양을 보유한 마우스에서 대조 ASO 및 대조 항체에서는 항종양 활성이 관찰되지 않는다**

[0341] 실시예 3에서의 CT-26 실험은 음성 대조구로서 대조 ASO (AZD9150) 및 아이소타입 대조 항체 (래트 IgG2b, 제품 LTF-2, 미국 뉴햄프셔주 웨스트 레바논의 바이오엑셀로부터 구매)를 이용한 처리를 포함하였다. 인간 STAT3 표적화된 ASO 분자 AZD9150은 마우스 STAT3 서열과 교차 반응하지 않으므로 쥐 종양 모델에서 대조구로서 사용될 수 있다. 도 4에 나타난 바와 같이 그리고 실시예 2 및 3에 개시된 마우스 표적화된 STAT3 ASO에서의 활성과는 대조적으로, 대조 ASO를 이용한 처리는 항-PD-L1 항체의 활성 향상을 야기하지 않았다. 이들 결과는 이들 에이전트의 표적 활성으로 인한 마우스 STAT3 ASO 및 항-PD-L1 항체의 활성과 일치한다.

[0342] **실시에 5. 소분자형 JAK1 저해제를 이용한 STAT3 저해는 면역계를 저해한다**

[0343] CT-26 마우스 결장 종양 세포 (5×10^5 /마우스)를 암컷 BALB/c 마우스에 피하 이식하였다. 이식한지 10일 후에, 마우스를 122 mm³의 평균 종양 부피로 4개의 군으로 무작위로 나누고 JAK1 선택적 소분자형 저해제 (AZ-3; 문헌 [Woessner et al., Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 54: 931, 2013]), 또는 비히클로 처리하였다. AZ-3는 본원에서 이후에는 AZ-JAK1로 칭한다. AZ-JAK1는 물에서 제형화하였으며 11일 동안 100 mg/kg로 하루 두 번 경구 투약하였다. 제11일에, 종양을 수확하고 유세포 분석을 위해 프로세싱하였다. 각 군으로부터의 종양을 분석 전에 풀링하여서, 유세포 분석에 의한 저 백분율 세포 집단의 검출을 가능하게 하였다. CD45+ 백혈구, CD4+ 및 CD8+ T-세포, CD11c+MHCII+ 수지상 세포, 및 CD11b+Gr1+ 골수 억제자 세포를 정량화하였다.

[0344] JAK1 선택적 저해제를 이용한 처리는 T-세포, 수지상 세포, 및 골수 억제자 세포의 감소를 야기하며 (도 5), 이는 상기 처리가 STAT3 ASO를 이용한 처리 (도 1)와 대조적으로 광범위하게 면역 억제성임을 나타낸다. 데이터는 STAT3 표적화된 안티센스 올리고뉴클레오티드를 이용한 STAT3의 선택적 저해가 항종양 면역 반응을 향상시킬 수 있는 한편, STAT3 뿐만 아니라 STAT 1, 4 및 6을 비롯한 여러 STAT을 통한 시그널링을 저해하는 JAK1의 저해는 광범위하게 면역 억제성임을 나타낸다.

[0345] **실시에 6. JAK1 저해는 확립된 CT-26 종양을 보유한 마우스에서 항-PD-L1 및 항-CTLA-4 Ab의 항-종양 활성을 길항한다**

[0346] CT-26 마우스 결장 종양 세포 (5×10^5 /마우스)를 암컷 BALB/c 마우스에 피하 이식하였다. 이식한지 14일 후에, 마우스를 (종양 부피를 기반으로 하여) 10개의 군으로 무작위로 나누고, PBS 비히클, 하루 두 번 100 mg/kg의 JAK1 선택적 소분자 (AZ-JAK1), 1주일에 두 번 2.5 mg/kg의 항-PD-L1 항체 (클론 10F.9G2), 1주일에 두 번 1 mg/kg의 항-CTLA-4 항체 (클론 9D9), 또는 AZ-JAK1 + 항-PD-L1 Ab 또는 AZ-JAK1 + 항-CTLA-4 Ab의 조합물로 처리하였다. AZ-JAK1은 물에서 제형화하였으며 경구로 투약하였다. 항체는 PBS에서 제형화하고 복강내로 투약하였다. 처리 시작시에 평균 종양 크기는 대략 140mm³였다. 실험 과정 동안, 종양 길이 및 폭은 캘리퍼스에 의해 측정하였으며, 종양 부피는 하기 식을 이용하여 계산하였다: 부피 = (길이 x 폭²) * π /6.

[0347] 결과를 도 6에 나타낸다. 단일 에이전트로서 항-PD-L1 및 항-CTLA-4 항체를 이용한 처리는 종양 성장 저해를 야기하였다. AZ-JAK1 처리는 비히클 대조구에 비하여 평균 종양 성장 속도에서 온건한 증가를 야기하였다. 항-PD-L1 Ab 또는 항-CTLA-4 Ab에의 AZ-JAK1의 첨가는 항체의 항종양 활성을 길항하여, 단일 에이전트 AZ-JAK1과 유사한 종양 성장 속도를 야기하였다. 모든 처리는 처리 과정에 걸쳐 유의한 외형적 신호 없이 잘 용인되었다. 처리 마지막에 평균 마우스 중량은 모든 군에서 처리 시작시의 중량보다 컸다.

[0348] STAT3 ASO의 추가에 의한 항-PD-L1 또는 항-CTLA-4 Ab 활성의 향상 (도 2 및 3), 대 JAK1 억제제의 추가에 의

한 항체 활성의 길항 (도 6)은, STAT3 억제 기작 (STAT3 ASO 처리에 의한 STAT3 단백질의 선택적 감소, 대 JAK1 저해제 처리에 의한, STAT 1, 3, 4 및 6을 비롯한 다수의 STAT에 의해 매개되는 시그널링의 저해)에 의존하는 차등적 효과를 나타낸다.

[0349] STAT3 ASO 처리제의 면역 자극 및 항-종양 활성 (도 1 내지 3), 대 AZ-JAK1을 이용한 항-PD-L1 및 항-CTLA-4 Ab 활성의 길항 및 면역 억제(도 5 및 6)는 STAT3 ASO + 항-PD-L1 Ab 처리제의 조합 활성이 직접적이고 선택적인 STAT3 저해에 의존하며, JAK1 저해와 같은 JAK/STAT 시그널링의 저해에의 다른 접근법에 의해 복제될 수 없음 (그리고 사실상 길항됨)을 나타낸다.

[0350] **실시예 7. STAT3 ASO 처리시에 CT-26 종양 및 혈액에서 STAT3 억다운을 보여주는 데이터**

[0351] STAT3 표적화된 ASO에 의한 STAT3 mRNA의 억다운을 확인하기 위하여, 피하 CT-26 종양을 보유한 마우스를 비히클, 마우스 STAT3 ASO (실시예 1에서 사용된 것과 동일한 ASO; 3.5주 동안 하루 한 번, 50 mg/kg), 항-PD-L1 Ab (항-마우스 PD-L1: 클론 10F.9G2, 래트 IgG2b 아이소타입; 주당 2회, 3.5주 동안 2.5 mg/kg) 또는 STAT3 ASO + 항PD-L1 Ab의 조합물로 처리하고, 실험 마지막에 혈액 및 종양 샘플을 수집하고 STAT3 mRNA 수준에 대해 분석하였다. 각 처리군 내의 4마리의 마우스로부터의 샘플을 수집하고 qRT-PCR 분석을 위해 프로세싱하였다. 팩스진 (Paxgene) 시약에 혈액을 수집하고 키트 설명서 (퀴아젠 (Qiagen), 카탈로그 번호 762164)에 따라 RNA를 준비하였다. 종양을 RNeasy (퀴아젠)에 수집하고 qRT-PCR 분석을 위해 키트 설명서 (퀴아젠, 카탈로그 번호 74104)에 따라 RNA로 프로세싱하였다. qRT-PCR에 의해 측정된 STAT3 mRNA 수준을 각 샘플에서 GAPDH mRNA의 양에 대하여 정규화하였다. 프라이머/프로브 세트는 에이비아이 (ABI)로부터 구매하였으며: 마우스 STAT3는 카탈로그 #4331182이고 마우스 GAPDH는 카탈로그 #4352339E였다.

