



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0042067
(43) 공개일자 2022년04월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 38/19 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/715 (2006.01) C07K 16/24 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/2866 (2013.01)
A61K 38/193 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7043260
(22) 출원일자(국제) 2020년06월03일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년12월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/035957
(87) 국제공개번호 WO 2020/247521
국제공개일자 2020년12월10일

(30) 우선권주장
62/856,638 2019년06월03일 미국(US)

(71) 출원인
키닉사 파마슈티컬스, 리미티드
버뮤다, 해밀턴 에이치엠 11, 처치 스트리트 2,
클라렌튼 하우스

(72) 발명자
루낙 나시르푸어
미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 헤이든 애비뉴
100 키닉사 파마슈티컬스, 리미티드 내
피렐로 조
미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 헤이든 애비뉴
100 키닉사 파마슈티컬스, 리미티드 내
(뒷면에 계속)

(74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 69 항

(54) 발명의 명칭 **GM-CSF 길항제를 사용한 암의 치료**

(57) 요약

본 발명은 무엇보다도, 치료를 필요로 하는 환자에게 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기에서 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계는 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 면역억제 활성의 억제를 초래한다. 본 발명은 또한 무엇보다도, GM-CSF 길항제를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 암을 앓고 있는 환자에서 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 면역억제 활성을 억제하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7153 (2013.01)
C07K 16/243 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)

(72) 발명자

테사리 에벤

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 헤이든 애비뉴
100 키닉사 파마슈티컬스, 리미티드 내

카르바잘 루이스

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 헤이든 애비뉴
100 키닉사 파마슈티컬스, 리미티드 내

디안드레아 안나리사

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 헤이든 애비뉴
100 키닉사 파마슈티컬스, 리미티드 내

무사이 프란시스

버뮤다 해밀턴 에이치엠 11 처치 스트리트 2 클라
렌든 하우스

명세서

청구범위

청구항 1

암을 치료하는 방법으로서, 치료를 필요로 하는 환자에게 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계를 포함하되, 상기 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계는 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 면역억제 활성을 억제하는, 방법.

청구항 2

암을 앓고 있는 환자에서 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 면역억제 활성을 억제하는 방법으로서, GM-CSF 길항제를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 3

암 치료를 위한 면역 반응을 향상시키는 방법으로서, GM-CSF 길항제를 암 치료를 받는 환자에게 투여하는 단계를 포함하되, 상기 면역 반응은 대조군에 비해 증가되는, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 면역 반응은 T 세포 증식의 백분율인, 방법.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 대조군은 GM-CSF 길항제의 투여 전에 상기 환자의 면역 반응 수준을 나타내는, 방법.

청구항 6

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 대조군은 GM-CSF 길항제 없이 암 치료를 받는 대조군 환자에서의 기준 면역 반응 수준 또는 과거 데이터에 기초한 기준 면역 반응 수준인, 방법.

청구항 7

제3항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암 치료는 면역요법인, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계는 상기 면역요법의 효능을 증가시키는, 방법.

청구항 9

암 환자에서 PD-L1을 억제하는 방법으로서, 대조군과 비교하여 치료를 필요로 하는 환자에게 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계는 암 환자에서 PD-L1의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 11

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 대조군은 GM-CSF 길항제의 투여 전에 상기 환자의 PD-L1 수준을 나타내는, 방법.

청구항 12

제9항 또는 제10항에 있어서, 상기 대조군은 GM-CSF 길항제 없이 암 치료를 받는 대조군 환자에서의 기준 PD-L1 수준 또는 과거 데이터에 기초한 기준 PD-L1 수준인, 방법.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자에서의 PD-L1의 수준은 상기 대조군과 비교하여 적어도 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 90%만큼 감소되는, 방법.

청구항 14

제9항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-L1은 MDSC 상에서 발현되는, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 PD-L1은 순환하는 MDSC 상에서 발현되는, 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 PD-L1은 혈장 유래 MDSC 상에서 발현되는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 순환하는 골수 유래 억제 세포(MDSC)를 갖는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 낮은 수준의 침윤성 T 세포를 갖는 암을 앓고 있는, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 면역 관문 억제제(ICI) 불응성 암을 앓고 있는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 말기 또는 전이성 암을 앓고 있는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 유방암, 결장직장암(CRC), 전립선암, 흑색종, 방광암, 췌장암, 췌관 선암종, 간세포 암, 위암, 비소세포폐암(NSCLC), 소세포폐암(SCLC), 두경부 편평 세포 암종, 비호지킨 림프종, 자궁 경부암, 위암, 비뇨 생식기암, 두개암, 중피종, 신장 세포 암, 부인과 암, 난소 암, 자궁내막암, 폐암, 위장암, 췌장암, 식도암, 간암, 담관세포암, 뇌암, 중피종, 악성 흑색종, 메르켈 세포 암종, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 골수 형성 이상 증후군 또는 급성 림프구성 백혈병으로부터 선택되는 암을 앓고 있는, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 4기 유방암, 4기 결장직장암(CRC), 전립선암, 또는 흑색종으로부터 선택되는 암을 앓고 있는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 적어도 하나의 다른 암 요법을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 적어도 하나의 다른 암 요법은 화학요법, MDSC-표적 요법, 면역요법, 방사선 요법 및 이들의 조합인, 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및 상기 다른 암 요법은 동시에 투여되는, 방법.

청구항 26

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및 상기 다른 암 요법은 순차적으로 투여되는, 방법.

청구항 27

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 환자는 상기 GM-CSF 길항제의 투여 전에 상기 다른 암 요법으로 치료를 받은, 방법.

청구항 28

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 환자는 상기 다른 암 요법의 투여 전에 상기 GM-CSF 길항제로 치료를 받은, 방법.

청구항 29

제23항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다른 암 요법은 ICI인, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 ICI는 PD-1, CTLA-4, B7, BTLA, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, 또는 A2aR의 활성을 길항하는, 방법.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 ICI는, 항-PD-1 항체(선택적으로, 펩브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙), 항-PD-L1 항체(선택적으로, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙), 항-CTLA-4 항체(선택적으로, 이필리무맙), 항-PD-L2 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-BTLA 항체, 항-HVEM 항체, 항-TIM-3 항체, 항-GAL-9 항체, 항-LAG3 항체, 항-VISTA 항체, 항-KIR 항체, 항-2B4 항체, 항-CD160 항체, 항-CGEN-15049 항체, 항-CHK1 항체, 항-CHK2 항체, 항-A2aR 항체, 항-B-7 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 32

제29항에 있어서, 상기 ICI는 항-PD-L1 항체인, 방법.

청구항 33

제24항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 상기 환자에게 화학요법제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 34

제24항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 MDSC-표적 요법은 항-CFS-1R 항체, 항-IL-6 항체, 올-트랜스 레티노산, 엑시티닙, 엔티노스타트, 잼시타빈, 또는 펜포르민, 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 35

제24항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 면역요법은 단클론 항체, 사이토카인, 암 백신, T 세포 결합 요법, 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 단클론 항체는 항-CD3 항체, 항-CD52 항체, 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-CD20 항체, 항-BCMA 항체, 이중 특이적 항체, 또는 이중 특이적 T 세포 결합자(BiTE) 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 37

제35항에 있어서, 상기 사이토카인은 IFN α , IFN β , IFN γ , IFN, IL-2, IL-7, IL-15, IL-21, IL-11, IL-12, IL-

18, hGM-CSF, TNF α , 또는 이들의 임의의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 항체 또는 이의 단편인, 방법.

청구항 39

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제는 가용성 GM-CSF 수용체인, 방법.

청구항 40

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편인, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편은 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편인, 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편은 인간 GM-CSFR α 에 특이적인 단클론 항체인, 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체는 인간 또는 인간화 IgG4 항체인, 방법.

청구항 44

제42항 또는 제43항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체는 마브릴리무맙인, 방법.

청구항 45

제41항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체 및 이의 단편은 서열번호 6에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 1(LCDR1), 서열번호 7에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 2(LCDR2), 및 서열번호 8에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 3(LCDR3); 및 서열번호 3에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 1(HCDR1), 서열번호 4에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 2(HCDR2), 및 서열번호 5에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 3(HCDR3)을 포함하는, 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 상기 환자의 MDSC의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 상기 환자의 MDSC 매개 면역억제 활성화의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 상기 환자의 말초 혈액에서 Lin⁻CD14⁺HLA-DR⁻M-MDSC의 백분율을 감소시키는 방법.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 상기 환자의 성숙한 MDSC 세포의 백분율을 증가시키는, 방법.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 대조군과 비교하여

Treg 세포, 대식세포 및/또는 호중구의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 억제 사이토카인의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 억제 사이토카인은 IL-10 및 TGF β 로부터 선택되는, 방법.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 면역 억제 인자의 수준을 감소시키는, 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 면역 억제 인자는 아르기나아제 1, 유도성 산화질소 합성효소(iNOS), 피옥시질산염, 산화질소, 반응성 산소 종, 종양 연관 대식세포, 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제 및/또는 상기 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 CD4⁺ T 효과기 세포의 수준을 증가시키는, 방법.

청구항 56

제46항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대조군은 상기 환자의 치료 전 수준 또는 백분율, 또는 이력 데이터에 기초한 기준 수준 또는 백분율인, 방법.

청구항 57

GM-CSF 길항제 및 ICI를 포함하는, 암을 치료하기 위한 약학적 조성물.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 항체 또는 이의 단편인, 약학적 조성물.

청구항 59

제57항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제는 가용성 GM-CSF 수용체인, 약학적 조성물.

청구항 60

제57항에 있어서, 상기 GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편인, 약학적 조성물.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편은 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편인, 약학적 조성물.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편은 인간 GM-CSFR α 에 특이적인 단클론 항체인, 약학적 조성물.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체는 인간 또는 인간화 IgG4 항체인, 약학적 조성물.

청구항 64

제60항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체는 마브릴리무맙인, 약학적 조성물.

청구항 65

제60항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-GM-CSFR α 항체 및 이의 단편은 서열번호 6에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 1(LCDR1), 서열번호 7에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 2(LCDR2), 및 서열번호 8에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 3(LCDR3); 및 서열번호 3에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 1(HCDR1), 서열번호 4에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 2(HCDR2), 및 서열번호 5에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 3(HCDR3)을 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 66

제57항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ICI는 PD-1, CTLA-4, B7, BTLA, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, 및 이들의 조합의 활성을 길항하는, 약학적 조성물.

청구항 67

제57항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 ICI는, 항-PD-1 항체(선택적으로, 펌브롤리주맙, 니블루맙, 세미플리맙), 항-PD-L1 항체(선택적으로, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙), 항-CTLA-4 항체(선택적으로, 이필리무맙), 항-PD-L2 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-BTLA 항체, 항-HVEM 항체, 항-TIM-3 항체, 항-GAL-9 항체, 항-LAG3 항체, 항-VISTA 항체, 항-KIR 항체, 항-2B4 항체, 항-CD160 항체, 항-CGEN-15049 항체, 항-CHK1 항체, 항-CHK2 항체, 항-A2aR 항체, 항-B-7 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

청구항 68

GM-CSF 길항제를 포함하는 약학적 조성물 및 화학요법, MDSC 표적 요법, 면역요법, 방사선 요법 및 이들의 조합으로부터 선택된 적어도 하나의 다른 암 요법을 포함하는 약학적 조성물을 포함하는, 암을 치료하기 위한 키트.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 면역요법은, 항-PD-1 항체(선택적으로, 펌브롤리주맙, 니블루맙, 세미플리맙), 항-PD-L1 항체(선택적으로, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙), 항-CTLA-4 항체(선택적으로, 이필리무맙), 항-PD-L2 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-BTLA 항체, 항-HVEM 항체, 항-TIM-3 항체, 항-GAL-9 항체, 항-LAG3 항체, 항-VISTA 항체, 항-KIR 항체, 항-2B4 항체, 항-CD160 항체, 항-CGEN-15049 항체, 항-CHK1 항체, 항-CHK2 항체, 항-A2aR 항체, 항-B-7 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택되는 ICI인, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2019년 6월 3일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/856,638호에 대한 우선권을 주장하며, 그 전체는 모든 목적을 위해 참조로서 본원에 통합된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 명세서는 서열 목록(2020년 6월 3일에 "KPL-035WO_SL.txt"이라는 명칭의 .txt 파일로 전산으로 제출됨)을 참조한다. txt 파일은 2020년 6월 3일에 생성되었고 크기는 4 KB이다. 서열 목록의 전체 내용은 본원에 참고로 인용된다.

배경 기술

[0005] 종양 세포는 숙주 T 세포 레퍼토리에 의해 잠재적으로 인식되는 고유 항원을 발현하고 종양 면역요법을 위한 강력한 표적으로서 기능한다. 그러나, 종양 세포는 숙주 면역을 회피하고 천연 항원 제시 효과기 세포 집단을 억제하는 억제 사이토카인을 발현한다. 이러한 면역억제 환경에서의 하나의 요소는 악성 종양 환자의 종양 배드, 림프절의 배액, 및 순환기에서 발견되는 조절 T 세포의 존재 증가이다. 추가 조사의 한 가지 영역은 종양 연관

무산소성을 역전시키고 악성 세포를 인식하고 제거하도록 효과기 세포를 자극하는 치료제의 개발이다.

발명의 내용

- [0006] 본 발명은 무엇보다도, GM-CSF 길항제를 사용하여 골수 유래 억제 세포의 면역억제 활성의 억제에 기초하여 암을 치료하기 위한 개선된 방법을 제공한다. 본 발명은, 부분적으로, GM-CSF가 면역억제 활성을 갖는 MDSC 상에서 PD-L1의 발현을 유도하고, 이러한 발현이 GM-CSF를 길항함으로써 억제될 수 있다는 놀라운 발견에 기초한다. 본 발명은 또한 본원에 추가로 기술된 바와 같은 다른 암 요법과 조합하여 GM-CSF 길항제를 사용하여 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0007] 일부 양태에서, 본 발명은 치료를 필요로 하는 환자에게 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공하며, 여기에서 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계는 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 면역억제 활성의 억제를 초래한다.
- [0008] 일부 양태에서, 본 발명은, GM-CSF 길항제를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 암을 앓고 있는 환자에서 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 면역억제 활성을 억제하는 방법을 제공한다.
- [0009] 일부 양태에서, 본 발명은, GM-CSF 길항제를 암 치료를 받는 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료를 위한 면역 반응을 향상시키는 방법을 제공하며, 여기에서 면역 반응은 대조군에 비해 증가된다.
- [0010] 일부 구현예에서, 면역 반응은 T 세포 증식의 백분율이다. 일부 구현예에서, T 세포는 CD8 양성(CD8+)이다. 일부 구현예에서, T 세포는 CD4 양성(CD4+)이다. 일부 구현예에서, T 세포는 CD8 및 CD4에 대해 이중 양성(CD8+/CD4+)이다.
- [0011] 일부 구현예에서, 대조군은 GM-CSF 길항제의 투여 전의 환자의 면역 반응 수준을 나타낸다. 일부 구현예에서, 대조군은 GM-CSF 길항제 없이 암 치료를 받는 대조군 환자에서의 기준 면역 반응 수준 또는 과거 데이터에 기초한 기준 면역 반응 수준이다.
- [0012] 일부 구현예에서, 암 요법은 면역요법이다.
- [0013] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제를 투여하는 단계는 면역요법의 효능을 증가시킨다.
- [0014] 일 양태에서, 본 발명은 무엇보다도, 대조군과 비교하여 치료를 필요로 하는 환자에게 GM-CSF 길항제를 투여하는 단계를 포함하는, 암 환자에서 PD-L1을 억제하는 방법을 제공한다.
- [0015] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제를 투여하는 단계는 암 환자에서 PD-L1의 수준을 감소시킨다.
- [0016] 일부 구현예에서, 대조군은 GM-CSF 길항제의 투여 전의 환자의 PD-L1 수준을 나타낸다.
- [0017] 일부 구현예에서, 대조군은 GM-CSF 길항제 없이 암 치료를 받는 대조군 환자에서의 기준 PD-L1 수준 또는 과거 데이터에 기초한 기준 PD-L1 수준이다.
- [0018] 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 10%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 15%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 20%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 30%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 40%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 45%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 50%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 60%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 70%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 75%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 80%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 85%만큼 감소된다. 일부 구현예에서, 환자의 PD-L1의 수준은 대조군에 비해 적어도 90%만큼 감소된다.
- [0019] 일부 구현예에서, PD-L1은 MDSC 상에서 발현된다. 일부 구현예에서, PD-L1은 순환하는 MDSC 상에서 발현된다. 일부 구현예에서, PD-L1은 혈장 유래 MDSC 상에서 발현된다. 일부 구현예에서, PD-L1은 종양 세포 상에서 발현된다. 일부 구현예에서, PD-L1은 종양 침윤 면역 세포 상에서 발현된다.
- [0020] 일부 구현예에서, 환자는 순환하는 골수 유래 억제 세포(MDSC)를 갖는다.
- [0021] 일부 구현예에서, 환자는 낮은 수준의 침윤성 T 세포를 갖는 암을 앓고 있다.