[0352] STAT3 ASO 처리 후, 혈액 및 종양에서 STAT3 mRNA 억다운은 각각 53% 및 70%였다 (도 7). PD-L1 Ab + STAT3 ASO로 처리된 마우스의 STAT3 mRNA 억다운은 STAT3 ASO 단독으로 처리된 마우스에서와 유의하게 다르지 않았다.

[0353] **실시예 8. AZD9150로 처리된 DLBCL 환자에서의 유전자 발현 변화**

[0354] 처리 시작 전 및 처리 시작 후 4 내지 6주에 AZD9150로 처리된 암 환자로 부터 임상 체1상 시험에서 종양 생검을 수집하였다. 제1, 3 및 5일에 첫 주 동안 환자는 3회 로딩 용량, 2 또는 3 mg/kg의 AZD9150을 받고, 그 후 매주 용량을 받았다. 9개의 생검 세트는 미만성 거대 B 세포 림프종 환자로 부터 유래되고, 두 세트는 여포성 림프종 환자로 부터 유래되고, 하나는 비소세포 폐암 환자로 부터 유래되었다. 생검을 포르말린 고정하고 파라핀 매립하고 절개하였다. RNA를 각 생검의 6개의 5 마이크로미터 섹션으로부터 단리하고 594개의 면역-관련 유전자를 나타내는 엔카운터 인간 면역학 코드세트 (nCounter Human Immunology Codeset)를 이용하는 나노스트링 (Nanostring) 유전자 발현 프로파일링 분석을 하였다. 미가공 데이터를 문헌[Veldman-Jones et al., (Cancer Research. 75:2587, 2015)]에 따라 보정하고 기저선 처리전 샘플과 비교하여 처리시 변화에 대해 분석하였다. DLBCL에서 최대의 그리고 통계적으로 가장 관련된 유전자 발현 변화의 자율 클러스터링 (unsupervised clustering)을 나타내는 히트맵을 생성하였다. AZD9150-상향조절 유전자 중에서, PD1-표적화 치료 항체인 펌브롤리주맙의 임상적 이점과 상관되는 것으로 보고된 (문헌[Plimack et al, J Clin Oncol 33, 2015 (suppl; abstr 4502)] "인터페론 감마 유전자 시그니처"를 포함하는 6개 유전자 중 5개가 있다. 이들 5개의 AZD9150-상향조절 "인터페론 감마 유전자 시그니처" 유전자는 STAT1, IFN-감마, CXCL9, CXCL10, 및 IDO이다. 이들 데이터는 환자의 AZD9150 처리 후 종양 미세환경에서의 면역 조절을 나타내며, AZD9150 처리가 환자의 종양을 PD(L)1 축 치료법에 더 응답성이 되도록 만들 수 있음을 시사한다.

[0355] **실시예 9. 유망한 조합물의 시험**

[0356] MEDI4736 및 AZD9150 조합물의 임상 실험을, 상기 조합물에 대한 안전한 용량을 확립하고 어느 하나의 단독 치료에 비하여 탁월한 임상 반응율에 대해 테스트하기 위하여 두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN) 및 미만성 거대 B 세포 림프종 (DLBCL)에서 계획한다. SCCHN에서의 단일요법제 MEDI4736 및 DLBCL에서의 AZD9150 또는 항-PD1 요법제에 대한 이전의 임상 실험에서의 임상 반응의 표시를 기반으로 하여 징후를 선택하였다.

[0357] AZD9150을 염수에서 제형화하고 치료의 제1, 3, 5일에 그리고 그 후 매주 주입을 통해 투여한다. MEDI4736을 염수에서 제형화하고 첫 번째 AZD9150 투여와 동시에 또는 AZD9150 투여의 1, 2 또는 그 이상의 주 후에 시작하여, 2주에 한 번씩 정맥 주입을 통해 투여하여 AZD9150 로딩 용량기를 허용한다.

[0358] **실시예 9a: 두경부의 편평 세포 암종 (SCCHN)의 시험**

[0359] 이 연구의 대상체는 18세 이상일 것이 요구되며 고형 종양에서의 반응 평가 기준 (RECIST) 가이드라인 v1.1에

따른 적어도 하나의 측정가능한 병변을 갖는 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인된 SCCHN을 가진다.

[0360] *SCCHN 시험의 설계*

[0361] 본 연구는 RECIST 기준을 이용하여 단일요법제에 대한 조합물의 용량, 안전성 및 탁월한 효능을 확립하기 위한 AZD9150 단독에 대한 항-PD-L1 항체 (MEDI4736) 및 STAT3 ASO (AZD9150)의 조합물의 공개 (open-label) 1/2상 연구이다.

[0362] 제1a상: 안전성 및 제1b상 용량을 확립하기 위하여, 대상체의 소 코호트 (예를 들어, 6)에게 최대 3 mg/kg의 AZD9150 (3 mg/kg에서 시작하고 안전성 문제가 있으면 낮춰짐) 및 3 또는 10 mg/kg의 MEDI4736의 조합물을 제공한다.

[0363] 제1b상: 최대 50명의 환자는 제1a상에서 확립된 AZD9150 + MEDI4736의 용량을 받으며, 최대 50명의 환자는 조합물에서 사용되는 것과 동일한 용량의 AZD9150 단독을 받을 것이다. SCCHN에서의 MEDI4736의 이전의 임상 실험으로부터의 MEDI4736 단일요법제 반응율을 병용 요법과의 또 다른 비교자로서 이용할 것이다.

[0364] 임상 반응을 상관시키기 위하여 PDL-1 종양 발현의 기저선 수준을 모든 대상체에 대해 취득할 것이다. 또한, 일부 순환 백혈구 집단 (예를 들어, 골수 유래 억제자 세포, MDSC)을 임상 반응에의 상관성을 평가하기 위하여 면역표현형분석법에 의해 모니터링할 것이다.

[0365] 전체 환자 집단 또는 바이오마커-규정된 하위세트에서 그의 단일요법제 권장 용량의 어느 한 약물에 비하여 AZD9150 및 MEDI4736 조합물의 탁월한 반응율 또는 생존 이득으로서 성공을 정의한다.

[0366] **실시예 9b: 미만성 큰 B 세포 림프종 (DLBCL) 시험**

[0367] 이 연구의 대상들은 18세 이상일 것이 요구되며 국제 워킹 군(International Working Group) (IWG) 기준에 따라 적어도 하나의 측정가능한 병변을 가지고 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인된 DLBCL을 가진다. 자격이 되는 환자는 자기조직 줄기 세포 이식 (ASCT)에 실패했거나 적어도 두 가지의 이전의 다중-제제 화학치료 요법을 받았거나 ASCT를 위한 후보가 아니었다.

[0368] *DLBCL 시험의 설계*

[0369] 본 연구는 IWG 기준을 이용하여 조합물 대 단일요법제의 용량, 안전성 및 탁월한 효능을 확립하기 위한 항-PD-L1 항체 (MEDI4736) 및 AZD9150의 조합 대 MEDI4736 단독의 공개 1/2상 연구이다.

[0370] 제1a상: 안전성 및 1b 상 투여량을 확립하기 위하여, 대상의 소 코호트(예를 들어, 6)에게 최대 3 mg/kg AZD9150 (3 mg/kg에서 시작하고 안전성 문제가 있으면 낮춰짐) 및 3 또는 10 mg/kg MEDI4736의 조합이 제공될 것이다.

[0371] 제1b상: 최대 50명의 환자가 1a 상에서 확립된 AZD9150 + MEDI4736의 투여량이 제공될 것이며 최대 50명의 환자가 조합에서 사용되는 것과 동일한 투여량의 MEDI4736 단독이 제공될 것이다. DLBCL에서의 AZD9150의 이전의 임상 실험으로부터의 AZD9150 단독요법 반응율이 병용 요법에 대한 다른 비교자로서 이용될 것이다.

[0372] 임상 반응을 상관시키기 위하여 PDL-1 종양 발현의 기저선 수준이 모든 대상에 대해 취득될 것이다. 또한, 일부 순환 백혈구 집단 (예를 들어, 골수 유래 억제자 세포, MDSC)이 임상 반응에의 상관성을 평가하기 위하여 면역표현형분석법에 의해 모니터링될 것이다.

[0373] 전체 환자 집단 또는 바이오마커-정의된 서브세트에서 그의 권장 단독요법 투여량의 어느 한 약물에 비하여 AZD9150 및 MEDI4736 조합의 탁월한 반응율 또는 생존 이득으로서 성공이 정의된다.

[0374] **기타 실시 양태**

[0375] 전술한 설명으로부터, 본원에 기술된 발명에 대하여 변화 및 변형을 행하여서 본 발명을 다양한 사용 및 조건에 적용할 수 있다는 것이 명백해질 것이다. 그러한 실시 양태가 또한 하기 청구범위의 범주 내이다.

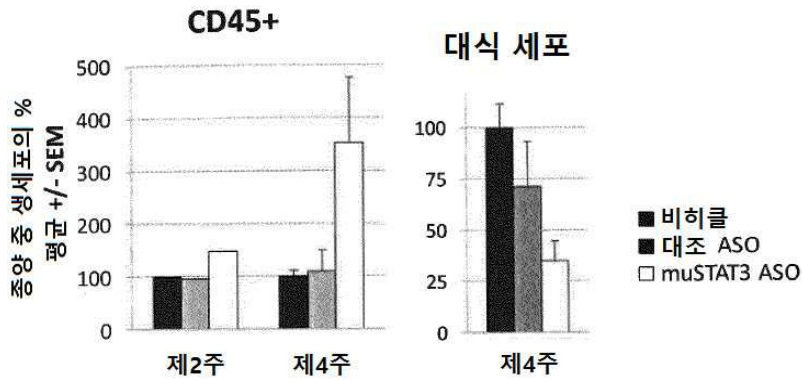
[0376] 본원에서 변수의 임의의 정의에서의 요소의 목록의 인용은 그 변수를 열거된 요소들의 임의의 단일 요소 또는 조합 (또는 하위조합)으로서 정의하는 것을 포함한다. 본원에서의 실시 양태의 인용은 임의의 단일 실시 양태로서의 또는 임의의 다른 실시 양태와 조합된 그 실시 양태 또는 이의 부분을 포함한다.

[0377] 본 명세서에서 언급된 모든 특허 및 간행물은 마치 각각의 독립적인 특허 및 간행물이 구체적으로 그리고 개별적으로 참고로 포함되는 것으로 지시된 것처럼 동일한 정도로 본원에 참고로 포함된다.

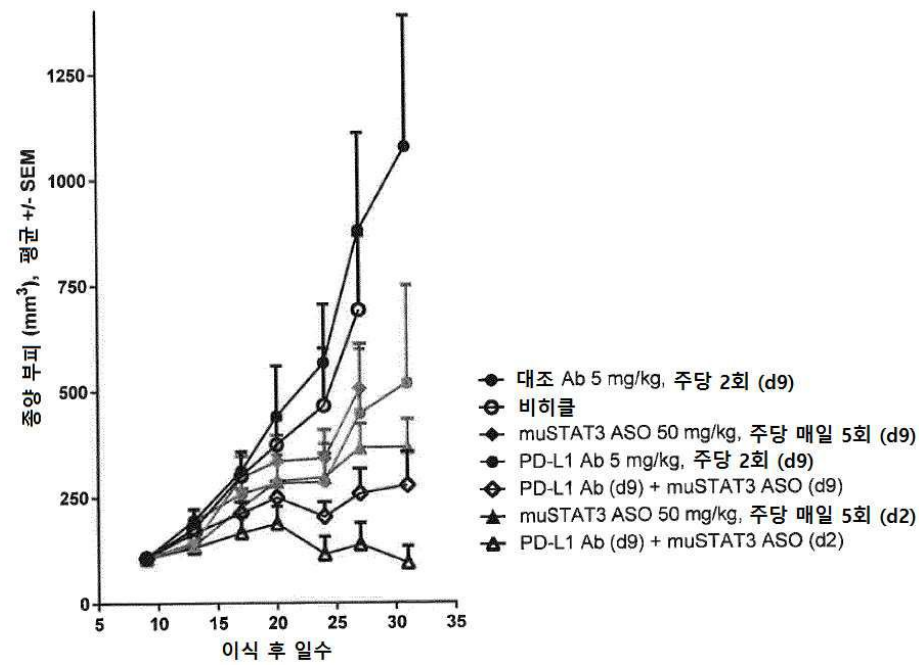
- [0378] 하기의 추가의 측면이 제공된다:
- [0379] 1. (i) 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편; 및 (ii) STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물을 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법.
- [0380] 2. 항-PD-L1 항체는 MEDI4736, MPDL3280A, BMS936559, 2.7A4, AMP-714 및 MDX-1105로부터 선택되는, 측면 1의 방법.
- [0381] 3. 항-PD-L1 항체는 MEDI4736인, 측면 2의 방법.
- [0382] 4. STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 STAT1, STAT4, 또는 STAT6을 저해하지 않는, 측면 1의 방법.
- [0383] 5. STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 안티센스 올리고뉴클레오티드인, 측면 1의 방법.
- [0384] 6. STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150인, 측면 1 또는 측면 5의 방법.
- [0385] 7. 환자는 암을 갖는, 측면 1의 방법.
- [0386] 8. 암은 비소세포 폐암 (NSCLC)을 포함하는 폐암; 삼중 음성 유방암을 포함하는 유방암; 장액성 난소암을 포함하는 난소암; 췌장암; 결장직장암; 간세포 암종 (HCC); 두경부 편평 세포 암종 (HNSCC)을 포함하는 두경부암; 및 미만성 거대 B-세포 암종 (DLBCL)을 포함하는 림프종으로부터 선택되는, 측면 7의 방법.
- [0387] 9. 암세포는 PD-L1을 발현하는, 측면 8의 방법.
- [0388] 10. 필요로 하는 환자는 PD-L1 양성인 암을 갖는 것으로 확인된, 측면 1의 방법.
- [0389] 11. 항-PD-L1 항체는 MEDI4736이며, STAT3에 표적화되는 안티센스 화합물은 AZD9150인, 측면 1 내지 측면 10 중 어느 하나에 따른 방법.
- [0390] 12. 약 1 mg/kg 내지 20 mg/kg의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 1 mg/kg 내지 10 mg/kg의 AZD9150을 필요로 하는 환자에게 투여하는, 측면 11에 따른 방법.
- [0391] 13. 치료제를 1주마다, 2주마다, 3주마다, 또는 4주마다 투여하는, 측면 12의 방법.
- [0392] 14. 투약당 약 1 mg/kg의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 3 mg/kg의 AZD9150을 투여하는, 측면 1 내지 13 중 어느 하나의 방법.
- [0393] 15. MEDI4736 또는 AZD9150 단독의 투여와 비교하여 무진행 생존성 및/또는 전체 생존성을 증가시키는, 측면 1 내지 14 중 어느 하나의 방법.
- [0394] 16. MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편의 투여는 정맥내 주입에 의한 것인, 측면 2 내지 15 중 어느 하나의 방법.
- [0395] 17. AZD9150의 투여는 정맥내 주입에 의한 것인, 측면 4 내지 16 중 어느 하나의 방법.
- [0396] 18. AZD9150 및 MEDI4736, 또는 이의 항원-결합 단편을 동시에 또는 상이한 시점에 투여하는, 측면 2 내지 15 중 어느 하나의 방법.
- [0397] 19. MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150을 포함하는 암 치료용 키트.
- [0398] 20. 제약상 허용가능한 희석제 또는 담체와 결부된 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 AZD9150을 포함하는 제약 조성물.
- [0399] 21. 약 1 mg/kg 내지 약 20 mg/kg의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 용량의 AZD9150을 제공하도록 제형화된, 측면 20의 제약 조성물.
- [0400] 22. 약 1 mg/kg의 용량의 MEDI4736 또는 이의 항원-결합 단편, 및 약 3 mg/kg의 용량의 AZD9150을 제공하도록 제형화된, 측면 21의 제약 조성물.
- [0401] 23. 인간과 같은 온혈 동물에서의 면역 침윤 세포의 조절 방법으로서, 유효량의 AZD9150 전에, 유효량의 AZD9150 후에 또는 유효량의 AZD9150과 동시에 유효량의 MEDI4736 또는 이의 항원 결합 단편을 상기 동물에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