- [0022] 일부 구현예에서, 환자는 면역 관문 억제제(ICI) 불응성 암을 앓고 있다.
- [0023] 일부 구현예에서, 환자는 후기 암 또는 전이성 암을 앓고 있다.
- [0024] 일부 구현예에서, 환자는 유방암, 결장직장암(CRC), 전립선암, 흑색종, 방광암, 췌장암, 췌관 선암종, 간세포암, 위암, 비소세포폐암(NSCLC), 소세포폐암(SCLC), 두경부 편평 세포 암종, 비호지킨 림프종, 자궁 경부암, 위장암, 비뇨 생식기 암, 두개암, 중피종, 신장 세포 암, 부인과 암, 난소 암, 자궁내막암, 폐암, 위장암, 췌장암, 식도암, 간암, 담관세포암, 뇌암, 중피종, 악성 흑색종, 메르켈 세포 암종, 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 골수 형성 이상 증후군 또는 급성 림프구성 백혈병으로부터 선택되는 암을 앓고 있다.
- [0025] 일부 구현예에서, 환자는 4기 유방암, 4기 결장직장암(CRC), 전립선암, 또는 흑색종으로부터 선택되는 암을 앓고 있다.
- [0026] 전술한 어느 한 청구내용에 있어서, 방법은 적어도 하나의 다른 암 요법을 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0027] 일부 구현예에서, 적어도 하나의 다른 암 요법은 화학요법, MDSC-표적 요법, 면역요법, 방사선 요법 및 이들의 조합이다.
- [0028] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및 다른 암 요법은 동시에 투여된다.
- [0029] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및 다른 암 요법은 순차적으로 투여된다.
- [0030] 일부 구현예에서, 환자는 GM-CSF 길항제의 투여 전에 다른 암 요법으로 치료를 받았다.
- [0031] 일부 구현예에서, 환자는 다른 암 요법의 투여 전에 GM-CSF 길항제로 치료를 받았다.
- [0032] 일부 구현예에서, 다른 암 요법은 ICI이다.
- [0033] 일부 구현예에서, ICI는 PD-1, CTLA-4, B7, BTLA, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, 또는 A2aR의 활성을 길항한다.
- [0034] 일부 구현예에서, ICI는, 항-PD-1 항체(선택적으로, 펩브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙), 항-PD-L1 항체(선택적으로, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙), 항-CTLA-4 항체(선택적으로, 이필리무맙), 항-PD-L2 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-BTLA 항체, 항-HVEM 항체, 항-TIM-3 항체, 항-GAL-9 항체, 항-LAG3 항체, 항-VISTA 항체, 항-KIR 항체, 항-2B4 항체, 항-CD160 항체, 항-CGEN-15049 항체, 항-CHK1 항체, 항-CHK2 항체, 항-A2aR 항체, 항-B-7 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택된다.
- [0035] 일부 구현예에서, ICI는 항-PD-L1 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-PD-L1 항체이다.
- [0036] 일부 구현예에서, 방법은 환자에게 화학요법제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0037] 일부 구현예에서, MDSC-표적 요법은 항-CFS-1R 항체, 항-IL-6 항체, 올-트랜스 레티노산, 엑시티닙, 엔티노스타트, 첼시타빈, 또는 펜포르민, 및 이들의 조합으로부터 선택된다.
- [0038] 일부 구현예에서, 면역요법은 단클론 항체, 사이토카인, 암 백신, T 세포 결합 요법, 및 이들의 조합으로부터 선택된다.
- [0039] 일부 구현예에서, 단클론 항체는 항-CD3 항체, 항-CD52 항체, 항-PD1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체, 항-CD20 항체, 항-BCMA 항체, 이중 특이적 항체, 또는 이중 특이적 T 세포 결합자(BiTE) 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택된다.
- [0040] 일부 구현예에서, 사이토카인은 IFN α , IFN β , IFN γ , IFN, IL-2, IL-7, IL-15, IL-21, IL-11, IL-12, IL-18, hGM-CSF, TNF α , 또는 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다.
- [0041] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 항체 또는 이의 단편이다.
- [0042] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제는 가용성 GM-CSF 수용체이다.
- [0043] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편이다.
- [0044] 일부 구현예에서, GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편은 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편이다.

- [0045] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편은 인간 GM-CSFR α 에 특이적인 단클론 항체이다.
- [0046] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체는 인간 또는 인간화 IgG4 항체이다.
- [0047] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체는 마브틸리무맙이다.
- [0048] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체 및 이의 단편은 서열번호 6에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 1(LCDR1), 서열번호 7에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 2(LCDR2), 및 서열번호 8에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 3(LCDR3); 및 서열번호 3에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 1(HCDR1), 서열번호 4에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 2(HCDR2), 및 서열번호 5에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 3(HCDR3)을 포함한다.
- [0049] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 환자의 MDSC의 수준을 감소시킨다.
- [0050] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 대조군과 비교해 환자의 MDSC 매개 면역억제 활성화의 수준을 감소시킨다.
- [0051] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 환자의 말초 혈액에서 Lin⁻CD14⁺HLA-DR⁺MDSC의 백분율을 감소시킨다.
- [0052] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 환자의 성숙한 MDSC 세포의 백분율을 증가시킨다.
- [0053] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 Treg 세포, 대식세포 및/또는 호중구의 수준을 감소시킨다.
- [0054] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 억제 사이토카인의 수준을 감소시킨다.
- [0055] 일부 구현예에서, 억제 사이토카인은 IL-10 및 TGF β 로부터 선택된다.
- [0056] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 면역 억제 인자의 수준을 감소시킨다.
- [0057] 일부 구현예에서, 면역 억제 인자는 아르기나아제 1, 유도성 산화질소 합성효소(iNOS), 퍼옥시질산염, 산화질소, 반응성 산소 종, 종양 연관 대식세포, 및 이들의 조합으로부터 선택된다.
- [0058] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제 및/또는 ICI의 투여는 대조군과 비교하여 CD4⁺ T 효과기 세포의 수준을 증가시킨다.
- [0059] 일부 구현예에서, 대조군은 환자의 치료 전 수준 또는 백분율, 또는 이력 데이터에 기초한 기준 수준 또는 백분율이다.
- [0060] 일부 양태에서, 본 발명은 GM-CSF 길항제 및 ICI를 포함하는, 암을 치료하기 위한 약학적 조성물을 제공한다.
- [0061] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 항체 또는 이의 단편이다.
- [0062] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제는 가용성 GM-CSF 수용체이다.
- [0063] 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편이다.
- [0064] 일부 구현예에서, GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편은 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편이다.
- [0065] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체 또는 이의 단편은 인간 GM-CSFR α 에 특이적인 단클론 항체이다.
- [0066] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체는 인간 또는 인간화 IgG4 항체이다.
- [0067] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체는 마브틸리무맙이다.
- [0068] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체 및 이의 단편은 서열번호 6에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 1(LCDR1), 서열번호 7에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 2(LCDR2), 및 서열번호 8에 의해 정의되는 경쇄 상보성 결정 부위 3(LCDR3); 및 서열번호 3에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 1(HCDR1), 서열번호 4에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 2(HCDR2), 및 서열번호 5에 의해 정의되는 중쇄 상보성 결정 부위 3(HCDR3)을 포함한다.
- [0069] 일부 구현예에서, ICI는 PD-1, CTLA-4, B7, BTLA, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-

15049, CHK1, CHK2, A2aR, 및 이들의 조합의 활성을 길항한다.

[0070] 일부 구현예에서, ICI는, 항-PD-1 항체(선택적으로, 펩브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙), 항-PD-L1 항체(선택적으로, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙), 항-CTLA-4 항체(선택적으로, 이필리무맙), 항-PD-L2 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-BTLA 항체, 항-HVEM 항체, 항-TIM-3 항체, 항-GAL-9 항체, 항-LAG3 항체, 항-VISTA 항체, 항-KIR 항체, 항-2B4 항체, 항-CD160 항체, 항-CGEN-15049 항체, 항-CHK1 항체, 항-CHK2 항체, 항-A2aR 항체, 항-B-7 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택된다.

[0071] 일부 양태에서, 본 발명은 GM-CSF 길항제를 포함하는 약학적 조성물 및 화학요법, MDSC 표적 요법, 면역요법, 방사선 요법 및 이들의 조합으로부터 선택된 적어도 하나의 다른 암 요법을 포함하는 약학적 조성물을 포함하는, 암을 치료하기 위한 키트를 제공한다.

[0072] 일부 구현예에서, 면역요법은, 항-PD-1 항체(선택적으로, 펩브롤리주맙, 니볼루맙, 세미플리맙), 항-PD-L1 항체(선택적으로, 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두발루맙), 항-CTLA-4 항체(선택적으로, 이필리무맙), 항-PD-L2 항체, 항-B7-H3 항체, 항-B7-H4 항체, 항-BTLA 항체, 항-HVEM 항체, 항-TIM-3 항체, 항-GAL-9 항체, 항-LAG3 항체, 항-VISTA 항체, 항-KIR 항체, 항-2B4 항체, 항-CD160 항체, 항-CGEN-15049 항체, 항-CHK1 항체, 항-CHK2 항체, 항-A2aR 항체, 항-B-7 항체, 및 이들의 조합으로부터 선택되는 ICI이다.

[0073] 정의

[0074] 본 발명이 보다 쉽게 이해되도록 하기 위해, 특정 용어가 먼저 아래에 정의된다. 다음 용어들 및 다른 용어들에 대한 추가 정의는 본 명세서 전반에 걸쳐 제시된다. 본 명세서에서 본 발명의 배경을 기술하고 그 실례에 대한 추가적인 세부 사항을 제공하기 위해 참조된 간행물 및 기타 참조 문헌은 참조로 본 명세서에 통합된다.

[0075] 항체: 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린(Ig) 분자의 면역학적 활성 부분, 즉 항원에 결합하는(면역반응하는) 항원 결합 부위를 함유하는 분자를 지칭한다. "결합하다" 또는 "면역반응하다"는 항체가 원하는 항원 결정인자 하나 이상과 반응하는 것을 의미한다. 항체는 항체 단편을 포함한다. 항체는 또한 다클론, 단클론, 키메라 dAb(도메인 항체), 단쇄, Fab, Fab', F(ab')₂ 단편, scFv, 및 Fab 발현 라이브러리를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다. 항체는 전체 항체, 또는 면역글로불린, 또는 항체 단편일 수 있다.

[0076] 아미노산: 본 명세서에서 사용되는 용어 "아미노산"은, 가장 넓은 의미로, 폴리펩티드 사슬에 연결될 수 있는 임의의 화합물 및/또는 물질을 지칭한다. 일부 구현예에서, 아미노산은 H₂N-C(H)(R)-COOH의 일반 구조를 가진다. 일부 구현예에서, 아미노산은 자연적으로 발생하는 아미노산이다. 일부 구현예에서, 아미노산은 합성 아미노산이고, 일부 구현예에서, 아미노산은 d-아미노산이고, 일부 구현예에서, 아미노산은 l-아미노산이다. "표준 아미노산"은 자연적으로 발생하는 펩티드에서 일반적으로 발견되는 20개의 표준 l-아미노산 중 어느 것을 지칭한다. "비표준 아미노산"은 합성하여 제조되거나 천연 공급원에서 얻어지는지와 관계없이, 표준 아미노산 이외의 임의의 아미노산을 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 "합성 아미노산"은, 이에 한정되지 않지만, 염, (아마이드 등과 같은)아미노산 유도체 및/또는 치환체를 포함하는, 화학적으로 변형된 아미노산을 포함한다. 펩티드에 카르복실- 및/또는 아미노-말단 아미노산을 포함하는, 아미노산은 메틸화, 아마이드화, 아세틸화, 보호기, 및/또는 활성에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 펩티드의 순환 반감기를 변화시킬 수 있는 다른 화학적 그룹으로 치환에 의해 변형될 수 있다. 아미노산은 이황화 결합에 참여할 수 있다. 아미노산은 하나 이상의 화학 물질(예를 들어, 메틸기, 아세테이트기, 아세틸기, 인산기, 포르밀 모이어티, 이소프레노이드기, 황산기, 폴리에틸렌 글라이콜 모이어티, 지질 모이어티, 탄수화물 모이어티, 비오틴 모이어티 등)과의 결합과 같은 하나 이상의 번역 후 변형을 포함할 수 있다. 용어 "아미노산"은 "아미노산 잔기"와 상호교환적으로 사용되며, 유리 아미노산 및/또는 펩티드의 아미노산 잔기를 지칭할 수 있다. 용어가 유리 아미노산 또는 펩티드의 잔기 중 어느 것을 지칭하는 것으로 사용되는지는 문맥으로부터 명백할 것이다.

[0077] 개선(Amelioration): 본 명세서에서 사용되는 용어 "개선"은 상태의 예방, 감소 또는 완화, 또는 대상의 상태 호전을 의미한다. 개선은 질병 상태의 완전한 회복 또는 완전한 예방을 포함하지만, 필수적인 것은 아니다. 일부 구현예에서, 개선은 관련 단백질의 수준 또는 관련 질병 조직에 결핍된 활성을 증가시키는 것을 포함한다.

[0078] 대략 또는 약: 본 명세서에서 사용되는, 하나 이상의 관심 값에 적용되는 "대략" 또는 "약"이라는 용어는 언급된 기준 값과 유사한 값을 지칭한다. 어떤 구현예에서, "대략" 또는 "약"이라는 용어는, 달리 언급되지 않거나 문맥에서 명백하지 않으면, 언급된 기준 값의 어느 한 쪽으로 (높은 쪽이나 낮은 쪽으로) 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 또는 그 이하로 포함되는 값

의 범위를 지칭한다(이러한 숫자가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우를 제외함).