도면

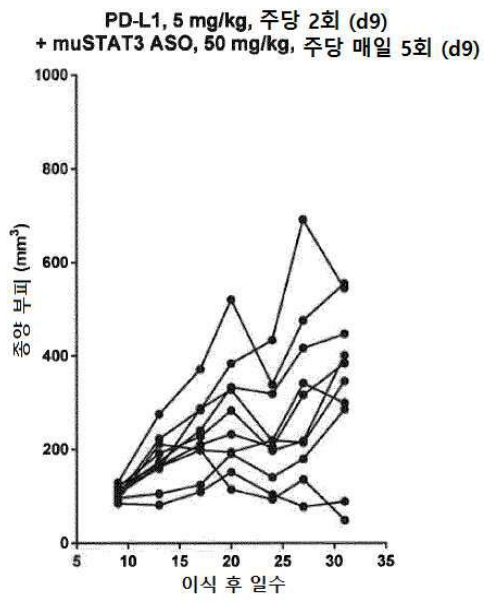
도면1



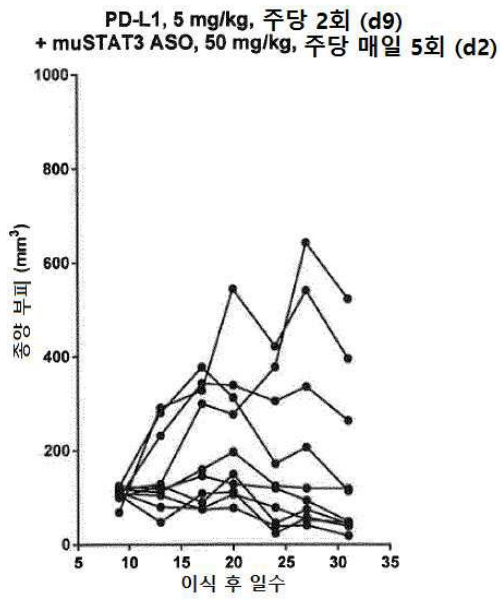
도면2a



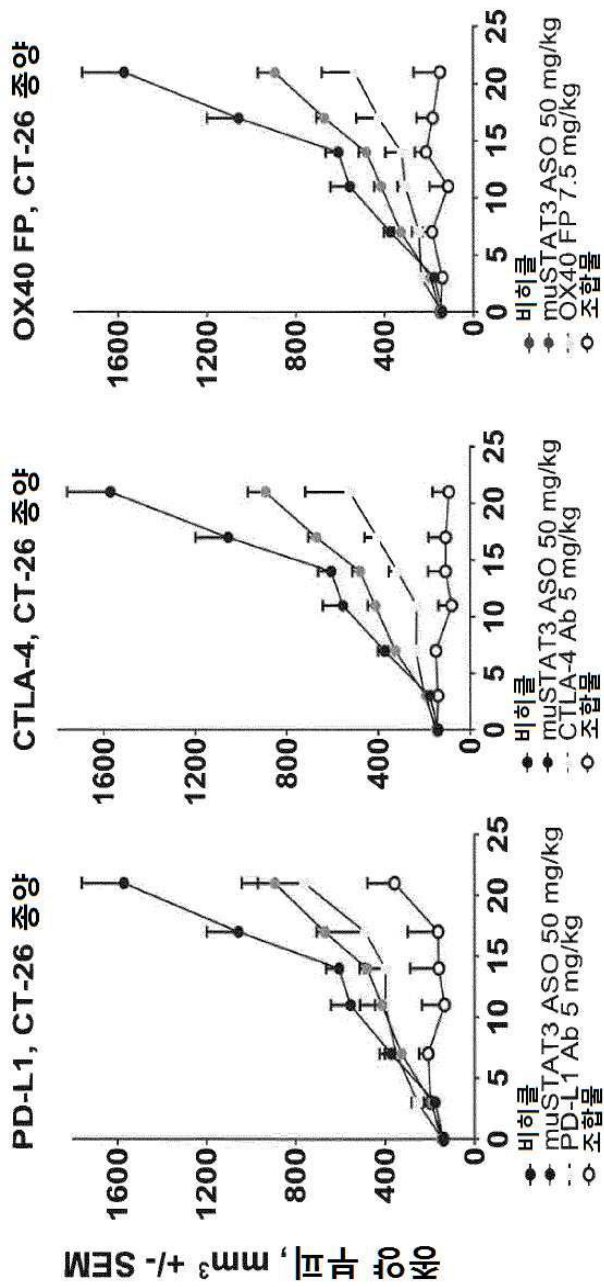
도면2b



도면2c

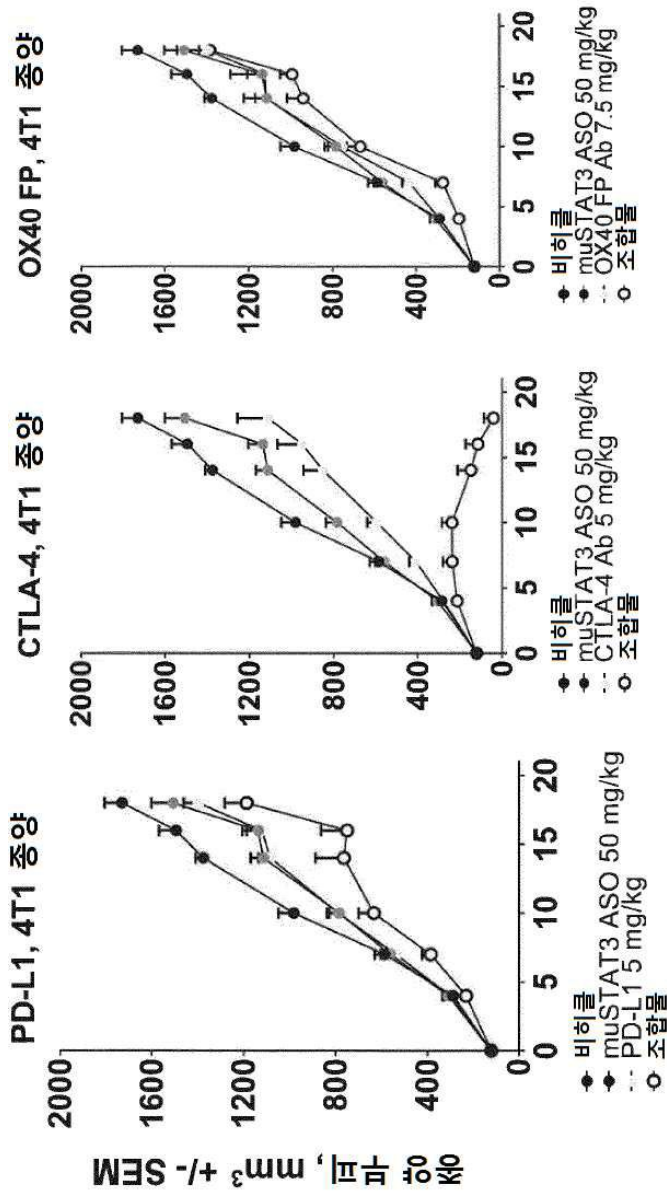


도면3a



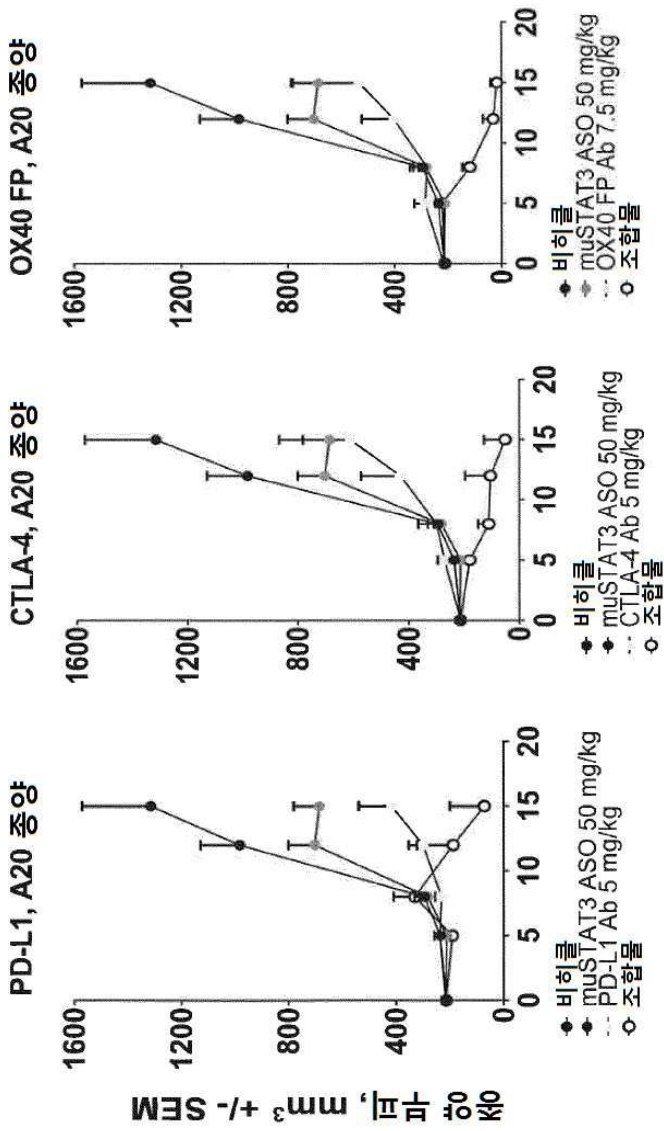
무작위화 후 일수

도면3b



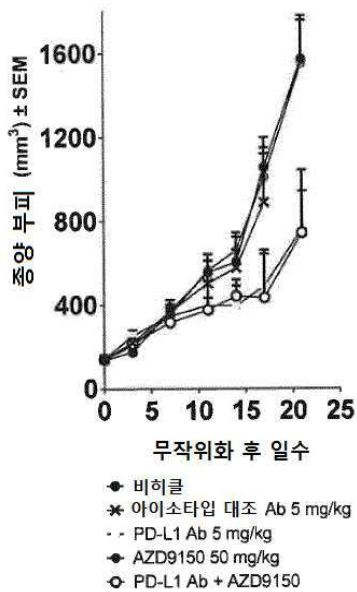
무작위화 후 일수

도면3c

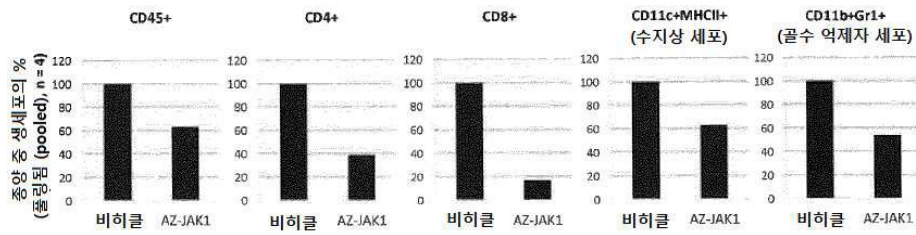


무작위화 후 일수

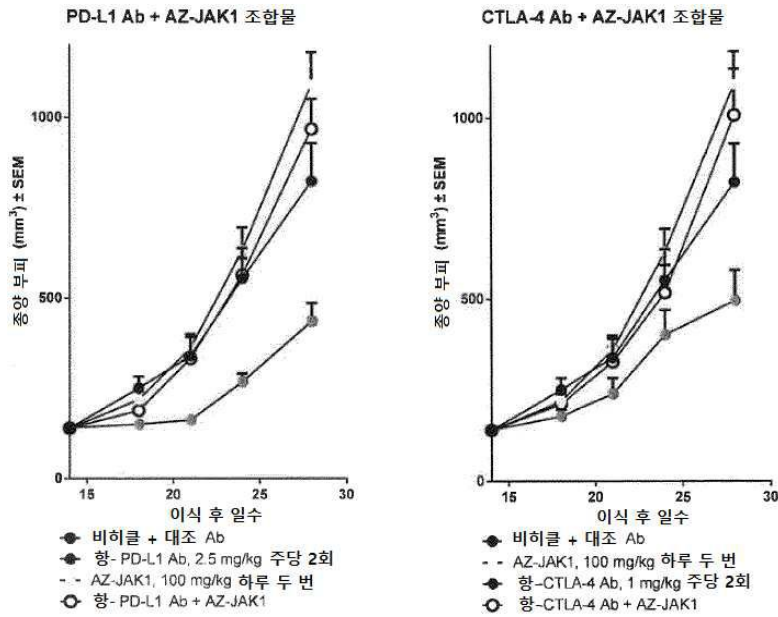
도면4



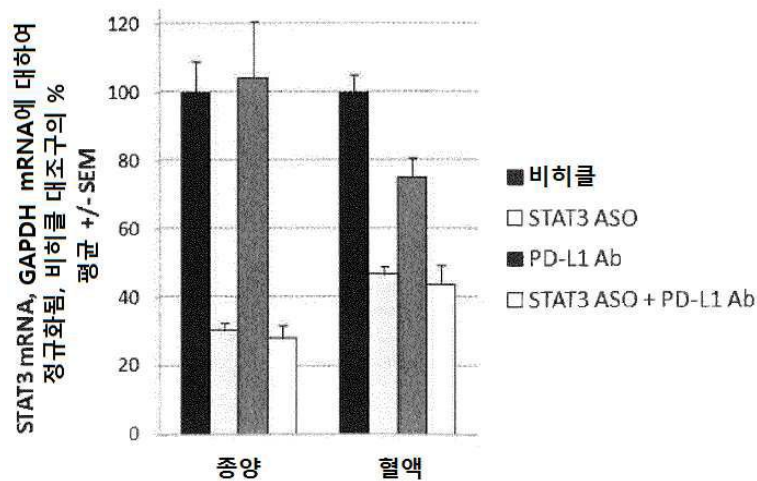
도면5



도면6



도면7



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> AstraZeneca AB

<120> COMBINATION

<130> 200252-WO-PCT

<160> 38

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 4978

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

```

ggtttccgga gctgcggcgg cgcagactgg gagggggagc cgggggttcc gacgtcgcag      60
ccgaggggaac aagccccaac cggatcctgg acaggcacc cggcttggcg ctgtctctcc      120
ccctcggtc ggagaggccc ttcggcctga gggagcctcg ccgccctcc ccggcacacg      180
cgcagccccg gcctctcggc ctctgccgga gaaacagttg ggaccctga ttttagcagg      240

atggcccaat ggaatcagct acagcagctt gacacacggt acctggagca gtcctatcag      300
ctctacagtg acagcttccc aatggagctg cggcagtttc tggccccttg gattgagagt      360
caagattggg catatgcggc cagcaaagaa tcacatgcca ctttgggtgtt tcataatctc      420
ctgggagaga ttgaccagca gtatagccgc ttcttgcaag agtcgaatgt tctctatcag      480
cacaatctac gaagaatcaa gcagtttctt cagagcaggt atcttgagaa gccaatggag      540
attgcccgga ttgtggcccg gtgcctgtgg gaagaatcac gccttctaca gactgcagcc      600
actgcggccc agcaaggggg ccaggccaac caccacacag cagccgtggt gacggagaag      660

cagcagatgc tggagcagca cttcaggat gtccggaaga gagtgcagga tctagaacag      720
aaaatgaaag tggtagagaa tctccaggat gactttgatt tcaactataa aaccctcaag      780
agtcaaggag acatgcaaga tctgaatgga aacaaccagt cagtgaccag gcagaagatg      840
cagcagctgg aacagatgct cactgcgctg gaccagatgc ggagaagcat cgtgagtgag      900
ctggcggggc ttttgtcagc gatggagtac gtgcagaaaa ctctcacgga cgaggagctg      960
gctgactgga agaggcggca acagattgcc tgcattggag gcccgcccaa catctgccta      1020
gatcggttag aaaactggat aacgtcatta gcagaatctc aacttcagac ccgtcaacaa      1080

attaagaaac tggaggagt gacgcaaaaa gtttctaca aaggggacc cattgtacag      1140
caccggccga tgctggagga gagaatcgtg gagctgttta gaaacttaat gaaaagtgcc      1200
tttgtgtgg agcggcagcc ctgcatgcc atgcatctg accggcccct cgtcatcaag      1260
accggcgtcc agttcactac taaagtcagg ttgctgttca aattccctga gttgaattat      1320
cagcttaaaa ttaaagtgtg cattgacaaa gactctgggg acgttgcagc tctcagagga      1380
tcccggaaat ttaacattct gggcacaac acaaaagtga tgaacatgga agaatccaac      1440

```

aacggcagcc tcctgcaga attcaaacac ttgacctga gggagcagag atgtgggaat 1500

 gggggccgag ccaattgiga tgcttccctg attgtgactg aggagctgca cctgatcacc 1560
 tttagaccg aggtgtatca ccaaggcctc aagattgacc tagagacca ctcttgcca 1620
 gttgtggtga tciccaacat ctgtcagatg ccaaatgcct gggcgtccat cctgtggtac 1680
 aacatgctga ccaacaatcc caagaatgta aactttttta ccaagcccc aattggaacc 1740
 tgggatcaag tggccgaggt cctgagctgg cagtttctct ccaccaccaa gcgaggactg 1800
 agcatcgagc agctgactac actggcagag aaactcttgg gacctggtgt gaattattca 1860
 ggggtgcaga tcacatgggc taaattttgc aaagaaaaca tggctggcaa gggcttctcc 1920

 ttctgggtct ggctggacaa tatcattgac cttgtgaaaa agtacatcct ggccctttgg 1980
 aacgaaggtt acatcatggg ctttatcagt aaggagcggg agcgggcat cttgagcact 2040
 aagcctccag gcaccttctt gctaagattc agtgaaaagca gcaaagaagg aggcgtcact 2100
 ttcacttggg tggagaagga catcagcggg aagaccaga tccagtccgt ggaaccatac 2160
 acaaagcagc agctgaacaa catgtcattt gctgaaatca tcatgggcta taagatcatg 2220
 gatgctacca atatcctggt gtctccactg gtctatctct atcctgacat tcccaaggag 2280
 gaggcattcg gaaagtattg tccggccagag agccaggagc atcctgaagc tgaccaggt 2340

 agcgtgccc catacctgaa gaccaagttt atctgtgtga caccaacgac ctgcagcaat 2400
 accattgacc tgccgatgtc cccccgact ttagattcat tgatgcagtt tggaaataat 2460