- [0079] 전달: 본 명세서에 사용된 바와 같이, "전달"은 국소 및 전신 전달을 모두 포함한다.
- [0080] 개선, 증가, 억제 또는 감소: 본 명세서에서 사용되는, "개선", "증가", "억제" 또는 "감소" 또는 문법적으로 동등한 용어는, 본 명세서에 기술된 치료를 시작하기 전에 동일한 개체에서의 측정, 또는 본 명세서에 기술된 치료를 하지 않은 경우, 예를 들어, 위약을 투여받은 대상체에 대조군 대상체(또는 다중 대조군 대상체)에서의 측정과 같은, 기준선 측정에 대한 상대적인 값을 나타낸다. "대조군 대상체"는 치료받는 대상체와 동일한 병태에 시달리는 대상체로서, 치료받는 대상체와 거의 동일한 연령대이다.
- [0081] "억제" 또는 "억제하는": 본원에서 사용되는 "억제" 또는 "억제하는" 또는 문법적으로 동등한 용어는 생물학적 활성의 감소, 감소 또는 억제를 의미한다. 중화: 본원에서 사용되는 중화는 중화 항체가 결합하는 단백질의 생물학적 활성의 감소 또는
- [0082] 억제를 의미하며, 이 경우 GM-CSFR α , 예를 들어 GM-CSFR α 에 대한 GM-CSF 결합의 감소 또는 억제, 또는 GM-CSFR α 매개 반응에 의해 측정된 바와 같은 GM-CSFR α 에 의한 신호전달의 감소 또는 억제를 의미한다. 생물학적 활성의 감소 또는 억제는 부분적이거나 전체적일 수 있다. 항체가 GM-CSFR α 를 중화시키는 정도는 이의 중화 효능으로 지칭된다.
- [0083] 환자: 본 명세서에 사용되는 용어 "환자"는 제공된 조성물이 투여될 수 있는 임의의 유기체를 지칭한다(예를 들어, 실험, 진단, 예방, 미용 및 / 또는 치료 목적을 위함). 통상의 환자들은 동물을 (예를 들어, 마우스, 쥐, 토끼, 인간 이외의 영장류 및/또는 인간과 같은 포유류) 포함한다. 일부 구현예에서, 환자는 인간이다. 인간은 출생 전 및 출산 후 형태를 포함한다.
- [0084] 약학적으로 허용 가능한: 본 명세서에 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한"은, 건전한 의학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 다른 문제나 합병증이 없이, 인간 및 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고, 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 물질을 지칭한다.
- [0085] 실질적인 동일성: "실질적인 동일성"이라는 구문은 아미노산 또는 핵산 서열 사이의 비교를 지칭하기 위해 본 명세서에서 사용된다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 2개의 서열은 상응하는 위치에 동일한 잔기를 포함하는 경우에 일반적으로 "실질적으로 동일한" 것으로 간주된다. 본 기술 분야에서 잘 알려져 있는 바와 같이, 아미노산 또는 핵산 서열은, 뉴클레오티드 서열에 대한 BLAST 및 아미노산 서열에 대한 BLASTP, 간극 BLAST, 및 PSI-BLAST와 같은 통상의 컴퓨터 프로그램에서 이용 가능한 것들을 포함하는, 임의의 다양한 알고리즘을 사용하여 비교될 수 있다. 대표적인 이러한 프로그램은 다음에 기술되어 있다: Altschul 등, *Basic local alignment search tool*, *J. Mol. Biol.*, 215(3): 403-410, 1990; Altschul 등, *Methods in Enzymology*; Altschul 등, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, 1997; Baxevanis 등, *Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins*, Wiley, 1998; 및 Misener 등(편), *Bioinformatics Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999. 동일한 서열을 식별하는 것에 더하여, 전술한 프로그램은 일반적으로 동일성의 정도에 대한 표시를 제공한다. 일부 구현예에서, 2개의 서열은 상응하는 잔기의 적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상이 잔기의 관련 구간에 걸쳐 동일하다면 실질적으로 동일한 것으로 간주된다. 일부 구현예에서, 관련 구간은 완전한 서열이다. 일부 구현예에서, 관련 구간은 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 또는 그 이상의 잔기이다.
- [0086] 대상체: 본 명세서에 사용되는 용어 "대상체"는 인간 또는 임의의 비인간 동물(예를 들어, 마우스, 쥐, 토끼, 개, 고양이, 소, 돼지, 양, 말 또는 영장류)을 지칭한다. 인간은 출생 전 및 출산 후 형태를 포함한다. 많은 구현예에서, 대상체는 인간이다. 대상체는 환자일 수 있으며, 이는 질병의 진단 또는 치료를 위해 의료 제공자에게 소개하는 인간을 지칭한다. 용어 "대상체"는 본 명세서에서 "개체" 또는 "환자"와 상호 교환 가능하게 사용된다. 대상체는 질환이나 장애로 인해 시달리거나 민감할 수 있지만 질환 또는 장애 증상을 나타내거나 나타내지 않을 수 있다.
- [0087] 실질적으로: 본 명세서에 사용되는 용어 "실질적으로"는 관심 있는 특성 또는 성질의 전체 또는 거의 전체 범위 또는 정도를 나타내는 질적인 조건을 지칭한다. 생물학적 기술 분야의 당업자는 설사 생물학적 및 화학적 현상이 거의 완전하지 않더라도, 완료 및/또는 완료로 진행 또는 완전한 결과를 달성하거나 막을 수 있다는 것을 이해할 것이다. 따라서, "실질적으로"라는 용어는 많은 생물학적 및 화학적 현상에 내재하는 완전성의 잠재적인

결어를 포착하기 위해 본 명세서에서 사용된다.

[0088] 전신 분포 또는 전달: 본 명세서에 사용되는, "전신 분포", "전신 전달" 또는 문법적으로 동일한 용어는, 전체 신체 또는 전체 유기체에 영향을 미치는 전달 또는 분포 메커니즘 또는 접근을 지칭한다. 전형적으로, 전신 분포 또는 전달은 신체의 순환 시스템, 예를 들어 혈류를 통해 달성된다. "국소 분포 또는 전달"의 정의와 비교된다.

[0089] 치료적 유효량: 본 명세서에 사용되는 용어, 치료제의 "치료적 유효량"은 질병, 장애 및/또는 병태의 증상의 발생을 치료, 진단, 예방 및/또는 지연시키기 위해 질환, 장애 및/또는 병태를 앓고 있거나 이에 민감한 대상에게 투여될 때, 충분한 양을 의미한다. 치료적 유효량은 통상적으로 적어도 하나의 단위 투여량을 포함하는 투여 요법을 통해 투여된다는 것은 당업자에 의해 식별될 것이다.

[0090] 치료: 본 명세서에 사용되는 용어, "치료(treat, treatment)" 또는 "치료하는(treating)"은 특정 질환, 장애 및/또는 병태의 하나 이상의 증상 또는 특징의 부분적 또는 완전히 경감, 개선, 완화, 억제, 예방, 발생 지연, 괴로움 감소 및/또는 발병률을 감소시키는 데 사용되는 임의의 방법을 지칭한다. 치료는 질환과 관련된 병리 발생 위험을 감소시키기 위한 목적으로 질환의 징후를 나타내지 않고/않거나 질환의 초기 징후만을 나타내는 대상체에게 투여될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0091] 도면은 단지 예시를 위한 것일 뿐 이에 제한되지 않는다.

도 1은 췌장암 환자의 혈액 유래의 CD14+ 세포(MDSC)를 이용한 T 세포 증식 분석을 도시하는 예시적인 막대 그래프이다. T 세포 증식은 완전한 배지에서만 배양된 T 세포와 비교하여, 건강한 공여자 동종 T 세포 및 췌장암 환자의 혈액으로부터 분류된 CD14+ 세포의 공동 배양 후 억제된다. T 세포 증식은 항-GM-CSFR α 항체 및 췌장암 환자의 혈액으로부터 분류된 CD14+ 세포의 배양 후 구제된다.

도 2는 상이한 암 세포주에서 GM-CSF 발현 수준을 도시하는 예시적인 그래프이다.

도 3은 암 세포 조건화된 배지가 단핵구를 표현형 MDSC(CD14+ 세포)로 분극화할 수 있음을 나타내는 일련의 예시적인 막대 그래프이다. 종양 조건화 배지(CM)를 생성하기 위해, 4개의 상이한 세포주를 플레이팅하고 당업계에 공지된 방법에 따라 배양하였다. 이어서, CD14+ 단핵구 세포를 CM의 존재 하에 6일 동안 배양하고 유전자 및 단백질 발현에 대해 분석하였다. 낮은 수준의 HLA-DR 바이오마커는 MDSC 표현형을 나타낸다. 정상 배양 배지(대조군)에서 성장시킨 CD+14 세포와 비교하여, GM-CSF-발현 암 세포의 조건화된 배지로 CD14+ 단핵구를 배양했을 때 표현형 MDSC의 증가가 관찰되었다.

도 4는 다양한 배지로 배양한 MDSC 상에서의 PD-L1 발현을 도시하는 일련의 예시적인 막대 그래프이다. 데이터는 암 세포-조건화 배지(CM) 및 재조합 GM-CSF가 보충된 CM이 MDSC 상에서 PD-L1의 발현을 유도할 수 있음을 나타낸다. 또한, 항-GM-CSFR α 항체(Ab)는 MDSC 상에서 PD-L1 발현 수준을 감소시킬 수 있다.

도 5a 및 도 5b는 다양한 배지로 배양한 MDSC 상에서의 PD-L1 발현을 도시하는 일련의 예시적인 막대 그래프이다. 데이터는 암 세포-조건화 배지(CM) 및 재조합 GM-CSF가 보충된 1일차의 CM이 정상 배양 배지(배지)에서 성장한 MDSC에 비해 MDSC 상에서 PD-L1의 발현을 유도할 수 있음을 나타낸다. 또한, 항-GM-CSFR α 항체(Ab)는 CM에서 성장한 MDSC 상에서 PD-L1 수준을 감소시킬 수 있다. 도 5a는 CM 및 항-GM-CSFR α 항체(Ab)가 동시에 첨가될 때의 PD-L1 발현을 나타낸다. PD-L1 발현은 치료 3일 후에 측정하였다. 도 5b는 항-GM-CSFR α 항체가 CM으로 배양한 후 72시간 후에 첨가될 때의 PD-L1 발현을 보여준다. PD-L1 발현은 항-GM-CSFR α 항체로 치료한지 24시간 후에 측정하였다.

도 6은 보충의 인간 재조합 GM-CSF 및/또는 항-GM-CSFR α 항체(Ab)가 있거나 없는 상태에서 GM-CSF 발현 암 세포주로부터의 조건화된 배지로 처리된 단핵구를 사용한 T 세포 증식을 나타내는 일련의 예시적인 막대 그래프이다. GM-CSF 발현 암 세포주(CM)로부터 조건화된 배지에서 3일 동안 단핵구를 배양하였다. 0.1 μM CFSE로 표지하고 IMDM 세포 배양 배지에서 10 ng/mL의 IL-2 및 10 uL의 가용성 CD3/CD28 T 세포 활성화제(Immunocult)로 자극하여 T 세포(1x10⁵ 세포)를 제조하였다. 그런 다음, 재조합 GM-CSF(10 ng/mL) 및/또는 항-GM-CSFR α 항체(100 μg/mL)를 포함하거나 포함하지 않는 CM-처리된 단핵구와 함께 혼합 림프구 반응(MLR)에서 자극된 T 세포를 공동 배양하였다(2:1 단핵구:T 세포의 비율). 건강한 단핵구와 함께 IMDM 배양 배지에서 자극된 T 세포를 대조군으로서 사용하였다. T 세포를 5일 동안 증식시키고, CD4 및 CD8에 대해 수집하고 염색하였으며, 이는 헬퍼

T 및 세포독성 T 세포에 대한 마커이다. 세포 증식을 유세포 계측법으로 측정하고, CFSE 회색으로 평가하였다. 좌측 패널은 세포 증식 %로 T 세포 증식 분석의 **결과를 나타내고**, 우측 패널은 유세포 계측법에 의한 최대 %(MFI)(CD4+ 또는 CD8+ 세포에서 CFSE 회색의 신호 검출)로 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0092] 본 발명은 무엇보다도, GM-CSF 길항제를 사용하여 이를 필요로 하는 환자에서 골수 유래 억제 세포(MDSC)의 면역억제 활성을 억제함으로써 암을 치료하기 위한 개선된 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, GM-CSF 길항제는 면역 관문 억제제와 조합하여 사용된다. 본 발명은 면역 관문 억제(ICI) 불응성 또는 내성 암, 또는 후기 단계 또는 전이성 암을 치료하는 데 특히 효과적인 것으로 고려된다.

[0093] 본 발명의 다양한 양태는 다음의 섹션에서 자세히 기술된다. 섹션의 사용은 본 발명을 한정하려는 의미가 아니다. 각 섹션은 본 발명의 임의의 양태에 적용될 수 있다. 본 출원에서, "또는"의 사용은 달리 언급하지 않는 한 "및/또는"을 의미한다.

[0094] **골수 유래 억제 세포(MDSC)**

[0095] MDSC는 골수 계통 유래 면역 세포의 이종 그룹이다. MDSC는 만성 감염증 및 암과 같은 병리학적 상황에서 강하게 확장되며, 면역자극 특성보다는 강력한 면역억제 활성을 갖는 다른 골수 세포 유형과 구별된다. CD14⁺HLA-DR^{lo/neg} 단핵구라고 불리는 HLA-DR 발현이 소멸했거나 없는 단핵구는 MDSC로 그룹화되며, 이는 적응 면역을 변경시키고 면역억제를 생성할 수 있다.

[0096] MDSC는 암, 감염, 만성 염증, 이식 및 자가면역의 말초 혈액, 림프 기관, 비장 및 종양 부위에 축적된다. 종양이 MDSC를 동원, 증식 및 활성화시키는 특이적 경로는 알려져 있지 않지만, 인터루킨(IL-1β), IL-6, 시클로옥시헤나아제 2(COX2)-생성 PGE₂, 고농도의 GM-CSF, M-CSF, 혈관 내피 성장 인자(VEGF), IL-10, 형질전환 성장 베타(TGFβ), 인돌레아민 2,3-디옥시헤나아제, FLT3 리간드(T), 및 줄기 세포 인자의 관여에 대한 증가의 증가하고 있다.

[0097] 내성 DC 또는 MDSC를 유도하는 것으로 나타난, 종양 세포주와 면역 적격 세포의 공동 배양. 이전의 연구는 또한 종양 세포가 T 세포 기능을 억제하도록 과립구 ROS 생산을 유도하는 GM-CSF를 방출함을 시사한다. 또한, MDSC 매개 억제에서 이의 역할은 불분명하지만, 세포예정사 리간드 1(programmed death ligand 1, PD-L1)의 발현은 쥐와 종양 모델에서 MDSC의 표면 상에서 증가한다.