 ggtgaaggtg ctgaaccctc agcaggaggg cagtttgagt cctcacctt tgacatggag 2520
 ttgacctcgg agtgcgttac ctccccatg tggaggactg agaacggaag ctgcagaaaag 2580
 atacgactga ggcgcctacc tgcatctctc caccctcac acagccaaac cccagatcat 2640
 ctgaaactac taactttgtg gttccagatt ttttttaac tcctacttct gctatctttg 2700
 agcaatctgg gcacttttaa aaatagagaa atgagtgaat gtgggtgatc tgcttttacc 2760

 taaatgcaaa taaggatgtg ttctctgaga cccatgatca ggggatgtgg cggggggtgg 2820
 ctagagggag aaaaaggaaa tgtcttgtgt tgttttgttc cctgccctc ctttctcagc 2880
 agctttttgt tattgttgtt gttgttctta gacaagtgcc tcctggtgcc tgcggcatcc 2940
 ttctgctgt ttctgtaagc aatgccaca ggccacctat agctacatac tcctggcatt 3000
 gcacttttta accttctga catccaaata gaagatagga ctatctaagc cctaggtttc 3060
 tttttaaatt aagaataat aacaattaa gggcaaaaa cactgtatca gcatagcctt 3120
 tctgtattta agaacttaa gcagccgggc atggtggtc acgctgtaa tcccagcact 3180

ttgggaggcc gaggcggatc ataaggtcag gagatcaaga ccatcctggc taacacggtg 3240
 aaaccccgtc tctactaaaa gtacaaaaaa ttagctgggt gtgggtgggg ggcctgtag 3300
 tcccagctac tccggaggct gaggcaggag aatcgcttga acctgagagg cggaggttgc 3360
 agtgagccaa aattgcacca ctgcacactg cactccatcc tgggcgacag tctgagactc 3420
 tgtctcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagaaa ctfcagttaa cagcctcctt ggtgctttaa 3480
 gcattcagct tccttcaggc tggtaattta tataatcctt gaaacgggct tcaggtaaaa 3540
 cccttaagac atctgaagct gcaacctggc ctttgggtgtt gaaataggaa ggtttaagga 3600

gaatctaagc attttagact tttttttata aatagactta ttttcctttg taatgtattg 3660
 gccttttagt gagtaaggct gggcagaggg tgcttacaac cttgactccc tttctcctg 3720
 gacttgatct gctgtttcag aggctagggt gtttctgtgg gtgccttacc agggctggga 3780
 tacttctgat tctggcttcc ttctgcccc accctcccga cccagctccc cctgatcctg 3840
 ctagaggcat gtctccttgc gtgtctaaag gtccctcacc ctgtttgttt taggaatcct 3900
 ggtctcagga cctcatggaa gaagaggggg agagagttac aggttgaca tgatgcacac 3960
 tatggggccc cagcgacgtg tctggttgag ctgaggaat atggttctta gccagtttct 4020