[0098] **세포예정사 리간드 1(PD-L1)**

[0099] 세포예정사 리간드 1(PD-L1; CD274로도 알려짐)은 수용체 PD-1에 결합하는 면역 관문 단백질이다. PD-L1은 다양한 세포 유형, 주로 종양 세포, MDSC, 단핵구, 대식세포, 자연 살해(NK) 세포, 수지상 세포(DC), 및 활성화된 T 세포, 및 뇌, 각막, 및 망막과 같은 면역-특이 부위에서 광범위하게 발현된다. 정상적인 생리학적 조건에서, PD-1/PD-L1 신호 전달 경로의 활성화는, 과활성화를 피하고 면역 매개 조직 손상으로부터 보호하는 말초 내성의 유도 및 유지, T 세포 면역 항상성의 유지와 밀접한 관련이 있다. 질환 상태에서, PD-L1은 그의 수용체 세포예정사 1(PD-1)과 상호작용하여, 프라이밍, 성장, 증식 및 세포자멸사, 및 기능적 성숙을 포함하는 일련의 T 세포 매개 세포 면역 반응을 제어하도록 음성 신호를 송신하여 면역 탈출을 초래한다.

[0100] 면역 관문 억제제(ICI)는 많은 종양의 치료 환경을 변화시켜, 일부 경우에 지속적인 반응을 유도하고, 종양 돌연변이 부하, CD8⁺ T 세포 밀도 및 PD-L1 발현은 각각 PD-1/L1 길항제에 대한 반응의 구별되는 바이오마커로서 제안되었다. 면역 관문 차단 항체의 주요 과제 중 하나는 제한된 T 세포 반응 또는 면역학적으로 "비반응성(coId)" 종양을 갖는 악성 종양에 있다. 이러한 비반응성 종양은 침윤성 T 세포를 거의 함유하지 않으며 인식되지 않고, 면역계에 의한 강력한 반응을 유발하지 않으며, 현재의 면역요법으로 치료하기 어렵다. 본 발명자들은 놀랍게도 GM-CSF가 PD-L1을 상향조절하여 면역억제 활성에 기여한다는 것을 발견하였다. "비반응성" 종양을 "반응성(hot)" 종양으로 전환하는 것은 암 치료의 이정표 중 하나이다.

[0101] **GM-CSF 길항제**

[0102] **GM-CSF 신호 전달**

[0103] GM-CSF는 광범위한 조혈 세포 유형의 생존과 증식을 향상시키는 유형 I 전염증성 사이토카인이다. 이는 골수 세포(예를 들어, 호중구, 호염기구, 호산구, 단핵구, 및 대식세포)의 분화 및 증식의 유도자로서 처음 확인된 성

장 인자이다(Wicks IP 및 Roberts AW, Nat Rev Rheumatol. 2016, 12(1):37-48). 상이한 접근법을 사용하는 연구는 GM-CSF 과발현의 경우 병리학적 변화가 거의 항상 뒤따르는 것으로 나타났다(Hamilton JA 등, Growth Factors. 2004, 22(4):225-31). GM-CSF는 혈관의 활성화된 내피를 통해 골수 세포의 수송을 향상시키고, 또한 염증 동안 혈관 내 단핵구 및 대식세포 축적에 기여할 수 있다. GM-CSF는 또한 염증이 생긴 조직에서 단핵구 및 대식세포뿐만 아니라 상주 조직 대식세포의 활성화, 분화, 생존 및 증식을 촉진한다. 이는 침윤성 단핵구가 M1 대식세포 및 단핵구 유래 수지상 세포(MoDC) 내로 분화되는 것을 촉진함으로써 염증 조직에서 항원 제시 세포의 표현형을 조절한다. 또한, 대식세포 및 MoDC에 의한 IL-23의 생산은 IL-6 및 IL-1과 같은 다른 사이토카인과 조합하여 T 세포 분화를 조절한다.

[0104] GM-CSF는 M-CSF(대식세포 콜로니 자극 인자)와 함께 대식세포의 수 및 기능을 조절한다. GM-CSF에 의해 활성화된 대식세포는 일련의 효과기 기능을 획득하며, 이들 모두는 이들을 염증성 대식세포로서 식별한다. GM-CSF-활성화 대식세포는 TNF, IL-1 β , IL-6, IL-23 및 IL-12를 포함하는 전염증성 사이토카인 및 T 세포 및 다른 염증 세포를 조직 미세환경 내로 동원하는 CCL5, CCL22 및 CCL24와 같은 케모카인을 생산한다.

[0105] GM-CSF 수용체는 조혈촉진인자(haematopoietin) 수용체 슈퍼패밀리의 구성원이다. 이는 알파 및 베타 서브유닛으로 구성된 이종이량체이다. 알파 서브유닛은 GM-CSF에 매우 특이적인 반면, 베타 서브유닛은 IL-3 및 IL-5를 포함하는 다른 사이토카인 수용체와 공유된다. 이는 베타 수용체 서브유닛의 더 넓은 조직 분포에 반영된다. 알파 서브유닛인 GM-CSFR α 는 호중구, 대식세포, 호산구, 수지상 세포, 내피 세포 및 호흡기 상피 세포와 같은 비조혈 세포 및 골수 세포에서 주로 발현된다. 전장 GM-CSFR α 는 유형 I 사이토카인 수용체 패밀리에 속하는 400개의 아미노산 유형 I 막 당단백질이며, 22개의 아미노산 신호 펩티드(위치 1 내지 22), 298개의 아미노산 세포외 도메인(위치 23 내지 320), 위치 321 내지 345의 막관통 도메인 및 짧은 55개의 아미노산 세포내 도메인으로 구성된다. 신호 펩티드는 절단되어 378개의 아미노산 단백질로서 GM-CSFR α 의 성숙한 형태를 제공한다. 인간 및 쥐와 GM-CSFR α 의 상보성 DNA(cDNA) 클론을 이용할 수 있고, 단백질 수준에서, 수용체 서브유닛은 36%의 동일성을 갖는다. GM-CSF는 α 서브유닛 단독(Kd 1 내지 5 nM)에 상대적으로 낮은 친화도로 결합할 수 있지만 β 서브유닛 단독에는 전혀 결합하지 않는다. 그러나, α 및 β 서브유닛 둘 모두의 존재는 고 친화도 리간드-수용체 복합체(Kd 대략 100 pM)를 초래한다. GM-CSF 신호 전달은 GM-CSFR α 사슬에 대한 초기 결합을 통해 발생한 후, 공통 β 사슬의 더 큰 서브유닛과의 가교 결합을 통해 높은 친화도 상호작용을 생성하며, 이는 JAK-STAT 경로를 인산화한다. 이러한 상호작용은 또한 티로신 인산화 및 MAP 키나아제 경로의 활성화를 통해 신호를 전달할 수 있다.

[0106] 병리학적으로, GM-CSF는 염증, 호흡기 및 자가면역 질환을 악화시키는데 역할을 하는 것으로 나타났다. 따라서 GM-CSFR α 에 대한 GM-CSF 결합의 중화는 GM-CSFR을 통해 매개되는 질환 및 병태를 치료하기 위한 치료적 접근법이다. 따라서, 본 발명은 인간 GM-CSF 또는 GM-CSFR α 에 결합하거나 GM-CSFR α 에 대한 인간 GM-CSF의 결합을 억제하고/하거나, 수용체에 대한 GM-CSF 리간드의 결합으로 인한 신호 전달을 억제하는 결합 구성원에 관한 것이다. 리간드 결합 시, GM-CSFR은 JAK2/STAT5, MAPK 경로, 및 PI3K 경로를 포함하는 다수의 하류 신호 전달 경로의 자극을 유발하며, 이는 모두 골수 세포의 활성화 및 분화와 관련이 있다. 결합 구성원은 GM-CSFR을 통한 GM-CSF 신호 전달의 가역적 억제제일 수 있다.

[0107] GM-CSF 길항제

[0108] 본 발명에 적합한 GM-CSF 길항제는 본원에 기술된 것을 포함하는 하나 이상의 GM-CSF 매개 신호 전달을 감소, 억제 또는 폐지할 수 있는 치료제를 포함한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 적절한 GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 항체 또는 이의 단편, 가용성 GM-CSF 수용체 및 몇몇 예를 들어 GM-CSF 가용성 수용체-Fc 융합 단백질, 항-GM-CSF 수용체 항체 또는 이의 단편과 같은 융합 단백질을 포함하는 이의 변이체를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.

[0109] 일부 구현예에서, 적절한 GM-CSF 길항제는 항-GM-CSFR α 항체이다. 예시적인 항-GM-CSFR α 단클론 항체는, WO2007/110631로서 공개된 2007년 3월 27일에 출원된 국제 출원 PCT/GB2007/001108, 2010년 10월 10일에 출원된 EP 출원 제120770487호, 2007년 3월 27일 출원된 미국 출원 제11/692,008호, 2008년 9월 25일에 출원된 미국 출원 제12/294,616호, 2013년 7월 12일에 출원된 미국 출원 제13/941,409호, 2010년 11월 30일에 출원된 미국 출원 제14/753,792호, WO/2013/053767로서 공개된 2012년 10월 10일에 출원된 국제 출원 PCT/EP2012/070074, WO2015/177097로서 공개된 2015년 5월 18일에 출원된 국제 출원 PCT/EP2015/060902, 2017년 5월 23일에 출원된 국제 출원 PCT/EP2017/062479에 기술된 것들을 포함하며, 이들 각각은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 일 구현예에서, 항-GM-CSFR α 단클론 항체는 마브릴리무맙이다. WO2007/110631은 높은 효

능으로 GM-CSFR α의 생물학적 활성을 증화시키는 능력을 공유하는. 항-GM-CSFR α 항체 마브릴리무맙 및 이의 변이체의 단리 및 특성화를 보고한다. 이들 항체의 기능적 특성은, 적어도 부분적으로, 인간 GM-CSFR α의 226 내지 230 위치에서 Tyr-Leu-Asp-Phe-Gln 모티프에 결합하여, GM-CSFR α와 이의 리간드 GM-CSF 사이의 연관성을 억제하는 것에 기인하는 것으로 여겨진다. 마브릴리무맙은 GM-CSFR α를 표적화함으로써 대식세포 활성화, 분화 및 생존을 조절하도록 설계된 인간 IgG4 단클론 항체이다. 이는 GM-CSFR α의 생물학적 활성의 강력한 증화제이며, RA 환자의 윤회 관절 내의 백혈구 상에서 GM-CSFR α를 결합시킴으로써 세포 생존 및 활성화를 감소시키는 치료 효과를 발휘하는 것으로 나타났다. 현재까지, 생체 내 사용을 위한 GM-CSFR α 항체 마브릴리무맙의 안전성 프로파일은 류마티스 관절염(RA)에 대한 제2상 임상시험에서 확립되었다.

- [0110] 특정 구현예에서, 항체는 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄로 구성된다. 중쇄 가변 도메인(VH)은 서열번호 1에서 식별된 아미노산 서열을 포함한다. 경쇄 가변 도메인(VL)은 서열번호 2에서 식별된 아미노산 서열을 포함한다. 중쇄 및 경쇄는 각각 상보성 결정 영역(CDR) 및 프레임워크 영역을 다음의 배열로 포함한다:
- [0111] FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.
- [0112] 마브릴리무맙 항체 중쇄는 다음의 CDR을 포함한다: 서열번호 3, 4 및 5의 아미노산 서열에 의해 각각 식별된 HCDR1, HCDR2, HCDR3. 경쇄는 다음의 CDR을 포함한다: 서열번호 6, 7 및 8의 아미노산 서열에 의해 각각 식별된 LCDR1, LCDR2, LCDR3.
- [0113] 항-GM-CSFR α 중쇄 가변 도메인 아미노산 서열
- [0114] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTLTELSIHWVRQAPGKGLEWGGFDPEENEIVYAQRFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIVGSF SPLTLGLWGQGMVTVSS (서열번호 1)
- [0115] 항-GM-CSFR α 경쇄 가변 도메인 아미노산 서열
- [0116] QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSGSNIGAPYDVSWYQQLPGTAPKLLIYHNNKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDADYYCATVEAGLSGSVF GGGTKLTVL (서열번호 2)
- [0117] 항-GM-CSFR α 중쇄 가변 도메인 CDR 1(HCDR1) 아미노산 서열
- [0118] ELSIH (서열번호 3)
- [0119] 항-GM-CSFR α 중쇄 가변 도메인 CDR 2(HCDR2) 아미노산 서열
- [0120] GFDPEENEIVYAQRFQ (서열번호 4)
- [0121] 항-GM-CSFR α 중쇄 가변 도메인 CDR 3(HCDR3) 아미노산 서열
- [0122] VGSFSP LTLGL (서열번호 5)
- [0123] 항-GM-CSFR α 경쇄 가변 도메인 CDR 1(LCDR1) 아미노산 서열
- [0124] TGSGSNIGAPYDVS (서열번호 6)
- [0125] 항-GM-CSFR α 경쇄 가변 도메인 CDR 2(LCDR2) 아미노산 서열
- [0126] HNNKRPS (서열번호 7)
- [0127] 항-GM-CSFR α 경쇄 가변 도메인 CDR 3(LCDR3) 아미노산 서열
- [0128] ATVEAGLSGSV(서열번호 8)
- [0129] 일부 구현예에서, 암 치료를 위한 항-GM-CSFR α 항체는, 그 전체가 참조로서 통합되는, 출원 W02007/11063 및 W02013053767에 개시된 GM-CSF α 결합 구성원으로부터 선택된, 마브릴리무맙의 변이체이다.
- [0130] 일부 구현예에서, 암 치료를 위한 항-GM-CSFR α 항체는, 서열번호 3, 서열번호 4, 서열번호 5, 서열번호 6, 서열번호 7, 및 서열번호 8 중 하나 이상과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 동일성을 갖는 CDR 아미노산 서열을 포함한다.
- [0131] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체는 서열번호 2와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인, 및 서열번호 1과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 가지는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체는, 서열번호 2와 적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인, 및 서열번호 1과

적어도 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인을 갖는다. 본 발명의 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체는, 서열 번호 2에 제시된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인, 및 서열번호 1에 제시된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체의 중쇄 불변 영역은, IgG1 항체에서 유래된 CH3 도메인에 융합된 IgG4 항체에서 유래된 CH1, 힌지 및 CH2 도메인을 포함한다. 본 발명의 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체의 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2 또는 IgG4 중쇄 불변 영역이거나 이로부터 유래된다. 본 발명의 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 항체의 경쇄 불변 영역은 람다 또는 카파 경쇄 불변 영역이거나 이로부터 유래된다.

[0132] 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 억제제는 마브릴리무맙 항체의 단편이다. 일부 구현예에서, 억제제는 서열번호 3, 4, 5, 6, 7 또는 8의 CDR 서열 중 적어도 하나를 포함하는 단쇄 가변 단편(ScFv)을 포함한다. 일부 구현예에서, 억제제는 서열번호 3, 4, 5, 6, 7 또는 8의 CDR 서열 중 적어도 하나를 포함하는 융합 분자이다. 일부 구현예에서, 항-GM-CSFR α 억제제 서열은 서열번호 3, 4, 5, 6, 7 또는 8의 CDR 서열 중 적어도 하나를 포함하는 이중특이적 항체이다.

[0133] 다른 구현예에서, 적절한 GM-CSF 길항제는 항-GM-CSF 항체이다. 예시적인 항-GM-CSF 단클론 항체는, WO2006/122797로서 공개된 2006년 5월 17일에 출원된 국제 출원 PCT/EP2006/004696, WO2017/076804로서 공개된 2016년 10월 31일에 출원된 국제 출원 PCT/EP2016/076225, 및 WO/2019/070680로서 공개된 2018년 10월 2일에 출원된 국제 출원 PCT/US2018/053933에 기술된 것들을 포함하며, 이들 각각은 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다. 일 구현예에서, 항-GM-CSF 단클론 항체는 오티리맵이다.

[0134] 본 개시의 항-GM-CSFR α 또는 항-GM-CSF 항체는 다중특이적, 예를 들어, 이중특이적일 수 있다. 본 개시의 항체는 포유류(예를 들어, 인간 또는 마우스), 인간화, 키메라, 재조합, 합성으로 생산되거나 자연적으로 단리될 수 있다. 본 개시의 예시적인 항체는, 제한 없이, IgG(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, and IgG4), IgM, IgA (e.g., IgA1, IgA2, 및 IgAsec), IgD, IgE, Fab, Fab', Fab'2, F(ab')2, Fd, Fv, Feb, scFv, scFv-Fc, 및 SMIP 결합 잔기를 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 scFv이다. scFv는, 예를 들어, scFv가 상이한 방향으로 배향되어 항원 결합을 가능하게 하는 가요성 링커를 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 항체는 세포 내부의 환원 환경에서 그의 구조 및 기능을 유지하는 세포질-안정성 scFv 또는 인트라비디일 수 있다(예를 들어, Fisher 및 DeLisa, J. Mol. Biol. 385(1): 299-311, 2009; 본원에 참조로서 통합됨). 특정 구현예에서, scFv는 당업계에 공지된 방법에 따라 IgG 또는 키메라 항원 수용체로 변환된다. 구현예에서, 항체는 변성된 단백질 표적과 천연 단백질 표적 모두에 결합한다. 구현예에서, 항체는 변성된 단백질 또는 천연 단백질에 결합한다.

[0135] 인간을 포함하는 대부분의 포유류에서, 전체 항체는 이황화 결합에 의해 연결된 적어도 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)를 갖는다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인(CH1, CH2, 및 CH3) 및 CH1과 CH2 사이의 힌지 영역으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인인 CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역(FR)이라고 하는 더 보존된 영역으로 산재되어 있는 상보성 결정 영역(CDR)이라고 하는 초가변 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성되며, 아미노-말단에서 카르복시-말단까지 다음의 순서로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다.

[0136] 항체는 모든 공지된 형태의 항체 및 항체-유사 특성을 갖는 다른 단백질 스캐폴드를 포함한다. 예를 들어, 항-GM-CSFR α 항체는 단클론 항체, 다클론 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 이중특이적 항체, 1가 항체, 키메라 항체, 또는 섬유넥틴 또는 안키린 반복과 같은 항체 유사 특성을 갖는 단백질 스캐폴드일 수 있다. 항체는 다음의 이소형 중 어느 하나를 가질 수 있다: IgG(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, and IgG4), IgM, IgA(예를 들어, IgA1, IgA2, 및 IgAsec), IgD, 또는 IgE.

[0137] 항체 단편은 항체로부터 유래된 하나 이상의 분절을 포함할 수 있다. 항체로부터 유래된 분절은 특정 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유할 수 있다. 항체 단편은, 예를 들어, Fab, Fab', Fab'2, F(ab')2, Fd, Fv, Feb, scFv, 또는 SMIP일 수 있다. 항체 단편은, 예를 들어, 디아바디, 트리아바디, 아피바디, 나노바디, 앵타머, 도메인 항체, 선형 항체, 단쇄 항체, 또는 항체 단편으로부터 형성될 수 있는 다양한 다중특이적 항체 중 어느 하나일 수 있다.

[0138] 항체 단편의 예는 다음을 포함한다: (i) Fab 단편: VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편; (ii) F(ab')2 단편: 힌지 영역에서 이황화 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편; (iii) Fd 단편:

VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 단편; (iv) Fv 단편: 항체의 단일 아암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 단편; (v) dAb 단편: VH 및 VL 도메인을 포함하는 단편; (vi) dAb 단편: VH 도메인인 단편; (vii) dAb 단편: VL 도메인인 단편; (viii) 단리된 상보성 결정 영역(CDR); 및 (ix) 하나 이상의 합성 링커에 의해 선택적으로 연결될 수 있는 2개 이상의 단리된 CDR의 조합. 또한, Fv 단편의 2개의 도메인인 VL 및 VH는 별도의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 재조합 방법, 예를 들어, 이들이 단일 단백질로서 발현될 수 있게 하는 합성 링커를 사용하여 결합될 수 있으며, 이 중 VL 및 VH 영역은 쌍을 이루어 1가 결합 모이어티(단쇄 Fv(scFv)로 알려짐)를 형성한다. 항체 단편은 당업자에게 공지된 종래의 기술을 사용하여 수득될 수 있고, 일부 경우, 온전한 항체와 동일한 방식으로 사용될 수 있다. 항원 결합 단편은 재조합 DNA 기술에 의해 또는 온전한 면역글로불린의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다. 항체 단편은 개별적인 단편을 분리하는 추가의 C-말단 아미노산, N-말단 아미노산, 또는 아미노산의 첨가와 함께 전술한 임의의 항체 단편을 추가로 포함할 수 있다.

[0139] 항체가 제1 종으로부터 유래된 하나 이상의 항원 결정 영역 또는 불변 영역 및 제2 종으로부터 유래된 하나 이상의 항원 결정 영역 또는 불변 영역을 포함하는 경우, 항체는 키메라로서 지칭될 수 있다. 키메라 항체는, 예를 들어, 유전자 조작에 의해 작제될 수 있다. 키메라 항체는 상이한 종(예를 들어, 마우스 및 인간 유래)에 속하는 면역글로불린 유전자 분절을 포함할 수 있다.

[0140] 항체는 인간 항체일 수 있다. 인간 항체는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 모두가 인간 면역글로불린 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 결합 모이어티를 지칭한다. 또한, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우, 불변 영역은 또한 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된다. 인간 항체는 인간 면역글로불린 서열에서 식별되지 않은 아미노산 잔기, 예컨대 돌연변이와 같은 하나 이상의 서열 변이를 포함할 수 있다. 변형 또는 추가 아미노산은, 예를 들어, 인간 조작에 의해 도입될 수 있다. 본 개시의 인간 항체는 키메라가 아니다.

[0141] 항체는 인간화될 수 있는데, 이는 비인간 면역글로불린 또는 항체로부터 실질적으로 유래된 하나 이상의 항원 결정 영역(예를 들어, 적어도 하나의 CDR)을 포함하는 항체가 인간 면역글로불린 또는 항체로부터 실질적으로 유래된 적어도 하나의 면역글로불린 도메인을 포함하도록 조작된다는 것을 의미한다. 항체는, 예를 들어, 제1 벡터에 의해 암호화된 비인간 항체로부터의 항원 인식 서열을 제2 벡터에 의해 암호화된 인간 프레임워크 내에 삽입함으로써, 본원에 기술된 변환 방법을 사용하여 인간화될 수 있다. 예를 들어, 제1 벡터는 비인간 항체(또는 이의 단편) 및 부위 특이적 재조합 모티프를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있는 반면, 제2 벡터는 인간 프레임워크를 암호화하는 폴리뉴클레오티드 및 제1 벡터 상의 부위 특이적 재조합 모티프에 상보적인 부위 특이적 재조합을 포함할 수 있다. 부위 특이적 재조합 모티프는, 재조합 이벤트가 비인간 항체로부터의 하나 이상의 항원 결정 영역을 인간 프레임워크 내로 삽입함으로써 인간화 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 형성하도록 각 벡터 상에 위치할 수 있다.

[0142] 특정 구현예에서, 항체는 scFv로부터 IgG(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4)로 변환된다. 당업계에는 scFv 단편을 IgG로 변환하는 다양한 방법이 있다. scFv 단편을 IgG로 변환하는 이러한 방법 중 하나는 미국 특허 출원 공개 제20160362476호에 개시되어 있으며, 그 내용은 본원에 참조로서 통합된다.

[0143] **병용 요법**

[0144] 면역 관문 억제제(ICI)

[0145] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 암을 치료하는 방법은 GM-CSF 길항제를 ICI와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0146] 일부 구현예에서, ICI는 생물학적 치료제 또는 소분자이다. 일부 구현예에서, ICI는 단클론 항체, 인간화 항체, 완전한 인간 항체, 융합 단백질 또는 이들의 조합이다.

[0147] 일부 구현예에서, ICI는 CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, B-7 패밀리의 리간드 또는 이들의 조합일 수 있는 관문 단백질을 억제한다. 일부 구현예에서, ICI는 CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM-3, GAL-9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, B-7 패밀리의 리간드 또는 이들의 조합일 수 있는 관문 단백질의 리간드와 상호작용한다.

[0148] 일부 구현예에서, ICI는 항-CTLA-4 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-PD-L1 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-PD-L2 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-PD-1 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-B7-H3 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-B7-H4 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-BTLA 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-HVEM 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-TIM-3 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-GAL-9 항체이다.

다. 일부 구현예에서, ICI는 항-LAG-3 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-VISTA 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-KIR 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-2B4 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-CD160 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-CGEN-15049 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-CHK1 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-CHK2 항체이다. 일부 구현예에서, ICI는 항-A2aR 항체이다. 일부 구현예에서, 관문 억제제는 항-B-7 항체이다.

[0149] 일부 구현예에서, PD-1 항체는 펩티도리주맙이다. 일부 구현예에서, PD-1 항체는 니볼루맙이다. 일부 구현예에서, PD-1 항체는 세미플리맙이다. 일부 구현예에서, PD-L1 항체는 아테졸리주맙이다. 일부 구현예에서, PD-L1 항체는 아벨루맙이다. 일부 구현예에서, PD-L1 항체는 두발루맙이다. 일부 구현예에서, CTLA-4 항체는 이필리무맙이다.

[0150] 추가 치료제

[0151] 일부 구현예에서, 본 발명에 따른 암을 치료하는 방법은 GM-CSF 길항제를 추가 치료제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 추가 제제는 화학요법 및/또는 방사선 요법을 포함하는 암 요법이다. 특정 구현예에서, 추가 치료제는 재조합 단백질 또는 단클론 항체를 포함한다. 특정 구현예에서, 재조합 단백질 또는 단클론 항체는, 에타라시주맙(Abegrin), 타카투주맙 테트라크세탄, 베마시주맙(Avastin), 라베투주맙, 세톡시맙(Erbitux), 오비누투주맙(Gazyva), 트라스투주맙(Herceptin), 클리바투주맙, 트라스트주맙 엠탄신(Kadcyla), 라무시루맙, 리톡시맙(MabThera, Rituxan), 겐투주맙 오조가마이신(Mylotarg), 페르투주맙(Omnitarg), 지렌톡시맙(Rencarex), 또는 니모투주맙(Theracim, Theraloc)을 포함한다.

[0152] 특정 구현예에서, GM-CSF 길항제는 전술한 관문 억제제 섹션에 기술된 바와 같은 체크포인트 억제제를 표적화하는 면역조절제를 포함한다. 특정 구현예에서, 면역조절제는 니볼루맙, 이필리무맙, 아테졸리주맙, 또는 펩티도리주맙을 포함한다. 특정 구현예에서, 추가 치료제는 화학요법제이다. 특정 구현예에서, 화학요법제는, 알킬화제(예를 들어, 시클로포스파미드, 이포스파미드, 클로람부실, 부설판, 멜파란, 메클로레타민, 우라무스틴, 티오테파, 니트로소우레아, 또는 테모졸로마이드), 안트라시클린(예를 들어, 독소루비신, 아드리아마이신, 다우노루비신, 에피루비신, 또는 미톡산트론), 세포골격 교란제(예를 들어, 파클리탁셀 또는 도세탁셀), 히스톤 탈아세틸화효소 억제제(예를 들어, 보리노스타트 또는 로미덱신), 국소이성화효소 억제제(예를 들어, 이리노테칸, 토포테칸, 암사크린, 에토포시드, 또는 테니포시드), 키나아제 억제제(예를 들어, 보르테오미, 엘로티닙, 게피티닙, 이마티닙, 베무라페닙, 또는 비스모데깁), 뉴클레오시드 유사체 또는 전구체 유사체(예를 들어, 아자시타딘, 아자티오프린, 카페시타빈, 시타라빈, 플루오로우라실, 쯤시타빈, 히드록시우레아, 메르캅토프린, 메토트렉세이트, 또는 티오구아닌), 펩티드 항생제(예를 들어, 악티노마이신 또는 블레오마이신), 백금계 제제(예를 들어, 시스플라틴, 옥살로플라틴, 또는 카보플라틴), 또는 식물 알칼로이드(예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈데신, 포도필로톡신, 파클리탁셀, 또는 도세탁셀)이다. 일부 구현예에서, 화학요법제는 뉴클레오시드 유사체이다. 일부 구현예에서, 화학요법제는 쯤시타빈이다. 특정 구현예에서, 추가 치료제는 방사선 요법이다.

[0153] 암의 치료

[0154] 본 발명은 다양한 암, 특히 면역 관문 억제(ICI) 불응성 또는 내성 암, 또는 후기 단계 또는 전이성 암을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0155] 일부 구현예에서, 암은, 비노생식기암(예를 들어, 전립선암, 신세포암, 방광암), 부인과암(예를 들어, 난소암, 자궁경부암, 자궁내막암), 폐암, 위장관암(예를 들어, 비전이성 또는 전이성 결장직장암, 췌장암, 위암, 식도암, 간세포암, 담관세포암), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평세포암), 악성 신경교종 및 뇌 전이를 포함하는 뇌암, 악성 종괴종, 비전이성 또는 전이성 유방암(예를 들어, 호르몬 불응성 전이성 유방암), 악성 흑색종, 메르켈(Merkel) 세포 암종 또는 뼈 및 연조직 육종, 및 다발성 골수종, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 골수 형성 이상 증후군 및 급성 림프모구성 백혈병과 같은 혈액 종양을 포함하는 임의의 고형 종양 또는 액상 암이다. 일부 구현예에서, 질환은 비소세포폐암(NSCLC), 유방암(예를 들어, IV기 유방암, 호르몬 불응성 전이성 유방암), 두경부암(예를 들어, 두경부 편평세포암), 전이성 대장암, 호르몬 민감성 또는 호르몬 불응성 전립선암, 결장직장암(예를 들어, IV기 결장직장암), 난소암, 간세포암, 신장세포암, 연조직 육종, 또는 소세포폐암이다.

[0156] 본원에서 사용되는 용어 "암"은 시험관 내(예를 들어, 형질전환된 세포) 또는 생체 내 과증식성 세포 성장을 특징으로 하는 광범위한 장애 부류를 지칭한다. 본 발명의 조성물 및 방법에 의해 치료되거나 예방될 수 있는 병

태는, 예를 들어, 양성 또는 악성 종양, 다양한 과증식증 등을 포함하는 다양한 신생물을 포함한다. 본 발명의 화합물 및 방법은 이러한 병태에 관여하는 원하지 않는 과증식성 세포 성장의 억제 및/또는 회복을 달성할 수 있다.

[0157] 암의 예는, 급성 림프구성 백혈병, 성인; 급성 림프구성 백혈병, 유년기; 급성 골수성 백혈병, 성인; 부신피질 암; 부신피질암, 유년기; AIDS 관련 림프종; AIDS 관련 악성종양; 항문암; 성상세포종, 유년기 소녀; 성상세포종, 유년기 대뇌;담관암, 간외; 방광암; 방광암, 유년기; 골암, 골육종/악성 섬유성 조직구종; 뇌간 신경교종, 유년기; 뇌종양, 성인; 뇌종양, 뇌간 신경교종, 유년기; 뇌종양, 소녀 성상세포종, 유년기; 뇌종양, 대뇌 성상세포종/악성 신경교종, 유년기; 뇌종양, 뇌실막종, 유년기; 뇌종양, 수모세포종, 유년기; 뇌종양, 천막상 원시 신경외배엽 종양, 유년기; 뇌종양, 시각경로 및 시상하부 신경교종, 유년기; 뇌종양, 유년기(기타); 유방암; 유방암 및 임신; 유방암, 유년기; 유방암, 남성; 기관지 선종/유암종, 유년기; 유암종, 유년기; 유암종 종양, 위장; 암종, 부신피질; 암종, 섬세포; 미지의 원발성 암종; 중추신경계 림프종, 원발성;소녀 성상세포종, 유년기; 대뇌 성상세포종/악성 신경교종, 유년기; 자궁 경부암; 소아암; 만성 림프구성 백혈병; 만성 골수성 백혈병; 만성 골수증식성 장애; 건초의 투명 세포 육종; 대장암; 결장직장암, 유년기; 피부 T 세포 림프종; 자궁내막암; 뇌실막종, 유년기; 상피암, 난소; 식도암; 식도암, 유년기; 유잉(Ewing) 종양 계열; 두개의 생식 세포 종양, 유년기; 생식선 외 생식 세포 종양; 간의 담관암; 안암, 안내 흑색종; 안암, 망막모세포종; 담낭암; 위(위장)암; 위(위장)암, 유년기; 위장 유암종 종양; 생식 세포 종양, 두개의, 유년기;생식세포 종양, 성선외; 생식 세포 종양, 난소; 임신성 용모성 종양; 신경교종, 유년기 뇌간; 신경교종, 유년기 시각 경로 및 시상 하부; 털이 세포 백혈병; 두경부암;간세포(간)암, 성인(원발성); 간세포(간)암, 유년기(원발성); 호지킨 림프종, 성인; 호지킨 림프종, 아동기; 임신 중 호지킨 림프종; 인두암; 시상하부 및 시각 경로 신경교종, 아동기; 안내 흑색종; 섬세포 암종(내분비 췌장); 카포시 육종; 신장암; 후두암; 후두암, 유년기; 백혈병, 급성 림프모구성, 성인; 백혈병, 급성 림프모구성, 유년기; 백혈병, 급성 골수성, 성인; 백혈병, 급성 골수성, 유년기; 백혈병, 만성 림프구성; 백혈병, 만성 골수성; 백혈병, 다모 세포; 입술 및 구강암; 간암, 성인(원발성); 간암, 유년기(원발성); 폐암, 비소세포성; 폐암, 소세포; 림프구성 백혈병, 성인 급성; 림프구성 백혈병, 유년기 급성; 림프구성 백혈병, 만성; 림프종, AIDS 관련;림프종, 중추신경계(일차); 림프종, 피부 T 세포; 림프종, 호지킨병, 성인; 림프종, 호지킨병; 유년기; 림프종, 임신 중 호지킨병; 림프종, 비호지킨병, 성인; 림프종, 비호지킨병, 유년기; 림프종, 임신 중 비호지킨병; 림프종, 원발성 중추신경계; 거대글로불린혈증, 발덴스트롬(Waldenstrom); 남성 유방암; 악성 중피종, 성인; 악성 중피종, 유년기; 악성 흉선종; 수모세포종, 유년기; 흑색종; 흑색종, 안내; 메르켈 세포 암종; 악성 중피종; 잠복 원발성을 동반한 전이성 편평 경부암; 다발성 내분비종양 증후군, 유년기; 다발성 골수종/형질 세포 신생물; 균상식육종; 골수이형성 증후군; 골수성 백혈병, 만성;골수성 백혈병, 유년기 급성; 골수종, 다발성; 골수증식성 장애, 만성; 비강 및 부비동암; 비인두암; 비인두암, 유년기; 신경 모세포종; 신경섬유종; 비호지킨 림프종, 성인; 비호지킨 림프종, 유년기; 임신 중 비호지킨 림프종; 비소세포폐암; 구강암, 유년기; 구강 및 입술암; 구강인두암; 뼈의 골육종/악성 섬유성 조직구종; 난소암, 유년기; 난소 상피암; 난소 생식 세포 종양; 난소 저악성 잠재적 종양; 췌장암; 췌장암, 유년기; 췌장암, 섬세포; 부비동 및 비강암; 부갑상선암; 음경암; 갈색 세포종; 송과체 및 천막상 원시 신경외배엽 종양, 유년기; 뇌하수체 종양; 형질 세포 신생물/다발성 골수종; 흉막폐모세포종; 임신 및 유방암; 임신 및 호지킨 림프종; 임신 및 비호지킨 림프종; 원발성 중추신경계 림프종; 원발성 간암, 성인; 원발성 간암, 유년기; 전립선암; 직장암; 신장 세포(신장)암; 신세포암, 유년기; 신장 골반 및 요관, 이행 세포암; 망막모세포종; 횡문근육종, 유년기; 침샘암; 침샘암, 유년기; 육종, 유잉 종양 계열; 육종, 카포시병; 뼈 육종(골육종)/악성 섬유성 조직구종; 육종, 횡문근육종, 유년기; 육종, 연조직, 성인; 육종, 연조직, 유년기; 세자리(Sezary) 증후군; 피부암; 피부암, 유년기; 피부암(흑색종); 피부암, 메르켈 세포; 소세포폐암; 소장암; 연조직 육종, 성인; 연조직 육종, 유년기; 잠재성 원발성, 전이성 편평 경부암;위(위장)암;위(위장)암, 유년기; 천막상 원시 신경외배엽 종양, 유년기; T-세포 림프종, 피부;고환암; 흉선종, 유년기; 흉선종, 악성; 갑상선암; 갑상선암, 유년기; 신우 및 요관의 이행 세포암; 영양막 종양, 임신; 미지의 1차 부위, 암, 유년기; 유년기의 비정상적인 암; 요관 및 신우, 이행 세포암; 요도암; 자궁육종; 질암; 시각 경로 및 시상하부 신경교종, 유년기; 외음부암; 발덴스트롬 거대 글로불린혈증; 및 윌름(Wilms) 종양을 포함한다.

[0158] 약학적 조성물 및 투여

[0159] 본 발명의 항체 또는 제제(본원에서 "활성 화합물"로도 지칭됨), 및 이의 유도체, 단편, 유사체 및 상동체는 투여에 적합한 약학적 조성물에 혼입될 수 있다. 이러한 조성물은 통상적으로 항체 또는 제제 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 약학적 투여와 양립 가능한 임의의 그리고 모든 용매, 분산 배지, 코팅제, 향균 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제 등을 포함하도록 의도

된다. 적절한 담체는, 참조로서 본원에 통합되는, 본 분야의 표준 참조 텍스트인 Remington's Pharmaceutical Sciences의 가장 최신 판에 기술되어 있다. 이러한 담체 또는 희석제의 바람직한 예는 물, 식염수, 링거 용액, 텍스트로오스 용액, 및 5% 인간 혈청 알부민을 포함하지만, 이들로 한정되지는 않는다. 고정유와 같은 리포솜 및 비수성 비히클이 사용될 수도 있다. 약학적 활성 물질에 대한 이러한 매체 및 제제의 사용은 당업계에 잘 알려져 있다. 임의의 종래의 매체 또는 제제가 활성 화합물과 호환되지 않는 경우를 제외하고, 조성물에서의 이의 사용이 고려된다. 보충 활성 화합물 또한 조성물에 혼입될 수 있다.

[0160] 본 발명의 약학적 조성물은 의도된 투여 경로와 호환되도록 제형화된다. 투여 경로의 예는 비경구, 예를 들어, 정맥내, 피내, 피하, 경구(예를 들어, 흡입), 경피(즉, 국소), 점막 통과, 및 직장 투여를 포함한다. 비경구에 사용되는 용액 또는 현탁액, 피내, 또는 피하 적용은 다음의 성분을 포함할 수 있다: 주사용수, 식염수, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 기타 합성 용제와 같은 멸균 희석제; 벤질알코올, 메틸파라벤 등의 향균제; 아스코르브산 또는 아황산수소나트륨과 같은 항산화제; 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)과 같은 킬레이트제; 아세테이트, 시트레이트 또는 포스페이트와 같은 완충제, 및 염화나트륨 또는 텍스트로오스와 같은 장성 조절제. pH는 산 또는 염기, 예컨대 염산 또는 수산화나트륨으로 조절될 수 있다. 비경구 제제는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 앰플, 일회용 주사기 또는 다회 투여 바이알에 봉입될 수 있다.

[0161] 주사 용도에 적합한 약학적 조성물은 멸균 수용액(가용성인 경우) 또는 분산액 및 멸균 주사 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여의 경우, 적절한 담체는 생리식염수, 정균수, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) 또는 인산염 완충 식염수(PBS)를 포함한다. 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 이들의 적절한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산액 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅제의 사용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 향균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우, 등장성 제제, 예를 들어, 설탕, 마니톨, 소르비톨, 염화나트륨과 같은 폴리알코올을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사 가능한 조성물의 장시간 흡수는, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴과 같은 흡수를 지연시키는 제제를 조성물에 포함시킴으로써 이루어질 수 있다.

[0162] 멸균 주사 용액은, 필요에 따라, 위에서 열거된 성분 중 하나 또는 조합을 갖는 적절한 용매에 필요한 양의 활성 화합물을 혼입한 후, 여과 멸균함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 염기성 분산액 매질 및 위에 열거된 것들로부터 요구되는 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클에 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은 활성 성분의 분말과 이전에 멸균 여과된 용액으로부터 임의의 원하는 추가 성분을 생성하는 진공 건조 및 동결건조이다.

[0163] 경구 조성물은 대체로 불활성 희석제 또는 식용 담체를 포함한다. 이들은 젤라틴 캡슐로 포장되거나 정제로 압축될 수 있다. 경구 치료제 투여의 목적을 위해, 활성 화합물은 부형제와 혼입될 수 있고, 정제, 트로슈 또는 캡슐의 형태로 사용될 수 있다. 구강 조성물은 또한 구강청결제로서 사용하기 위한 유체 담체를 사용하여 제조될 수 있으며, 여기에서 유체 담체 내의 화합물은 경구 사용되고 행구고 뱉어내거나 삼켜진다. 약학적으로 적합한 결합제 및/또는 보조제 물질이 조성물의 일부로서 포함될 수 있다. 정제, 알약, 캡슐, 트로슈 등은 다음의 성분 또는 유사한 성질의 화합물을 함유할 수 있다: 미정질 셀룰로오스, 트라가칸트 검 또는 젤라틴과 같은 결합제; 전분 또는 유당과 같은 부형제, 알긴산, 프리모겔 또는 옥수수 전분과 같은 붕해제; 마그네슘 스테아레이트 또는 스테로테스와 같은 윤활제; 콜로이드성 이산화규소와 같은 활택제; 자당 또는 사카린과 같은 감미제; 또는 페퍼민트, 메틸 살리실레이트 또는 오렌지 향료와 같은 향미제.

[0164] 흡입에 의한 투여의 경우, 화합물은 적절한 추진제, 예를 들어, 이산화탄소와 같은 가스, 또는 분무기를 함유하는 가압 용기 또는 디스펜서로부터의 에어로졸 분무의 형태로 전달된다.

[0165] 전신 투여는 또한 점막 또는 경피 수단에 의한 것일 수 있다. 경점막 또는 경피 투여의 경우, 투과하고자 하는 장벽에 적합한 침투제가 제형에 사용된다. 이러한 침투제는 일반적으로 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, 경점막 투여, 세제, 담즙염, 및 푸시딘산 유도체를 포함한다. 경점막 투여는 비강 분무제 또는 좌제의 사용을 통해 달성될 수 있다. 경피 투여의 경우, 활성 화합물은 당업계에 일반적으로 공지된 바와 같이 연고, 고약, 겔 또는 크림으로 제형화된다.

[0166] 화합물은 또한 좌제(예를 들어, 코코아 버터 및 다른 글리세리드와 같은 종래의 좌제 염기를 가짐) 또는 직장

전달을 위한 유지 관장제의 형태로 제조될 수 있다.

[0167] 일 구현예에서, 활성 화합물은, 이식물 및 마이크로캡슐화된 전달 시스템을 포함하는, 방출 제어 제형과 같은, 신체로부터 화합물을 신속하게 제거하지 않도록 보호할 담체와 함께 제조된다. 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르, 및 폴리락트산과 같은 생분해성, 생체적합성 중합체가 사용될 수 있다. 이러한 제형의 제조 방법은 당업자에게 명백할 것이다. 물질은 또한 Alza Corporation 및 Nova Pharmaceuticals, Inc.로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 리포솜 현탁액(바이러스 항원에 대한 단클론 항체를 갖는 감염된 세포에 표적화된 리포솜 포함) 또한 약학적으로 허용 가능한 담체로서 사용될 수 있다. 이들은, 예를 들어, 미국 특허 제4,522,811호에 기술된 바와 같이, 당업자에게 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0168] 투여 용이성 및 투여량 균일성을 위해, 경구 또는 비경구 조성물을 투여량 단위로 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본원에서 사용되는 바와 같은 투여량 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적으로 분리된 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 요구되는 약학적 담체와 연관하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 미리 결정된 양의 활성 화합물을 함유한다. 본 발명의 투여 단위 형태에 대한 사양은 달성하고자 하는 활성 화합물의 고유한 특성 및 특정 치료 효과, 및 개체의 치료를 위해 이러한 활성 화합물을 화합하는 기술에 내재된 한계에 의해 직접적으로 좌우된다.

[0169] 약학적 조성물은 투여 지침과 함께 용기, 팩 또는 디스펜서에 포함될 수 있다.

[0170] **실시예**

[0171] 본 발명은 본 명세서에 첨부된 도면으로 추가로 예시되지만, 이에 한정되지는 않는다. 본 발명의 특정 화합물, 조성물 및 방법들은 특정 구현예에 따라 특이성을 갖는 것으로 기술되었으나, 다음의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것만을 제공하며, 이를 한정하려는 것은 아니다.

[0172] **실시예 1. 항-GM-CSFR α 항체는 T 세포 증식을 억제함**

[0173] 본 실시예의 연구는 T 세포 증식에 대한 골수 모질단의 억제 가능성이 GM-CSF 길항제에 의해 억제될 수 있음을 나타낸다.

[0174] 항-GM-CSFR α 항체의 치료 유무와 상관없이 CD14+ 세포를 사용하여 T 세포 증식 분석을 수행하였다. 요약하여, 당업계에 공지된 방법에 따라 채장암 환자로부터 수득된 혈액 샘플(PBMC)로부터 CD14+(MDSC) 세포를 분리하였다. 분리된 CD14+ 세포를 항-GM-CSFR α 항체로 48시간 동안 치료하였다. 다음으로, 카르복시-폴루오레세인 디아세테이트 숙신이미딜 에스테르(CFSE)로 표지된 CD3+ T 세포를 항-GM-CSFR α 항체로 치료하거나 치료하지 않은 CD14+ 세포와 96시간 동안 공동 배양하고, CFSE 희석(분할된 세포)으로 증식을 결정하였다. 공동 배양하지 않은 T 세포를 음성 대조군으로서 사용하였다.

[0175] 도 1에 도시된 바와 같이, T 세포 증식은 미치료 CD14+ 세포로 배양한 후 유의하게 억제된다. 한편, 항-GM-CSFR α 항체로 치료한 CD14+ 세포는 T 세포 증식을 증가시켰으며, 이는 항-GM-CSFR α 항체의 추가는 T 세포 증식을 억제하고 MDSC의 억제 가능성을 예방함을 시사한다.

[0176] **실시예 2. 암 세포 조건화된 배지는 단백질 발현형 MDSC로 분극화함**

[0177] 본 연구에서, CD+14 단백질 발현 암 세포 유래의 조건화된 배지와 함께 배양될 때의 표현형 MDSC(HLA-DR^{낮음})의 증가를 다양한 암 세포주를 사용하여 예시하였다.

[0178] GM-CSF의 발현에 대해 암 세포주를 분석하였다. 이러한 특정 연구에서, 2개의 결장직장 암종(HCT116 및 SW-480), 2개의 채장암종(Panc-1 및 Capan-1), 자궁경부 선암종(HeLa), 및 악성 흑색종(A375) 세포주를 GM-CSF 발현에 대해 측정하였다. 도 2에 나타난 바와 같이, 암 세포주는 GM-CSF를 상이한 수준으로 발현한다. 특히, SW480 및 Capan-1은 상대적으로 높은 GM-CSF의 발현을 갖는 반면, HeLa 세포는 상대적으로 낮은 GM-CSF의 발현을 갖는다.

[0179] 종양 조건화 배지(CM)를 생성하기 위해, 세포주를 플레이팅하고 당업계에 공지된 방법에 따라 배양하였다. 이어서, CD14+ 세포를 CM의 존재 하에 6일 동안 배양하고 유전자 및 단백질 발현에 대해 분석하였다. 낮은 수준의 HLA-DR 바이오마커는 MDSC 표현형을 나타낸다. 도 3은 정상 배양 배지에서 성장시킨 CD+14 세포와 비교하여, GM-CSF-발현 암 세포의 조건화된 배지로 CD14+ 단백질을 배양했을 때의 표현형 MDSC의 증가를 나타낸다. 결과는 높은 GM-CSF 발현을 갖는 암 세포주로부터의 CM이 MDSC의 높은 유도를 가짐을 보여주며, 이는 GM-CSF가 단백질 발현형 MDSC로의 분극화에 기여함을 시사한다.

[0180] **실시예 3. 항-GM-CSFR α 항체는 MDSC에서 PD-L1 상향조절을 차단함**

[0181] 본 실시예의 연구는 GM-CSF가 표현형 MDSC 상에서 PD-L1의 발현을 유도한다는 본 발명자에 의한 놀라운 발견을 예시한다. 특히, GM-CSF 길항제를 사용하는 치료는 GM-CSF 발현 암 세포주로부터 조건화된 배지(CM)로 치료한 단핵구 상에서 PD-L1의 발현을 억제하기에 충분하다.

[0182] 면역 관문 차단 항체의 주요 과제 중 하나는 제한된 T 세포 반응 또는 면역학적으로 "비반응성(cold)" 종양을 갖는 악성 종양에 있다. 이러한 비반응성 종양은 침윤성 T 세포를 거의 함유하지 않으며 인식되지 않고, 면역계에 의한 강력한 반응을 유발하지 않으며, 현재의 면역요법으로 치료하기 어렵다. 본 발명자는 놀랍게도 GM-CSF가 면역억제 활성화에 기여하는 MDSC의 표면 상의 관문 단백질인 PD-L1을 상향조절한다는 것을 발견하였다. 본 실시예의 연구는 항-GM-CSFR α 항체가 "비반응성" 종양을 "반응성" 종양으로 전환하는데 사용될 수 있으며, 이는 면역요법의 효과 및 민감도를 증가시킬 가능성이 있음을 나타낸다.

[0183] 본 연구에서, CD14+ 단핵구가 GM-CSF 발현 암 세포 유래의 조건화된 배지와 함께 배양될 때의 MDSC 상의 PD-L1 발현 수준의 변화를 다양한 암 세포주를 사용하여 평가하였다. 도 4에 나타난 바와 같이, GM-CSF 발현 암 세포주로부터의 조건화된 배지를 CD14+ 단핵구에 첨가하는 단계는 베이스라인(배양 배지)과 비교하여 PD-L1 발현 수준을 증가시켰다. 낮은 수준의 GM-CSF 발현을 나타낸 HeLa 세포주(도 2 참조)는 PD-L1 발현을 상향조절하지 않았다. CM과 조합된 재조합 GM-CSF(CM+GM-CSF)를 첨가하는 단계는 PD-L1의 발현을 증가시켰으며, 이는 GM-CSF가 표현형 MDSC 상의 PD-L1의 발현을 유도함을 나타낸다. PD-L1의 스파이크는 CM 단독의 낮은 기준선 PD-L1 발현을 갖는 세포주(예를 들어, Panc-1 및 HeLa 세포)에서 더 두드러졌다. 항-GM-CSFR α 항체가 PD-L1 발현에 미치는 효과 또한 조사하였다. 재조합 GM-CSF의 부재 또는 존재(각각 CM+Ab 및 CM+GM-CSF+Ab) 하에, CM에서 항-GM-CSFR α 항체로 MDSC를 치료한 결과, CM 단독 또는 CM + GM-CSF와 각각 비교하여 PD-L1 수준이 현저하게 감소하였다. 이들 데이터는 항-GM-CSFR α 항체가 GM-CSF 발현 암 세포주로부터 조건화된 배지로 치료한 CD14+ 단핵구(MDSC)에서 PD-L1 상향조절을 억제한다는 것을 나타낸다.

[0184] **실시예 4. 항-GM-CSFR α 항체는 MDSC에서 PD-L1 발현을 억제함**

[0185] 본 실시예의 연구는, GM-CSF 길항제가 MDSC 상의 PD-L1 수치가 이미 증가되었을 때 CM 치료와 동시에 또는 후에 추가되는지의 여부에 상관없이, GM-CSF 길항제가 GM-CSF 발현 암 세포주(CM)로부터의 조건화된 배지로 처리한 MDSC 상에서의 PD-L1 발현을 억제할 수 있음을 나타낸다.

[0186] 도 5a에 나타난 바와 같이, GM-CSF(10 ng/mL) 및 항-GM-CSFR α 항체(100 μg/mL)가 있거나 없는 GM-CSF 암 세포주(CM)로부터의 조건화된 배지를 (표 1에 나타난 바와 같이) CD14+ 단핵구(MDSC)에 1일차에 첨가하였다. 배양 3일 후, MDSC 세포를 PD-L1의 발현에 대해 분석하였다.

[표 1]

| 시료 | 내용물 |
|----|-----------------------------|
| A | 대조군(배양 배지) |
| B | CM |
| C | CM + 항-GM-CSFRα 항체 |
| D | CM + GM-CSF |
| E | CM + GM-CSF + 항-GM-CSFRα 항체 |

[0187]

[0188] 실시예 3과 일관되게, GM-CSF를 발현하는 암 세포주로부터의 조건화된 배지를 MDSC(B; CM) 또는 재조합 GM-CSF를 갖는 CM(D; CM+GM-CSF)에 첨가하는 단계는 베이스라인(A; 배양 배지)과 비교하여 PD-L1 발현 수준을 증가시켰다. 또한, 항-GM-CSFR α 항체가 도 5a의 시료 C 및 E에 도시된 바와 같이, CM 또는 CM+GM-CSF와 각각 동시에 첨가되었을 때, PD-L1의 감소가 각각 관찰되었으며, 이는 항-GM-CSFR α 항체가 MDSC 상에서 PD-L1의 상향조절을 차단함을 시사한다.

[0189] 다음으로, MDSC 상에서의 PD-L1의 상승된 수준이 이미 설정되었을 때의 PD-L1 발현 수준에 대한 GM-CSF 차단

효과를 조사하기 위해 MDSC를 조건화된 배지와 함께 배양한 후 항-GM-CSFR α 항체를 첨가하는 단계의 효과를 조사하였다. 이 특정 설정에서, MDSC를 재조합 GM-CSF가 부재하거나 존재하는 조건화된 배지에서 48시간 동안 배양하였다(도 5b의 시료 B 내지 E). 이어서, 항-GM-CSFR α 항체를 도 5b의 시료 C 및 E에 3일차(48시간 후)에 첨가하였다. 시료 A의 MDSC를 배양 배지에서 3일 동안 대조군으로서 배양하였다. MDSC의 표현형 분석을 4일차에 수행하였다. 도 5b에 나타난 바와 같이, GM-CSF 발현 암 세포주로부터의 조건화된 배지로 MDSC를 배양한 후의 항-GM-CSFR α 항체로 MDSC를 치료한 결과(시료 C 및 E), MDSC 상에서의 PD-L1의 발현 수준이 억제되었다. 특히, 항-GM-CSFR α 항체로 단 24시간 치료 후, 시료 C 및 E에서의 PD-L1 발현은 시료 B 및 D와 비교하여 각각 감소하였다.

[0190] **실시예 5. 항-GM-CSFR α 항체는 MDSC 매개 T 세포 억제를 감소시킴**

[0191] 본 실시예의 연구는 T 세포 증식에 대한 골수 모집단의 억제 가능성이 GM-CSF 길항체에 의해 억제될 수 있음을 추가로 나타낸다.

[0192] 이러한 특정 실험에서, GM-CSF 발현 암 세포주로부터의 조건화된 배지로 치료한 단핵구를 T 세포 증식 분석에 사용하였다. 요약하여, 단핵구를 GM-CSF 발현 암 세포주(CM)로부터 조건화된 배지에서 3일 동안 배양하였다(CM-처리된 단핵구). 1 μM CFSE로 표지하고 IMDM 배양 배지에서 10 ng/mL의 IL-2 및 10 uL의 가용성 CD3/CD28 T 세포 활성화제로 자극하여 T 세포(1x10⁵ 세포)를 제조하였다. 그런 다음, 도 6에 나타난 바와 같이 보충의 인간 재조합 GM-CSF(10 ng/mL) 및/또는 항-GM-CSFR α 항체(100 μg/mL)를 포함하거나 포함하지 않는 CM-처리된 단핵구와 함께 혼합 림프구 반응(MLR)에서 자극된 T 세포를 공동 배양하였다(2:1 단핵구:T 세포의 비율). 건강한 단핵구와 함께 IMDM 배양 배지에서 자극된 T 세포를 대조군으로서 사용하였다. T 세포를 5일 동안 증식시키고, CD4 및 CD8에 대해 수집하고 염색하였으며, 이는 헬퍼 T 및 세포독성 T 세포에 대한 마커이다. 세포 증식을 유세포 계측법으로 측정하고, CFSE 회색으로 평가하였다.

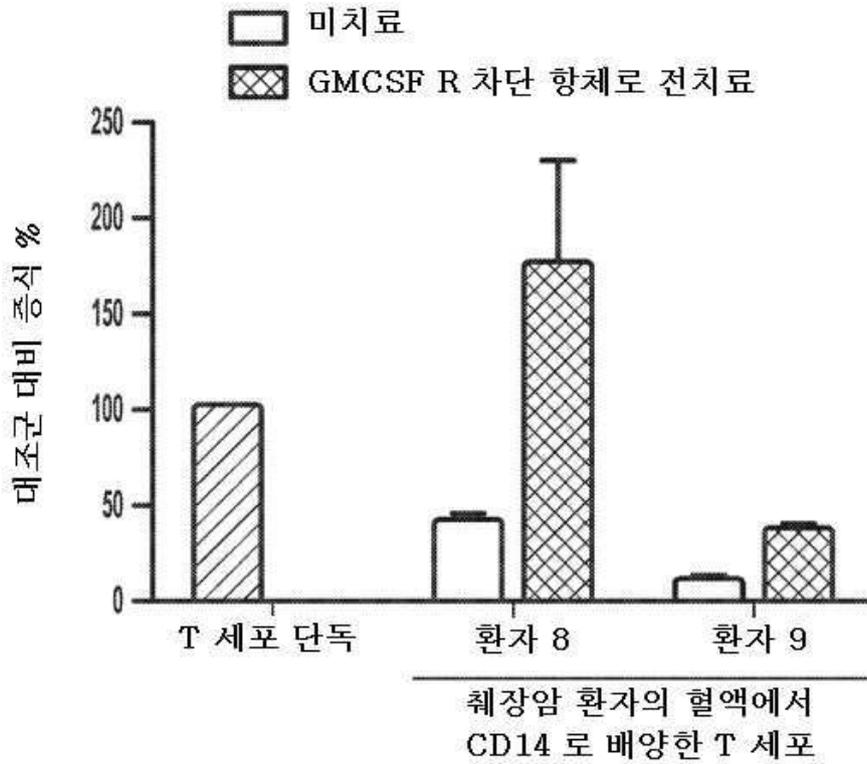
[0193] 도 6은 세포 증식 %로서의 T 세포 증식 분석의 결과(좌측 패널) 및 유세포 계측법에 의한 최대 %(MFI)(CD4+ 또는 CD8+ 세포에서 CFSE 회색의 신호 검출)로서의 결과(우측 패널)를 나타낸다. 도 6에 나타난 바와 같이, CM으로 치료한 단핵구는 대조군과 비교하여 T 세포 증식을 억제하였고 재조합 GM-CSF의 첨가는 T 세포 증식을 더욱 억제하였다. 항-GM-CSFR α 항체(Ab)를 사용한 치료는 MDSC 매개 T 세포 억제를 감소시켰다.

[0194] **등가물**

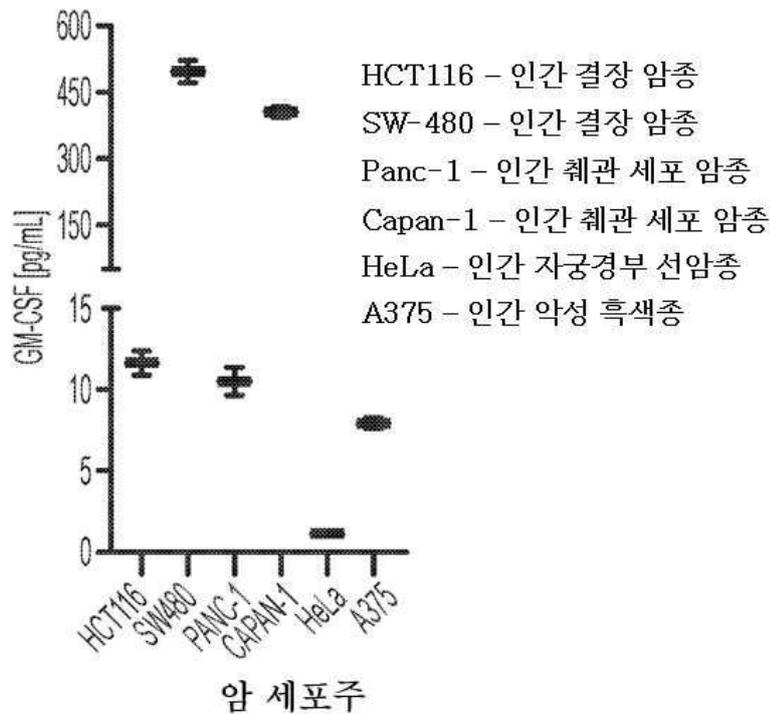
[0195] 당업자는 본원에 기술된 본 발명의 특정 구현예에 대한 많은 등가물을, 일상적인 실험 이하로 이용하여 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 본 발명의 범위는 상기 설명에 한정되는 것으로 의도되는 것이 아니라, 다음의 청구범위에 기재된 바와 같다.

도면

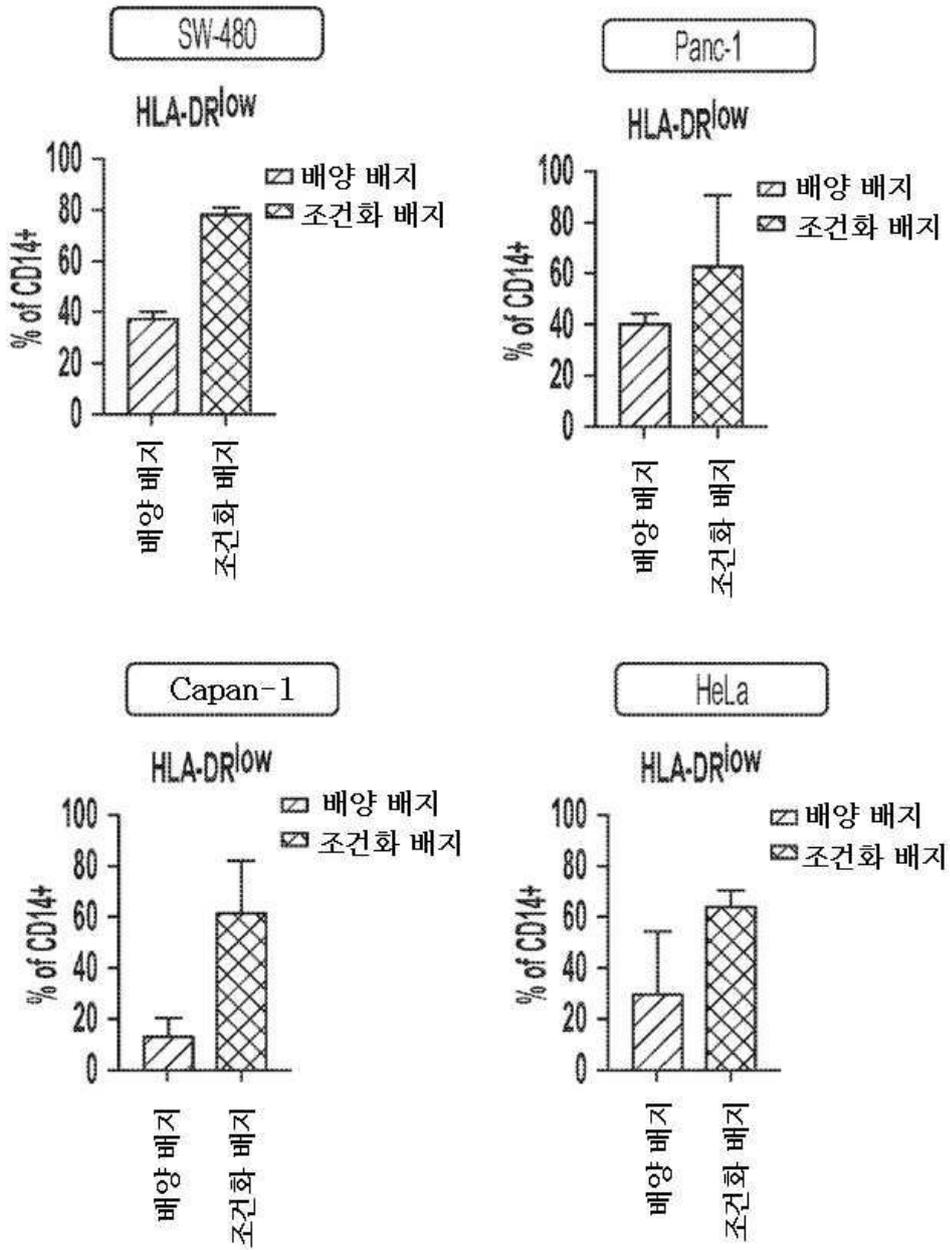
도면1



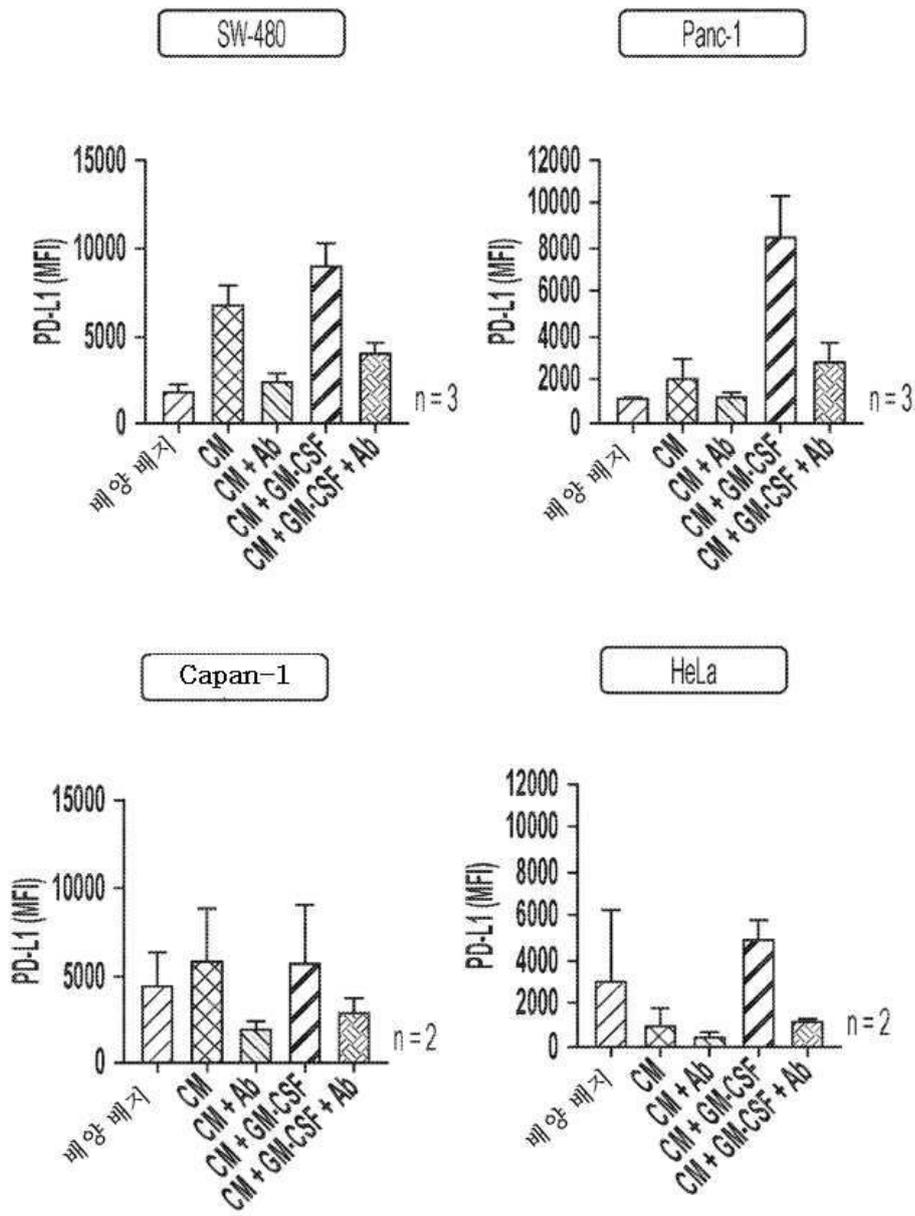
도면2



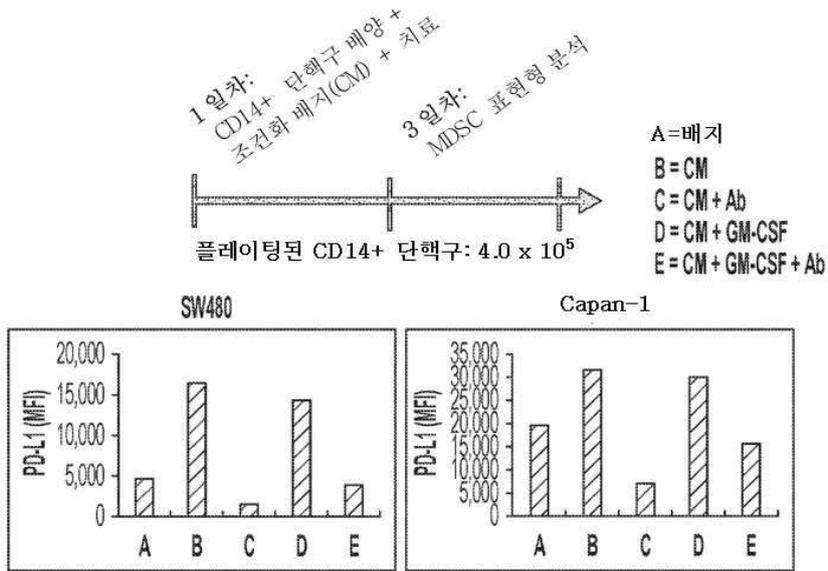
도면3



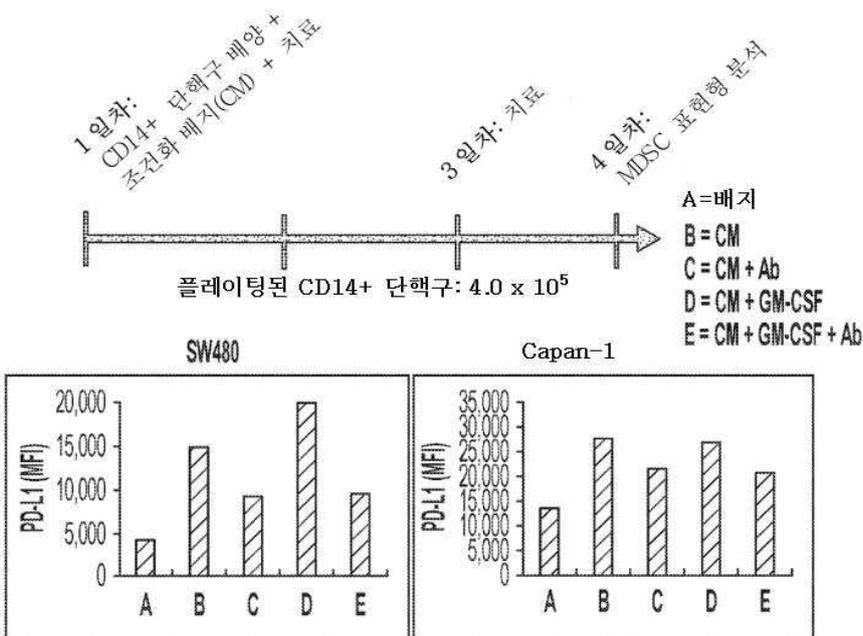
도면4



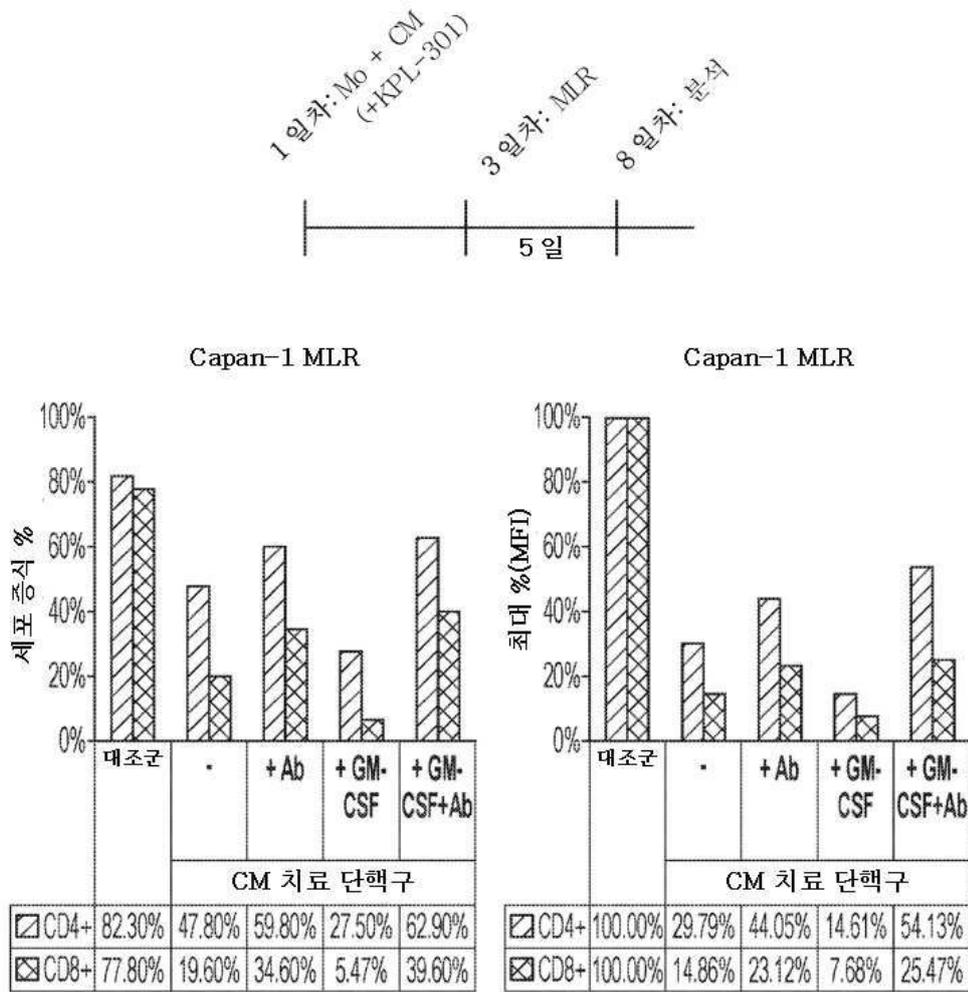
도면5a



도면5b



도면6



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Kiniksa Pharmaceuticals, Ltd.

<120> TREATMENT OF CANCERS WITH GM-CSF ANTAGONISTS

<130> KPL-035WO

<150> 62/856,638

<151> 2019-06-03

<160> 8

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 1

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

<210> 2

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 2

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

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

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 6

Thr Gly Ser Gly Ser Asn Ile Gly Ala Pro Tyr Asp Val Ser

1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 7

His Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 8

Ala Thr Val Glu Ala Gly Leu Ser Gly Ser Val

1 5 10