tggatgatc cagtggcact tgtaatggcg tcttcattca gttcatgcag ggcaaaggct 4080
 tactgataaa cttgagtctg cctcgtatg aggggtgata cctggcctcc ctctgaggct 4140
 ggtgactcct cctgctggg gccccacagg tgaggcagaa cagctagagg gcctccccgc 4200
 ctgcccgcct tggctggcta gctcgcctct cctgtgcgta tgggaacacc tagcacgtgc 4260
 tggatgggct gcctctgact cagaggcatg gccggatttg gcaactcaa accaccttgc 4320
 ctgagctgat cagagtttct gtggaattct gtttgttaaa tcaaattagc tggctctgta 4380
 attaaggggg agacgacctt ctctaagatg aacagggttc gccccagtcc tctgctctgg 4440

agacagttag tgtgtcatgc agagctctta ctctccagc aacactcttc agtacataat 4500
 aagcttaact gataaacaga atatttagaa aggtgagact tgggcttacc attgggttta 4560
 aatcataggg acctagggcg agggttcagg gcttctctgg agcagatatt gtcaagttca 4620
 tggccttagg tagcatgat ctggctttaa ctctgattgt agcaaaagt tctgagaggag 4680
 ctgagccctg ttgtggccca ttaaagaaca gggctctcag gccctgcccg cttcctgtcc 4740
 actgccccct ccccatcccc agcccagccg agggaatccc gtgggttgcct tacctaccta 4800
 taagtggtt tataagctgc tgtctggcc actgcattca aattccaatg tgtacttcat 4860

agtgtaaaaa tttatattat tgtgaggttt tttgtctttt tttttttttt ttttttttgg 4920
 tatattgctg tatctacttt aacttccaga aataaacgtt atataggaac cgtaaaaa 4978

<210> 2

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide (AZD9150)

<400> 2

ctatttggat gtcagc

16

<210> 3

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> MEDI4736 VL; Sequence 77 from PCT/US2010/058007

<400> 3

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

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

65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro
 85 90 95
 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 4

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> MEDI4736 VH; Sequence 72 from PCT/US2010/058007

<400> 4

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115 120

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> MEDI4736 VH CDR1; Sequence 73 from PCT/US2010/058007

<400> 5

Arg Tyr Trp Met Ser

1 5

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> MEDI4736 VH CDR2; Sequence 74 from PCT/US2010/058007

<400> 6

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

1 5 10 15

Gly

<210> 7
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<223> MEDI4736 VH CDR3;Sequence 75 from PCT/US2010/058007
<400> 7

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

1 5 10

<210> 8
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<223> MEDI4736 VL CDR1;Sequence 78 from PCT/US2010/058007
<400> 8

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

1 5 10

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<223> MEDI4736 VL CDR2;Sequence 79 from PCT/US2010/058007
<400> 9

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<223> MEDI4736 VL CDR3;Sequence 80 from PCT/US2010/058007

<400> 10

Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro Trp Thr

Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
 100 105 110

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
 115 120 125

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val
 130 135

<210> 14
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <223> Tremelimumab VH
 <400> 14

Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 1 5 10 15

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro
 20 25 30

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn
 35 40 45

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

Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Arg Gly Ala Thr Leu
 85 90 95

Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
 100 105 110

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

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asp

1 5 10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> Tremelimumab VL CDR2

<400> 19

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> Tremelimumab VL CDR3

<400> 20

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 21

<211> 223

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> CTLA-4 polypeptide - GenBank Accession No. AAL07473.1

<400> 21

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala

1 5 10 15

Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro

20 25 30

Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala

35 40 45

Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly

50 55 60

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

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

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

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
 180 185 190
 Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
 195 200 205
 Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
 210 215 220
 Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
 225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
 260 265 270

Thr Leu Ala Lys Ile
 275

<210> 23

<211> 183

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> OX40 ligand

<400> 23

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

1 5 10 15

Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln

 20 25 30

Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser

 35 40 45

Ala Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val

 50 55 60

Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln

65 70 75 80

Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn

 85 90 95

Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu

 100 105 110

Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln

 115 120 125

Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr

 130 135 140

Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu

145 150 155 160

Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn

 165 170 175

Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu

 180

<210> 24

<211> 410

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<223> OX40 ligand protein; corresponds to SEQ ID NO: 8 in U.S. Patent
7,959,925

<400> 24

Leu Ala Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

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

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

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

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

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

 85 90 95
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

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

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

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

145 150 155 160
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

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

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

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

 210 215 220

Ser Leu Ser Pro Gly Lys Glu Leu Leu Gly Gly Gly Ser Ile Lys Gln
 225 230 235 240

Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His Ile Glu
 245 250 255

Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly His Gly
 260 265 270

Gly Gly Ser Asn Ser Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Phe Gln Ser
 275 280 285

Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu
 290 295 300

Thr Ser Gln Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val
 305 310 315 320

Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe
 325 330 335

Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro
 340 345 350

Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala
 355 360 365

Ser Leu Thr Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn
 370 375 380

Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile
 385 390 395 400

His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu
 405 410

<210> 25
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <223> humanised anti-OX40 antibody VL
 <400> 25

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 Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> humanised anti-OX40 antibody VL

<400> 26

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 Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> humanised anti-OX40 antibody VH

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Tyr His Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Asn Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Ser Leu

65 70 75 80

Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Tyr Lys Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly His Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 28

<211> 451

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> humanised anti-Ox40 antibody heavy chain

<400> 28

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

1 5 10 15

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300

 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 29
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <223> humanised anti-OX40 antibody Light chain
 <400> 29
 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 Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

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

Tyr Tyr Thr Ser Lys Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ser Ala Leu Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 30

<211> 412

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

223> humanised anti-OX40 antibody

<400> 30

Ala Pro Leu Ala Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 20 25 30
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 35 40 45
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

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

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

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

Lys Gln Ile Glu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Leu Ser Lys Ile Tyr His

245 250 255

Ile Glu Asn Glu Ile Ala Arg Ile Lys Lys Leu Ile Gly Glu Arg Gly

260 265 270

His Gly Gly Gly Ser Asn Ser Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Phe

275 280 285

Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe

290 295 300

Ile Leu Thr Ser Gln Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn

305 310 315 320

Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly

325 330 335

Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu

340 345 350

Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met

355 360 365

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

370 375 380

Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile

385 390 395 400

Leu Ile His Gln Asn Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu

405 410

<210> 31

<211> 1206

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<223> DNA Sequence of huIgG4FcPTF20X40L (5' to 3' Open Reading Frame)

<400> 31

gagagcaagt acggcctcc ctgccccct tgcctgcc ccgagttcct gggcggacct 60

agcgtgttcc tgttcccc caagccaag gacacctga tgatcagcag aacccccgag 120

gtgacctgcg tggtggtgga cgtgtcccag gaggacccg aggtccagtt taattgttac 180

gtggacggcg tggaaagtca taacgccaag accaagccca gagaggagca gttcaacagc 240
 acctacagag tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggaa 300
 tacaagtga aggtctccaa caagggcctg cctagcagca tcgagaagac catcagcaag 360
 gccaaaggcc agccacggga gccccaggtc tacaccctgc cacctagcca agaggagatg 420
 accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaaaggct tctatcccag cgatatcgcc 480

gtggagtggg agagcaacgg ccagccccgag aacaactaca agaccacccc cctgtgtctg 540
 gacagcgacg gcagcttctt cctgtactcc agactgaccg tggacaagtc cagatggcag 600
 gagggcaacg tcttcagctg ctccgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag 660
 aagtccctga gcctgagcct gggcaaggac caggataaga tcgaggctct gtcctccaag 720
 gtgcagcagc tggaacggtc catcggcctg aaggacctgg ccatggctga cctggaacag 780
 aaagtgtctg aaatggaagc ctccacacag gtgtcacaca gatacccccg gatccagtcc 840
 attaaggtgc agttcacca gtacaagaaa gagaagggtt ttatcctgac ctcccagaaa 900

gaggacgaga tcatgaaggt gcagaacaac tccgtgatca tcaactgcga cgggttctac 960
 ctgatctccc tgaagggcta ctccagccag gaagtgaaca tctccctgca ctaccagaag 1020
 gacgaggaac ccctgttcca gctgaagaaa gtgcggagcg tgaactccct gatggtggcc 1080
 tctctgacct acaaggacaa ggtgtacctg aacgtgacca cgcacaacac ctccctggac 1140
 gacttccacg tgaacggcgg cgagetgatc ctgateccacc agaaccctgg cgagttctgc 1200
 gtgctg 1206

<210> 32

<211> 402

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<223> Amino Acid Sequence of huIgG4FcPTF20X40L (N to C terminus)

<400> 32

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 1 5 10 15
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 20 25 30
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 35 40 45
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

aagtcctga gcctgagcct gggcaaggac caggataaga tcgaggctct gtcctccaag 720
 gtgcagcagc tggaacggtc catcgccctg aaggacctgg ccatggctga cctggaacag 780
 aaagtgctgg aaatggaagc ctccacacag gtgtcacaca gatacccccg gatccagtcc 840
 attaaggtgc agttcaccca gtacaagaaa gagaagggtt ttatcctgac ctcccagaaa 900
 gaggacgaga tcatgaaggt gcagaacaac tccgtgatca tcaactgcga cgggttctac 960

ctgatctccc tgaagggcta ctccagccag gaagtgaaca tctccctgca ctaccagaag 1020
 gacgaggaac ccctgttcca gctgaagaaa gtgcggagcg tgaactcct gatggtggcc 1080
 tctctgacct acaaggacaa ggtgtacctg aacgtgacca cgcacaacac ctccctggac 1140
 gacttccacg tgaacggcgg cgagctgac ctgatccacc agaaccctgg cgaggcctgc 1200
 gtgctg 1206

<210> 34

<211> 1206

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<223> Amino Acid Sequence of huIgG4PFcTF20X40L F180A (N to C terminus)

<400> 34

Gly Ala Gly Ala Gly Cys Ala Ala Gly Thr Ala Cys Gly Gly Cys Cys

1 5 10 15

Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Thr Gly

20 25 30

Cys Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Thr Thr Cys

35 40 45

Cys Thr Gly Gly Gly Cys Gly Gly Ala Cys Cys Thr Ala Gly Cys Gly

50 55 60

Thr Gly Thr Thr Cys Cys Thr Gly Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Cys

65 70 75 80

Cys Ala Ala Gly Cys Cys Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys

85 90 95

Cys Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala

100 105 110

Cys Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Gly Thr Gly Ala Cys Cys Thr Gly

Cys Cys Ala Gly Cys Cys Ala Cys Gly Gly Gly Ala Gly Cys Cys Cys
 370 375 380

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Thr Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Cys
 385 390 395 400

Cys Ala Cys Cys Thr Ala Gly Cys Cys Ala Ala Gly Ala Gly Gly Ala
 405 410 415

Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Ala Gly
 420 425 430

Gly Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Gly Thr Cys
 435 440 445

Thr Gly Gly Thr Gly Ala Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Ala
 450 455 460

Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys
 465 470 475 480

Gly Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Ala Gly Ala Gly Cys Ala
 485 490 495

Ala Cys Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Gly Ala Gly Ala Ala
 500 505 510

Cys Ala Ala Cys Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Ala Cys Cys
 515 520 525

Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Ala
 530 535 540

Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr
 545 550 555 560

Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Cys Thr Gly
 565 570 575

Ala Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Thr Cys Cys Ala
 580 585 590

Gly Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala
 595 600 605

Cys Gly Thr Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Cys Cys

Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Gly Cys Thr
 865 870 875 880

Thr Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala
 885 890 895

Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Gly Ala Cys Gly Ala Gly Ala Thr Cys
 900 905 910

Ala Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Ala Ala Cys Ala
 915 920 925

Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Ala
 930 935 940

Cys Thr Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Gly Thr Thr Cys Thr Ala Cys
 945 950 955 960

Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly
 965 970 975

Gly Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly Gly Ala
 980 985 990

Ala Gly Thr Gly Ala Ala Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly
 995 1000 1005

Cys Ala Cys Thr Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Gly Gly Ala Cys
 1010 1015 1020

Gly Ala Gly Gly Ala Ala Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Cys
 1025 1030 1035

Cys Ala Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Thr Gly
 1040 1045 1050

Cys Gly Gly Ala Gly Cys Gly Thr Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys
 1055 1060 1065

Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Thr Cys Thr
 1070 1075 1080

Cys Thr Gly Ala Cys Cys Thr Ala Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys
 1085 1090 1095

Ala Ala Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Cys Thr Gly Ala Ala Cys

1100 1105 1110
 Gly Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Cys Gly Ala Cys Ala Ala Cys
 1115 1120 1125
 Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys Gly Ala Cys
 1130 1135 1140

 Thr Thr Cys Cys Ala Cys Gly Thr Gly Ala Ala Cys Gly Gly Cys
 1145 1150 1155
 Gly Gly Cys Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly
 1160 1165 1170
 Ala Thr Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Cys Cys Cys Thr
 1175 1180 1185
 Gly Gly Cys Gly Ala Gly Gly Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr Gly
 1190 1195 1200

Cys Thr Gly
 1205

<210> 35

<211> 1200

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<223> DNA Sequence of huIgG1TF20X40L (5' to 3' Open Reading Frame)

<400> 35

gataagacc acacctgtcc ccttgtcct gccctgaac tgctgggagg accttcctg 60
 ttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 120
 tgcgtggtgg tggatgtgtc ccacaggac cctgaagtga agttcaattg gtactggac 180
 ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagagg aacagtacaa ctccacctac 240
 cgggtggtgt ccgtgctgac cgtgctgcac caggattggc tgaacggcaa agagtacaag 300

 tgcaaggtgt ccaacaagc cctgctgcc cccatcgaag agaccatctc caaggccaag 360
 ggccagcccc gggaacccca ggtgtacaca ctcccccta gccgggaaga gatgaccaag 420
 aaccaggtgt ccctgacctg tctcgtgaag ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 480
 tgggagtcca acggccagcc tgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 540
 gacggctcat tcttctgta ctccaagctg acagtgagca agtcccgggtg gcagcagggc 600
 aactgtttct cctgctccgt gatgcacgag gcctgcaca accactacac ccagaagtcc 660

ctgtccctga gccccggcaa ggaccaggat aagatcgagg ctctgtcctc caaggtgcag 720

cagctggaac ggtccatcgg cctgaaggac ctggccatgg ctgacctgga acagaaagtg 780

ctggaaatgg aagcctccac acaggtgtca cacagatacc cccggatcca gtccattaag 840

gtgcagttca ccgagtacaa gaaagagaag ggctttatcc tgacctcca gaaagaggac 900

gagatcatga aggtgcagaa caactccgtg atcatcaact gcgacgggtt ctacctgac 960

tcctgaagg gctacttcag ccaggaagtg aacatctccc tgactacca gaaggacgag 1020

gaaccctgt tccagctgaa gaaagtgcgg agcgtgaact ccctgatggt gcctctctg 1080

acctacaagg acaaggtgta cctgaactg accaccgaca acacctcct ggacgacttc 1140

cacgtgaacg gcggcgagct gatcctgac caccagaacc ctggcgagtt ctgcgtgctg 1200

<210> 36

<211> 400

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<223> Amino Acid Sequence of huIgG1FctF20X40L (N to C terminus)

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125

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

<212> PRT

<213> Mus musculus

<223> Amino Acid Sequence of mouse construct mIgG1FcmTF2mOX40L (N to C terminus)

<400> 38

Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu

1 5 10 15

Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr

 20 25 30

Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys

 35 40 45

Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val

 50 55 60

His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe

65 70 75 80

Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

 85 90 95

Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile

 100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val

 115 120 125

Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser

 130 135 140

Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu

145 150 155 160

Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro

 165 170 175

Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val

 180 185 190

Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu

 195 200 205

His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser

