

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0110274

(43) 공개일자 2023년07월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 31/517 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2818 (2013.01)

A61K 31/517 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-7018019

(22) 출원일자(국제) 2021년11월16일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2023년05월26일

(86) 국제출원번호 PCT/US2021/059534

(87) 국제공개번호 WO 2022/108931

국제공개일자 2022년05월27일

(30) 우선권주장

63/114,797 2020년11월17일 미국(US)

(71) 출원인

씨젠 인크.

미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브
에스.이. 21823

피터 맥칼럼 캔서 인스티튜트

오스트레일리아, 빅토리아 3000, 멜버른, 그래턴
스트리트 305

(72) 발명자

피터슨, 스콧

미국 98021 워싱턴주 보텔 30번 드라이브
에스.이. 21823 씨젠 인크.사내

로이, 쉐렌

오스트레일리아, 빅토리아 3124, 캄버웰, 세인트
존스 애비뉴 42

(74) 대리인

김영철, 김 순 영

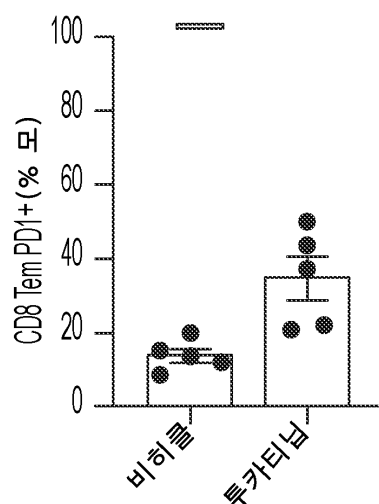
전체 청구항 수 : 총 119 항

(54) 발명의 명칭 투카티닙 및 항-PD-1/항-PD-L1 항체의 조합으로 암을 치료하는 방법

(57) 요약

본 발명은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체, 또는 이의 항원 결합 단편의 조합에 의해 고형 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체, 또는 이의 항원 결합 단편의 조합으로 고형 종양을 치료하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 16/2827 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 항체는 예정사-1(PD-1: Programmed Death-1)에 결합하고 PD-1 활성을 억제하고, 암은 고형 종양인, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스텔리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR: complementary determining region)을 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스텔리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스텔리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스텔리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스텔리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펩트올리주맙인, 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맙인, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 정맥내로 투여되는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서의 하나 이상의 치료 효과는 기준선에 비해 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 개선되는, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 하나 이상의 치료 효과는 암으로부터 유래된 종양의 크기, 객관적 반응율, 반응 지속기간, 반응까지의 시간, 무진행 생존기간 및 전체 생존기간으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 감소되는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 객관적 반응율은 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%인, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타내는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타내는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 반응의 지속기간은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도

약 5년인, 방법.

청구항 19

대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 대상체에게 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 항체는 예정사 리간드-1(PD-L1: Programmed Death Ligand-1)에 결합하고 PD-L1 활성을 억제하고, 암은 고형 종양인, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BMS936559의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 방법.

청구항 23

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 더발루맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 방법.

청구항 24

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아벨루맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는, 방법.

청구항 25

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 26

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 27

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 28

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 29

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙인, 방법.

청구항 30

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BMS-936559인, 방법.

청구항 31

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 더발루맙인, 방법.

청구항 32

제19항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아벨루맙인, 방법.

청구항 33

제19항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 정맥내로 투여되는, 방법.

청구항 34

제19항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서의 하나 이상의 치료 효과는 기준선에 비해 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 개선되는, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 하나 이상의 치료 효과는 암으로부터 유래된 종양의 크기, 객관적 반응율, 반응 지속기간, 반응까지의 시간, 무진행 생존기간 및 전체 생존기간으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 36

제19항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 감소되는, 방법.

청구항 37

제19항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 객관적 반응율은 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%인, 방법.

청구항 38

제19항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타내는, 방법.

청구항 39

제19항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타내는, 방법.

청구항 40

제19항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 반응의 지속기간은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는

이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년인, 방법.

청구항 41

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 자연 살해(NK) 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 42

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, PD-1을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, IFN γ 를 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 44

제1항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, TIM3을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 45

제1항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, OX40을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 46

제1항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, FOXP3을 발현하는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, FOXP3을 발현하지 않는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 48

제1항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, Ki67을 발현하는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, CD4+ T 세포 대 CD8+ T 세포의 비는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 50

제1항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 중성구의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소되는, 방법.

청구항 51

제1항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, CD11b 수지상 세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 52

제1항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 대식세포를 발현하는 MHC-II 고의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가되는, 방법.

청구항 53

제1항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 대식세포를 발현하는 MHC-II 저의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소되는, 방법.

청구항 54

제1항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 HER2+ 고형 종양인, 방법.

청구항 55

제1항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현하는 것으로 결정되었던, 방법.

청구항 56

제1항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현하는, 방법.

청구항 57

제55항 또는 제56항에 있어서, HER2의 돌연변이체 형태는 DNA 시퀀싱에 의해 결정되는, 방법.

청구항 58

제55항 또는 제56항에 있어서, HER2의 돌연변이체 형태는 RNA 시퀀싱을 결정함으로써 결정되는, 방법.

청구항 59

제55항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, HER2의 돌연변이체 형태는 핵산 시퀀싱에 의해 결정되는, 방법.

청구항 60

제59항에 있어서, 핵산 시퀀싱은 차세대 시퀀싱(NGS: next-generation sequencing)인, 방법.

청구항 61

제55항 또는 제56항에 있어서, HER2의 돌연변이체 형태는 중합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 결정되는, 방법.

청구항 62

제55항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, HER2의 돌연변이체 형태는 대상체로부터 얻은 샘플을 분석함으로써 결정되는, 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 대상체로부터 얻은 샘플은 무세포 혈장 샘플인, 방법.

청구항 64

제62항에 있어서, 대상체로부터 얻은 샘플은 종양 생검인, 방법.

청구항 65

제55항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, HER2 돌연변이는 서열 번호 1의 아미노산 서열과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, HER2 돌연변이는 활성화 돌연변이인, 방법.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, HER2 돌연변이는 세포외 도메인, 키나제 도메인 또는 막관통/막근접 도메인 또는 임의의 이들의 조합에서의 돌연변이인, 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, HER2 돌연변이는 G309A, G309E, S310F, S310Y, C311R, C311S 및 C334S로 이루어진 군으로부터 선택된 세포외 도메인에서의 돌연변이인, 방법.

청구항 69

제67항에 있어서, HER2 돌연변이는 Y772, G776, G778 및 T798로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이인, 방법.

청구항 70

제67항에 있어서, HER2 돌연변이는 G776 YVMA 삽입인, 방법.

청구항 71

제67항에 있어서, HER2 돌연변이는 T733I, L755P, L755S, I767M, L768S, D769N, D769Y, D769H, V777L, V777M, L841V, V842I, N857S, T862A, L869R, H878Y 및 R896C로 이루어진 군으로부터 선택된 키나제 도메인에서의 돌연변이인, 방법.

청구항 72

제67항에 있어서, HER2 돌연변이는 아미노산 잔기 V697에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이인, 방법.

청구항 73

제67항에 있어서, HER2 돌연변이는 S653C, I655V, V659E, G660D 및 R678Q로 이루어진 군으로부터 선택된 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이인, 방법.

청구항 74

제55항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 HER2 증폭을 갖지 않고, HER2 증폭의 부재는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정되는, 방법.

청구항 75

제55항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 0 또는 1+의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정되는, 방법.

청구항 76

제55항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 HER2 단백질 수준의 2배 미만의 증가를 갖는, 방법.

청구항 77

제1항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 HER2 과발현/증폭을 포함하는 것으로 결정되었던, 방법.

청구항 78

제1항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 HER2 과발현/증폭을 포함하는, 방법.

청구항 79

제77항 또는 제78항에 있어서, HER2 과발현은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된 것과 같이 3+ 과발현인, 방법.

청구항 80

제77항 또는 제78항에 있어서, HER2 증폭은 인시츄 혼성화 검정에 의해 결정되는, 방법.

청구항 81

제80항에 있어서, 인시츄 혼성화 검정은 형광 인시츄 혼성화(FISH) 검정인, 방법.

청구항 82

제80항에 있어서, 인시츄 혼성화 검정은 색소생산성 인시츄 혼성화인, 방법.

청구항 83

제77항 또는 제78항에 있어서, HER2 증폭은 NGS에 의해 조직에서 결정되는, 방법.

청구항 84

제77항 또는 제78항에 있어서, HER2 증폭은 혈액 기반 NGS 검정에 의해 순환 종양 DNA(ctDNA)에서 결정되는, 방법.

청구항 85

제1항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 전이성 고형 종양인, 방법.

청구항 86

제1항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 국소로 진행된, 방법.

청구항 87

제1항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 절제 불가능한, 방법.

청구항 88

제1항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 자궁경부암, 자궁암, 담낭암, 담관암종, 요로상피암, 폐암, 유방암, 위식도암 및 결장직장암으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 89

제88항에 있어서, 유방암은 HER2+ 유방암인, 방법.

청구항 90

제88항 또는 제89항에 있어서, 유방암은 호르몬 수용체 양성(HR+) 유방암인, 방법.

청구항 91

제88항에 있어서, 폐암은 비소세포 폐암인, 방법.

청구항 92

제1항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 트라스투주맵에 민감한, 방법.

청구항 93

제1항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양은 트라스투주맵에 내성인, 방법.

청구항 94

제1항 내지 제93항 중 어느 한 항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 약 150 mg 내지 약 650 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 95

제94항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 96

제94항 또는 제95항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 1회 또는 2회 투여되는, 방법.

청구항 97

제96항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 2회 약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 방법.

청구항 98

제1항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 대상체에게 경구로 투여되는, 방법.

청구항 99

제1항 내지 제98항 중 어느 한 항에 있어서, 암을 치료하기 위해 대상체에게 하나 이상의 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 100

제99항에 있어서, 하나 이상의 추가 치료제는 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편인, 방법.

청구항 101

제100항에 있어서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러의 CDR을 포함하는, 방법.

청구항 102

제100항에 있어서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 103

제100항에 있어서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러인, 방법.

청구항 104

제100항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 CTLA4를 발현하는, 방법.

청구항 105

제1항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-1을 발현하는, 방법.

청구항 106

제1항 내지 제105항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체로부터의 암 세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약

9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-L1을 발현하는, 방법.

청구항 107

제1항 내지 제106항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체를 치료하는 것은 적어도 약 85%의 종양 성장 억제(TGI) 지수를 생성시키는, 방법.

청구항 108

제1항 내지 제107항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체를 치료하는 것은 약 100%의 TGI 지수를 생성시키는, 방법.

청구항 109

제1항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 하나 이상의 부작용을 갖고, 하나 이상의 부작용을 제거하거나 이의 중증도를 감소시키기 위해 추가 치료제를 추가로 투여받는, 방법.

청구항 110

제1항 내지 제109항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 하나 이상의 부작용을 발생시킬 위험에 있고, 하나 이상의 부작용 예방하거나 이의 중증도를 감소시키기 위해 추가 치료제를 추가로 투여받는, 방법.

청구항 111

제109항 또는 제110항에 있어서, 하나 이상의 부작용은 3 등급 이상의 부작용인, 방법.

청구항 112

제109항 또는 제110항에 있어서, 하나 이상의 부작용은 심각한 부작용인, 방법.

청구항 113

제1항 내지 제112항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.

청구항 114

제1항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있는, 방법.

청구항 115

제1항 내지 제114항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있는, 방법.

청구항 116

제19항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있는, 방법.

청구항 117

제100항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있는, 방법.

청구항 118

하기를 포함하는 키트:

(a) 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물;

(b) 항체 또는 이의 항원 결합 단편이되, 항체는 예정사-1(PD-1)에 결합하고 PD-1 활성을 억제하는 항체 또는

이의 항원 결합 단편; 및

(c) 제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 방법에 따른 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 사용을 위한 설명서.

청구항 119

하기를 포함하는, 키트:

(a) 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물;

(b) 항체 또는 이의 항원 결합 단편이되, 항체는 예정사 리간드-1(PD-L1)에 결합하고 PD-L1 활성을 억제하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 및

(c) 제19항 내지 제40항 중 어느 한 항의 방법에 따른 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 사용을 위한 설명서.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2020년 11월 17일에 출원된 미국 가출원 제63/114,797호의 우선권 이익을 주장하고, 이의 개시내용은 모든 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합에 의해 고형 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합에 의해 고형 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 투카티닙($(N^4-(4-([1,2,4]\text{트리아졸로}[1,5-a]\text{피리딘}-7\text{-일옥시})-3\text{-메틸페닐})-N^6-(4,4\text{-디메틸}-4,5\text{-디하이드로옥사졸-2-일})\text{퀴나졸린}-4,6\text{-디아민})$ (TUKYSA™; 이전에 ARRY-380 및 ONT-380으로서 알려짐)은 HER2의 경구로(PO) 투여되는 강력하고 고도로 선택적인 소분자 티로신 키나제 억제제(TKI)이다. 투카티닙은 시험관내 HER2의 강력한 억제제이고, 세포 신호전달 검정에서 HER2에 대해 밀접하게 관련된 키나제 EGFR과 비교하여 1000배 초과로 더 선택적이다. HER2에 대한 투카티닙의 선택도는 이중 HER2/EGFR 억제제에 의해 보일 수 있는 EGFR 관련된 독성에 대한 가능성을 감소시킨다. 투카티닙은 HER2 추진 미토겐 활성화된 단백질 및 PI3 키나제 신호전달 경로를 억제하여서, 종양 세포 증식, 생존 및 전이를 억제한다.

[0006] ERBB2 유전자에 의해 암호화된 인간 상피 성장 인자 수용체 2(HER2)는 HER1(상피 성장 인자 수용체[EGFR]로도 알려짐), HER2, HER3 및 HER4를 포함하는 4개의 관련된 수용체 티로신 키나제의 구성원의 부분이다. HER1-4는 세포의 리간드 결합 영역 및 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 단일-통과 막관통 당단백질 수용체이다. HER2는 알려진 리간드를 갖지 않지만, 이것은 다른 HER 패밀리 수용체에 대한 바람직한 이합체화 파트너이다. HER2는 종양에서 과발현될 때 자가인산화하는 리간드 독립적 동종이합체 복합체를 형성한다. HER2 동종이합체화 또는 이중이합체화는 Ras/Raf/MEK/MAPK, PI3K/AKT, Src 및 STAT 경로를 포함하는 다수의 신호전달 캐스케이드를 활성화한다. 이 신호전달 경로는 세포 증식, 아포토시스 억제 및 전이로 이어진다.

[0007] HER2는 다수의 고형 종양에서 검증된 표적이고, 항-HER2 생물체 및 소분자-약물은 HER2 과발현/증폭된 유방암 및 위암을 갖는 환자에 대해 허가되었다. 대략 15% 내지 20%의 유방암에서 HER2 유전자의 증폭 또는 이의 단백질의 과발현이 발생한다.

[0008] 유방암, 위암 및 결장직장암을 포함하는 통상적인 HER2+ 암에서, HER2의 증폭은 또 다른 ErbB-패밀리 구성원과의 동종이합체화 또는 이중이합체화 중 어느 하나를 통한 강한 신호 변환으로 이어진다. 이는 MAP 키나제 및 포스파티딜-이노시톨-3(PI3) 키나제 경로 둘 다의 하류 활성화를 발생시키고, 이는 결국 미토겐성(mitogenicity) 및 생존율을 향상시킨다.

- [0009] 그러나, HER2 발현은 일부 암에서 증폭되지 않고, 오히려 HER2는 신호전달 및 미토겐성을 또한 증가시키는 키나제 도메인에서의 활성화 돌연변이를 함유할 수 있다. WO 2018/200505호를 참조한다. HER2 활성화 돌연변이는 다양한 암 유형에서 종양형성 드라이버로서 작용할 수 있다. WO 2018/200505호를 참조한다. 이들 HER2 돌연변이체 암의 대부분은 HER2-변경된 암의 중요한 하위그룹이 면역조직화학(IHC) 또는 인시츄 혼성화(ISH) 방법에 의해 검출되지 않는다는 결과로 동시적인 HER2 유전자 증폭과 연관되지 않았다. 임상에서, 이들은 종양 생검 또는 순환 무세포 DNA(cfDNA) 중 어느 하나에서 차세대 시퀀싱(NGS)에 의해 확인될 수 있다. *Annals of Oncol* 28:136-141 (2017). 전임상 데이터는 HER2 "핫 스팟" 돌연변이가 구성적으로 활성화될 수 있고, 시험관내 및 생체내 형질 전환 능력을 갖고, 항-HER2 기반 치료에 가변적인 민감도를 나타낼 수 있다는 것을 나타낸다. *J Mol Diagn*, 17(5):487-495 (2015), *Nat Gen* 51, 207-216 (2019). 최근의 임상 실험은 또한 HER2 돌연변이를 보유하는 다양한 종양에 대한 HER2 표적화된 약물의 잠재적인 활성을 밝혀냈다. HER2 표적화된 제제는 이 활성화 돌연변이를 보유하는 암의 치료에 잠재적으로 유용할 수 있다. *ESMO Open* 2017; 2: e000279. 그러나, HER2 돌연변이를 갖는 암을 표적화하는 노력은 가능하게는 이의 낮은 빈도, 이 돌연변이의 생물학적 활성의 부적절한 이해 및 패신저 돌연변이로부터 드라이버를 분리하는 데 있어서의 어려움 때문에 제한된 임상 성공으로 충족되었다. *The Oncologist* 24(12):e1303-e1314 (2019). 이 HER2 돌연변이된 암에서의 HER2 관련된 치료의 역할은 적극적 탐구의 대상이다.
- [0010] 면역 반응을 조절하는 다수의 비중복 분자 경로의 표적화된 치료는 항종양 면역요법을 향상시킬 수 있다. 그러나, 모든 조합이 허용 가능한 안전성 및/또는 효능을 갖지 않는다. 암의 치료를 위한, 특히 유방암 및 자궁경부암의 치료를 위한 허용 가능한 안전성 프로파일 및 높은 효능을 갖는 병용 치료에 대한 수요가 여전한다. 면역 반응을 조절하는 다수의 비중복 분자 경로의 표적화된 치료는 항종양 면역요법을 향상시킬 수 있다. 그러나, 모든 조합이 허용 가능한 안전성 및/또는 효능을 갖지 않는다. 암의 치료를 위한, 특히 HER2+ 고형 종양의 치료를 위한 허용 가능한 안전성 프로파일 및 높은 효능을 갖는 병용 치료에 대한 수요가 여전한다.
- [0011] 특허 출원, 특허 공보 및 과학 문헌을 포함하는 본원에 인용된 모든 참고문헌은 각각의 개별 참고문헌이 참고로 포함된 것으로 구체적으로 및 개별적으로 표시되는 것처럼 본원에 그 전체가 참고로 포함된다.

발명의 내용

- [0012] 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 제공되고, 상기 방법은 대상체에게 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 항체는 예정사-1(PD-1)에 결합하고 PD-1 활성을 억제하고, 암은 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트롤리주맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어지는 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펙트롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맙이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맙이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맙이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맙이다.

이의 항원 결합 단편은 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 대상체에서의 하나 이상의 치료 효과는 기준선에 비해 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 개선된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 암으로부터 유래된 종양의 크기, 객관적 반응율, 반응 지속기간, 반응까지의 시간, 무진행 생존기간 및 전체 생존기간으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 감소된다. 일부 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 반응의 지속기간은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년이다. 일부 실시형태에서, 자연 살해(NK) 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, PD-1을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, IFN γ 를 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, TIM3을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, OX40을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, FOXP3을 발현하는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, FOXP3을 발현하지 않는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, Ki67을 발현하는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, CD4+ 세포 대 CD8+ T 세포의 비는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, 중성구의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소된다. 일부 실시형태에서, CD11b 수지상 세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, MHC-II 고발현 대식세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, MHC-II 저발현 대식세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2+ 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현하는 것으로 결정되었다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현한다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 DNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 결정 RNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 핵산 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 핵산 시퀀싱은 차세대 시퀀싱(NGS)이다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 중합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 대상체로부터 얻은 샘플을 분석함으로써 결정된다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터 얻은 샘플은 무세포 혈장 샘플이다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터 얻은 샘플은 종양 생검이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 서열 번호 1의 아미노산 서열과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 포함한다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 활성화 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 세포의 도메인, 키나제 도메인 또는 막관통/막근접 도메인 또는 임의의 이들의 조합에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 G309A, G309E, S310F, S310Y, C311R, C311S 및 C334S로 이루어지는 군으로부터 선택된 세포의 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 Y772, G776, G778

및 T798로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 G776 YVMA 삽입이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 T733I, L755P, L755S, I767M, L768S, D769N, D769Y, D769H, V777L, V777M, L841V, V842I, N857S, T862A, L869R, H878Y 및 R896C로 이루어지는 군으로부터 선택된 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 아미노산 잔기 V697에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 S653C, I655V, V659E, G660D 및 R678Q로 이루어지는 군으로부터 선택된 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2 증폭을 갖지 않고, HER2 증폭의 부재는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 0 또는 1+의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2 단백질 수준의 2배 미만의 증가를 갖는다. 일부 실시형태에서, 고형 종양 고형 종양은 HER2 과발현/증폭을 포함하는 것으로 결정되었다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2 과발현/증폭을 포함한다. 일부 실시형태에서, HER2 과발현은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된 것과 같이 3+ 과발현이다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 인시츄 혼성화 검정에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 인시츄 혼성화 검정은 형광 인시츄 혼성화(FISH) 검정이다. 일부 실시형태에서, 인시츄 혼성화 검정은 색소생산성 인시츄 혼성화이다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 NGS에 의해 조직에서 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 혈액 기반 NGS 검정에 의해 순환 종양 DNA(ctDNA)에서 결정된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 전이성 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 국소로 진행된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 절제 불가능하다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 자궁경부암, 자궁암, 담낭암, 담관암종, 요로상피암, 폐암, 유방암, 위식도암 및 결장직장암으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 유방암은 HER2+ 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 호르몬 수용체 양성(HR+) 유방암이다. 일부 실시형태에서, 폐암은 비소세포 폐암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 트라스투주맵에 민감하다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 트라스투주맵에 저항성이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 약 150 mg 내지 약 650 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 1회 또는 1일 2회 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 2회 약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 대상체에게 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 암을 치료하기 위해 대상체에게 하나 이상의 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 치료제는 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵 또는 이의 바이오시밀러의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵 또는 이의 바이오시밀러의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵 또는 이의 바이오시밀러이다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 CTLA4를 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-1을 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 암 세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-L1을 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체의 치료는 적어도 약 85%의 종양 성장 억제(TGI) 지수를 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 대상체의 치료는 약 100%의 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 대상체는 하나 이상의 부작용을 갖고, 하나 이상의 부작용을 제거하거나 이의 중증도를 감소시키기 위해 추가 치료제를 추가로 투여받는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 하나 이상의 부작용을 발생시킬 위험에 있고, 하나 이상의 부작용을 예방하거나 이의 중증도를 감소시키기 위해 추가 치료제를 추가로 투여받는다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 부작용은 3 등급 또는 초과 부작용이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 부작용은 심각한 부작용이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있다. 일부 실시형태

에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있다.

[0013] 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 및 본원에서의 임의의 실시형태에 따른 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 사용에 대한 설명서를 포함하는 키트가 본원에 또한 제공되고, 항체는 예정사-1(PD-1)에 결합하고 PD-1 활성을 억제한다.

[0014] 대상체에서 암을 치료하는 방법이 본원에 또한 제공되고, 상기 방법은 대상체에게 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 및 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하고, 항체는 예정사 리간드-1(PD-L1)에 결합하고 PD-L1 활성을 억제하고, 암은 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BMS936559의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 더발루맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아벨루맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 엔바폴리맙의 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어지는 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어지는 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BMS-936559이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 더발루맙이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아벨루맙이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 대상체에서의 하나 이상의 치료 효과는 기준선에 비해 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 개선된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 암으로부터 유래된 종양의 크기, 객관적 반응율, 반응 지속기간, 반응까지의 시간, 무진행 생존기간 및 전체 생존기간으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 감소된다. 일부 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 대한 반응의 지속기간은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월,

적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년이다. 일부 실시형태에서, 자연 살해(NK) 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, PD-1을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, IFN γ 를 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, TIM3을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, OX40을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, FOXP3을 발현하는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, FOXP3을 발현하지 않는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, Ki67을 발현하는 CD4+ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, CD4+ 세포 대 CD8+ T 세포의 비는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, 중성구의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소된다. 일부 실시형태에서, CD11b 수지상 세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, MHC-II 고발현 대식세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, MHC-II 저발현 대식세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2+ 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현하는 것으로 결정되었다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현한다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 DNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 결정 RNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 핵산 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 핵산 시퀀싱은 차세대 시퀀싱(NGS)이다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 중합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2의 돌연변이체 형태는 대상체로부터 얻은 샘플을 분석함으로써 결정된다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터 얻은 샘플은 무세포 혈장 샘플이다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터 얻은 샘플은 종양 생검이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 서열 번호 1의 아미노산 서열과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 포함한다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 활성화 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 세포의 도메인, 키나제 도메인 또는 막관통/막근접 도메인 또는 임의의 이들의 조합에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 G309A, G309E, S310F, S310Y, C311R, C311S 및 C334S로 이루어지는 군으로부터 선택된 세포의 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 Y772, G776, G778 및 T798로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 G776 YVMA 삽입이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 T733I, L755P, L755S, I767M, L768S, D769N, D769Y, D769H, V777L, V777M, L841V, V842I, N857S, T862A, L869R, H878Y 및 R896C로 이루어지는 군으로부터 선택된 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 아미노산 잔기 V697에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 S653C, I655V, V659E, G660D 및 R678Q로 이루어지는 군으로부터 선택된 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2 증폭을 갖지 않고, HER2 증폭의 부재는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 0 또는 1+의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2 단백질 수준의 2배 미만의 증가를 갖는다. 일부 실시형태에서, 고형 종양 고형 종양은 HER2 과발현/증폭을 포함하는 것으로 결정되었다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2 과발현/증폭을 포함한다. 일부 실시형태에서, HER2 과발현은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된 것과 같이 3+ 과발현이다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 인시츄 혼성화 검정에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 인시츄 혼성화 검정은 형광 인시츄 혼성화(FISH) 검정이다. 일부 실시형태에서, 인시츄 혼성화 검정은 색소생산성 인시츄 혼성화이다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 NGS에 의해 조직에서 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 혈액 기반 NGS 검정에 의해 순환 종양 DNA(ctDNA)에서 결정된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 전이성 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 국소로 진행된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 절제 불가능하다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 자궁경부암, 자궁암, 담낭암, 담관암종, 요로상피암, 폐암, 유방암, 위식도암 및 결장직장암으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 유방암은 HER2+ 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 호르몬 수용체 양성(HR+) 유방암이다. 일부 실시형태에서, 폐암은 비소세포 폐암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 트라스투주맵에 민감하다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 트라스투주맵에 저항성이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 약 150 mg 내지 약 650 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은

약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 1회 또는 1일 2회 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 2회 약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 대상체에게 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 암을 치료하기 위해 대상체에게 하나 이상의 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 치료제는 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러이다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 CTLA4를 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-1을 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 암 세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-L1을 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체의 치료는 적어도 약 85%의 종양 성장 억제(TGI) 지수를 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 대상체의 치료는 약 100%의 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 대상체는 하나 이상의 부작용을 갖고, 하나 이상의 부작용을 제거하거나 이의 중증도를 감소시키기 위해 추가 치료제를 추가로 투여받는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 하나 이상의 부작용을 발생시킬 위험에 있고, 하나 이상의 부작용을 예방하거나 이의 중증도를 감소시키기 위해 추가 치료제를 추가로 투여받는다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 부작용은 3 등급 또는 초과 부작용이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 부작용은 심각한 부작용이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물에 있다.

[0015] 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 항체 또는 이의 항원 결합 단편; 및 본원에서의 임의의 실시형태에 따른 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 사용에 대한 설명서를 포함하는 키트가 본원에 또한 제공되고, 항체는 예정사 리간드-1(PD-L1)에 결합하고 PD-L1 활성을 억제한다.

[0016] 본원에 기재된 다양한 실시형태의 하나, 일부 또는 모든 특성이 본 발명의 다른 실시형태를 형성하도록 조합될 수 있다고 이해되어야 한다. 본 발명의 이들 양태 및 다른 양태는 당업자에게 자명해질 것이다. 본 발명의 이들 실시형태 및 다른 실시형태는 하기하는 상세한 설명에 의해 추가로 기재되어 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1a 내지 도 1d는 트라스투주맙 내성 Fo5 췌관 종양 모델을 사용한 종양 미세환경에서의 투카티닙의 효과를 보여주는 일련의 그래프이다.

도 2a 내지 도 2l은 트라스투주맙 민감성 H2N113 췌관 종양 모델을 사용한 종양 미세환경에서의 투카티닙의 효과를 보여주는 일련의 그래프이다.

도 3a 내지 도 3b는 투카티닙 또는 비히클 대조군으로 치료된 트라스투주맙 내성 Fo5 종양에 대한 히트맵 RNA 프로파일이다. IFN γ 관련 유전자 서명은 도 3a에 도시되어 있고, 확장된 면역 서명은 도 3b에 도시되어 있다.

도 4a 내지 도 4b는 범례에 표시된 치료를 사용한 Fo5 종양 성장(도 4a) 및 생존율(도 4b)에 대한 투카티닙 및 다양한 조합 치료의 효과를 보여주는 일련의 그래프이다. 치료 그룹마다 N=5.

도 5a 내지 도 5c는 세포주 (도 5a) BT474, (도 5b) SKBR3 및(도 5c) H2N113에서의 다양한 용량에서의 투카티닙의 세포 성장에 대한 시험관내 효과를 보여준다.

도 6은 종양 크기 및 마우스 생존율에 대한 투카티닙의 효과를 평가하는 H2N113 트라스투주맙 민감성 HER2-양성 쥐와 종양 모델 계획을 보여준다.

도 7은 종양 크기 및 마우스 생존율에 대한 투카티닙의 효과를 평가하는 Fo5 트라스투주맙 내성 HER2-양성 쥐와 종양 모델 계획을 보여준다.

도 8a 내지 도 8b는 H2N113 트라스투주맙 민감성 HER2-양성 쥐와 종양 모델에서의 투카티닙의 결과를 보여준다. 피하 주사에 의해 H2N113이 접종된 BALB/c MMTV 마우스를 표시된 용량에서 경구 위관영양에 의해 투카티닙 또는 비히클 대조군으로 치료하고, (도 8a) 종양 부피 및(도 8b) 퍼센트 생존율을 표시된 시점에 평가하였다. 종양 부피에 대해 기재된 데이터는 평균 종양 부피(mm^3) $\pm$ SEM을 나타낸다. P 값은 2방향 ANOVA 분석, 종양 성장에 대한 사후 Tucky 시험; 생존 비율에 대한 log 랭크 (Mantel-Cox) 시험을 나타낸다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

도 9a 내지 도 9b는 Fo5 트라스투주맙 내성 HER2-양성 쥐와 종양 모델에서의 투카티닙의 결과를 보여준다. Fo5 종양이 접종된 FVB 마우스를 표시된 용량에서 경구 위관영양에 의해 투카티닙 또는 비히클 대조군으로 치료하고, (도 9a) 종양 부피 및(도 9b) 퍼센트 생존율을 표시된 시점에 평가하였다. 종양 부피에 대해 기재된 데이터는 평균 종양 부피(mm^3) $\pm$ SEM을 나타낸다. P 값은 2방향 ANOVA 분석, 종양 성장에 대한 사후 Tucky 시험; 생존 비율에 대한 log 랭크 (Mantel-Cox) 시험을 나타낸다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

도 10a 내지 도 10b는 트라스투주맙 내성에 대한 Fo5 종양 모델의 검증을 보여준다. FVB 마우스를 Fo5 종양으로 이식하고 트라스투주맙 또는 비히클 대조군으로 치료하고, 이후 (도 10a) 종양 부피 및 (도 10b) 생존율에 대해 평가하였다.

도 11a 내지 도 11b는 웨스턴 블롯에 의해 평가된 것과 같은 (도 11a) Fo5 종양 및(도 11b) H2N113 종양에서의 투카티닙(T) 또는 비히클 대조군(V)에 의한 치료 후 HER2 신호전달 경로의 억제제를 보여준다.

도 12a 내지 도 12e는, 모 집단의 빈도로서 표시된, 생체외 FACS에 의해 평가된 것과 같은 H2N113 종양에서의 투카티닙(T) 또는 비히클 대조군(V)에 의한 치료 후 제14일에 표시된 세포 집단에 대한 효과를 보여준다.

도 13a 내지 도 13b는, 모 집단의 빈도로서 표시된, 생체외 FACS에 의해 평가된 것과 같은 투카티닙(T) 또는 비히클 대조군(V)에 의한 치료 후 제14일에 표시된 세포 집단에 대한 효과를 보여준다.

도 14는, 모 집단의 빈도로서 표시된, 생체외 FACS에 의해 평가된 것과 같은 투카티닙(T) 또는 비히클 대조군(V)에 의한 치료 후 제14일에 NK 세포 집단에 대한 효과를 보여준다.

도 15a 내지 도 15b는 투카티닙(T) 또는 비히클 대조군(V)에 의한 치료 후 CD45+ TIL에 대한 PD-L1 발현을 보여준다.

도 16a 내지 도 16d는, 모 집단의 빈도로서 표시된, 생체외 FAC에 의해 평가된 것과 같은 Fo5 종양에서의 투카티닙(T) 또는 비히클 대조군(V)에 의한 치료 후 제10일에 표시된 세포 집단에 대한 효과를 보여준다.

도 17은 비히클 대조군으로 치료된 종양과 비교하여 투카티닙으로 치료된 Fo5 종양의 생체외 RNA 추출 및 유전자 발현 분석의 결과를 보여준다. 표시된 특정 유전자에 대한 정규화된 농후화 점수(NES)가 도시되어 있다.

도 18a 내지 도 18b는 비히클 대조군으로 치료된 종양과 비교하여 투카티닙으로 치료된 Fo5 종양의 생체외 RNA 추출 및 유전자 발현 분석의 결과를 보여준다. (a) 특정 인터페론- γ 및 (b) 특정 인터페론- α 에 대한 NES가 도시되어 있다.

도 19는 비히클 대조군으로 치료된 종양과 비교하여 투카티닙으로 치료된 Fo5 종양의 생체외 RNA 추출 및 유전자 발현 분석의 결과를 보여준다. 표시된 유전자 온톨로지(ontology) 유전자 세트에 대한 NES가 도시되어 있다.

도 20a 내지 도 20b는 비히클 대조군으로 치료된 종양과 비교하여 투카티닙으로 치료된 Fo5 종양의 생체외 RNA 추출 및 유전자 발현 분석의 결과를 보여준다. MHC I를 통한 외인성 펩타이드의 (도 20a) 유전자 온톨로지 항원 결합 및(도 20b) 유전자 온톨로지 항원 가공 및 제시에 대한 NES가 도시되어 있다.

도 21a 내지 도 21d는 투카티닙 또는 비히클 대조군으로 치료된 Fo5 종양에 대한 히트맵 RNA 프로파일을 보여준다. 표시된 유전자에 대한 유전자 서명은 치료된 비히클 대조군과 비교하여 투카티닙 치료된 Fo5 세포의 NES의 면에서 도시된다.

도 22a 내지 도 22b는 (도 22a) 종양 부피 및(도 22b) 생존율에 의해 평가된 것과 같은 H2N113 컷과 모델에서의 단독의 또는 항-PD-L1과 조합된 투카티닙 치료의 효과를 보여준다. 기재된 종양 부피 데이터는 평균 종양 부피(mm^3) $\pm$ SEM을 의미한다. 그룹은 2의 반복의 대표이다(그룹마다 $n = 4$ 내지 8). P 값은 2방향 ANOVA 분석, 종양 성장에 대한 사후 Tucky 시험; 생존 비율에 대한 log 랭크(Mantel-Cox) 시험을 나타낸다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

도 23a 내지 도 23b는 (도 23a) 종양 부피 및(도 23b) 생존율에 의해 평가된 것과 같은 Fo5 컷과 모델에서의 단독의 또는 항-PD-1과 조합된 투카티닙 치료의 효과를 보여준다. 기재된 종양 부피 데이터는 평균 종양 부피(mm^3) $\pm$ SEM을 의미한다. 그룹은 2의 반복의 대표이다(그룹마다 $n = 4$ 내지 8). P 값은 2방향 ANOVA 분석, 종양 성장에 대한 사후 Tucky 시험; 생존 비율에 대한 log 랭크(Mantel-Cox) 시험을 나타낸다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

도 24a 내지 도 24b는 (도 24a) 종양 부피 및(도 24b) 생존율에 의해 평가된 것과 같은 Fo5 컷과 모델에서의 단독의 또는 트라스투주맙과 조합된 투카티닙 치료의 효과를 보여준다. 기재된 종양 부피 데이터는 평균 종양 부피(mm^3) $\pm$ SEM을 의미한다. 그룹은 2의 반복의 대표이다(그룹마다 $n = 4$ 내지 8). P 값은 2방향 ANOVA 분석, 종양 성장에 대한 사후 Tucky 시험; 생존 비율에 대한 log 랭크(Mantel-Cox) 시험을 나타낸다. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

본 개시내용을 보다 용이하게 이해할 수 있도록, 소정의 용어가 처음에 정의된다. 본 출원에 사용된 것과 같이, 본원에 명확히 달리 제공된 것을 제외하고, 각각의 하기 용어는 하기 기재된 의미를 가져야 한다. 추가 정의는 본 출원에 걸쳐 기재되어 있다.

본원에 사용된 것과 같은 단수 용어("a", "an" 또는 "the")는 하나의 구성원을 갖는 양태를 포함할 뿐만 아니라 하나 초과와 구성원을 갖는 양태를 포함한다. 예를 들면, 단수 형태("a", "an" 및 "the")는 문맥이 분명히 달리 기술하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들면 "세포"의 언급은 복수의 이러한 세포를 포함하고, "제제"의 언급은 당업자에게 알려진 하나 이상의 제제 및 기타 등등의 언급을 포함한다.

본원에 사용된 것과 같은 용어 "또는"은 일반적으로 비배타적으로 해석되어야 한다. 예를 들면, "A 또는 B를 포함하는 조성물"의 청구는 통상적으로 A 및 B 둘 다를 포함하는 조성물을 갖는 양태를 제시할 것이다. 그러나, "또는"은 모순 없이 조합될 수 없는 제시된 양태(예를 들면, 9 내지 10 또는 7 내지 8인 조성물 pH)를 배제하도록 해석되어야 한다.

그룹 "A 또는 B"는 통상적으로 "A 및 B로 이루어진 군으로부터 선택된" 그룹과 동등하다.

용어 "및/또는"은 본원에 사용되는 경우 다른 것과 함께 또는 이것 없이 2개의 기술된 특징 또는 성분의 각각의 구체적인 개시내용으로 취해져야 한다. 이와 같이, 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 구절에 사용된 것과 같은 용어 "및/또는"은 "A 및 B", "A 또는 B", "A"(단독) 및 "B"(단독)를 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, "A, B 및/또는 C"와 같은 구절에 사용된 것과 같은 용어 "및/또는"은 하기 양태의 각각을 포함하도록 의도된다: A, B 및 C; A, B 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

본원에 기재된 발명의 양태 및 실시형태가 양태 및 실시형태"를 포함하는", 이들"로 이루어지는" 및 이들"로 본질적으로 이루어지는"를 포함하는 것으로 이해된다.

본원에 사용된 것과 같은 용어 "약" 및 "대략"은 일반적으로 측정의 성질 또는 정확성을 고려하여 측정된 분량에 대한 허용 가능한 오차 정도를 의미해야 한다. 통상적인 예시적인 오차 정도는 주어진 값 또는 값의 범위의 20 퍼센트(%) 내, 바람직하게는 10% 내 및 더 바람직하게는 5% 내이다. "약 X"의 임의의 언급은 구체적으로 적어도 값 X, 0.95X, 0.96X, 0.97X, 0.98X, 0.99X, 1.01X, 1.02X, 1.03X, 1.04X 및 1.05X를 나타낸다. 따라서, "약 X"는 예를 들면 "0.98X"의 청구 제한에 대한 서술된 설명 뒷받침을 교시하고 제공하도록 의도된다. 용어

"약" 및 "대략"은 특히 주어진 분량과 관련하여 주어진 분량 자체를 포함하고 기술한다.

- [0026] 대안적으로, 생물학적 시스템에서, 용어 "약" 및 "대략"은 주어진 값의 1자릿수 내, 바람직하게는 5배 내 및 더 바람직하게는 2배 내인 값을 의미할 수 있다. 본원에 주어진 숫자 분량은 달리 기술되지 않는 한 근사치이고, 이는 용어 "약" 또는 "대략"이 명확히 기술되지 않을 때 추론될 수 있다는 것을 의미한다.
- [0027] "약"이 숫자 범위의 앞에 적용될 때, 이것은 범위의 양 말단에 적용된다. 따라서, "약 5 내지 20%"는 "약 5% 내지 약 20%"와 동등하다. "약"이 값이 세트의 제1 값에 적용될 때, 이것은 그 세트에서의 모든 값에 적용된다. 따라서, "약 7, 9 또는 11 mg/kg"는 "약 7, 약 9 또는 약 11 mg/kg"와 동등하다.
- [0028] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "포함하는"은 일반적으로 추가 성분을 배제하지 않는 것으로 해석되어야 한다. 예를 들면, "A를 포함하는 조성물"의 청구는 A 및 B; A, B 및 C; A, B, C 및 D; A, B, C, D 및 E; 및 기타를 포함하는 조성물을 포괄할 것이다.
- [0029] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 개시내용이 관련된 분야의 당업자에 의해 흔히 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들면, the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press는 기술자에게 본 개시내용에 사용된 많은 용어의 일반 사전 을 제공한다.
- [0030] 단위, 접두사 및 기호는 이의 국제 단위계(SI: Systeme International de Unite) 허용 형태로 표시된다. 숫자 범위는 범위를 한정하는 숫자를 포함한다. 본원에 제공된 제목은 본 개시내용의 다양한 양태의 제한이 아니고, 이것은 전체로서 명세서에 참고될 수 있다. 따라서, 하기 바로 정의된 용어는 그 전체가 명세서에 참고로 보다 완전히 정의된다.
- [0031] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "공동투여"는 2종 이상의 구조적으로 상이한 화합물의 순차적 투여 또는 동시 투여를 포함한다. 예를 들면, 2종 이상의 구조적으로 상이한 약학적 활성 화합물은 2종 이상의 구조적으로 상이한 활성 약학적 활성 화합물을 함유하는 경구 투여에 적용된 약학 조성물을 투여함으로써 공동투여될 수 있다. 또 다른 예로서, 2종 이상의 구조적으로 상이한 화합물은 1종의 화합물을 투여하고 이후 다른 화합물을 투여함으로써 공동투여될 수 있다. 2종 이상의 구조적으로 상이한 화합물은 항-PD-1 항체 및 투카티닙으로 이루어질 수 있다. 일부 경우에, 공동투여된 화합물은 동일한 경로에 의해 투여된다. 다른 경우에, 공동투여된 화합물은 상이한 경로를 통해 투여된다. 예를 들면, 1종의 화합물은 경구로 투여될 수 있고, 다른 화합물은 예를 들면 정맥내, 근육내, 피하 또는 복강내 주사를 통해 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 동시에 또는 순차적으로 투여된 화합물 또는 조성물은 항-PD-1 항체 및 투카티닙이 유효 농도로 대상체에서 또는 세포에서 동시에 존재하도록 투여될 수 있다. 동시에 또는 순차적으로 투여된 화합물 또는 조성물은 항-PD-L1 항체 및 투카티닙이 유효 농도로 대상체에서 또는 세포에서 동시에 존재하도록 투여될 수 있다.
- [0032] "암"은 신체에서 비정상 세포의 조절되지 않는 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 넓은 그룹을 지칭한다. "암" 또는 "암 조직"은 종양을 포함할 수 있다. 조절되지 않는 세포 분열 및 성장은 이웃 조직을 침범하는 악성 종양을 형성시키고, 또한 림프계 또는 혈류를 통해 먼 신체 부분으로 전이할 수 있다. 원위 종양은 전이 후에 전이된 종양"으로부터 유래된다"라고 말해질 수 있다. 예를 들면, 유방암"으로부터 유래된 종양"은 전이된 유방 암의 결과인 종양을 지칭한다.
- [0033] 암의 맥락에서, 용어 "병기"는 암의 정도의 규명을 지칭한다. 암을 병기화할 때 고려되는 인자는 종양 크기, 근처 조직의 종양 침범 및 종양이 다른 부위로 전이되는지의 여부를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 하나의 병기를 다른 병기와 구별하기 위한 특정 기준 및 매개변수는 암의 유형에 따라 변할 수 있다. 암 병기화는 예를 들면 예후를 결정하거나 가장 적절한 치료 옵션(들)을 확인하는 것을 돕도록 사용된다.
- [0034] 암 병기화 시스템의 하나의 비제한적인 예는 "TNM" 시스템으로 지칭된다. TNM 시스템에서, "T"는 주요 종양의 크기 및 정도를 지칭하고, "N"은 암이 퍼지는 근처의 림프절의 수를 지칭하고, "M"은 암이 전이되는지를 지칭한다. "TX"는 주요 종양이 측정될 수 없다는 것을 나타내고, "T0"은 주요 종양이 발견될 수 없다는 것을 나타내고, "T1", "T2", "T3" 및 "T4"는 주요 종양의 크기 또는 정도를 나타내고, 여기서 더 큰 숫자는 더 큰 종양 또는 근처의 조직으로 성장한 종양에 상응한다. "NX"는 근처의 림프절에서의 암이 측정될 수 없다는 것을 나타내고, "N0"는 근처의 림프절에서 암이 없다는 것을 나타내고, "N1", "N2", "N3" 및 "N4"는 암이 퍼진 림프절의 수 및 위치를 나타내고, 여기서 더 큰 숫자는 암을 함유하는 더 많은 수의 림프절에 상응한다. "MX"는 전이

가 측정될 수 없다는 것을 나타내고, "M0"는 전이가 발생하지 않았다는 것을 나타내고, "M1"은 암이 다른 신체 부분으로 전이됐다는 것을 나타낸다.

[0035] 암 병기화 시스템의 또 다른 비제한적인 예로서, 암은 "병기 0", "병기 I", "병기 II", "병기 III" 또는 "병기 IV"의 5개의 병기 중 1개를 갖는 것으로 분류되고 등급화된다. 병기 0은 비정상 세포가 존재하지만 근처의 조직으로 퍼지지 않는다는 것을 나타낸다. 이것은 흔히 상피내암(CIS: carcinoma *in situ*)이라고도 칭해진다. CIS는 암이 아니지만, 후속하여 암으로 발생할 수 있다. 병기 I, II 및 III는 암이 존재한다는 것을 나타냈다. 더 높은 숫자는 더 큰 종양 크기 또는 근처의 조직으로 퍼지는 종양에 상응한다. 병기 IV는 암이 전이됐다는 것을 나타낸다. 당업자는 상이한 암 병기화 시스템에 친숙할 것이고, 이들을 용이하게 적용하거나 해석할 수 있을 것이다.

[0036] 용어 "HER2"(HER2/neu, ERBB2, CD340, 수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2, 원종양유전자 Neu 및 인간 상피 성장 인자 수용체 2로도 알려짐)는 수용체 티로신 키나제의 다수의 인간 상피 성장 인자 수용체(HER/EGFR/ERBB) 패밀리를 지칭한다. HER2의 증폭 또는 과발현은 결장직장암, 위암, 폐암(예를 들면, 비소세포 폐암(NSCLC)), 담도암(예를 들면, 담관암종, 담낭암), 방광암, 식도암, 흑색종, 난소암, 간암, 전립선암, 췌장암, 소장암, 두경부암, 자궁암, 자궁경부암 및 유방암을 포함하는 소정의 공격적인 암 유형의 발생 및 진행에서 중요한 역할을 한다. HER2 뉴클레오타이드 서열의 비제한적인 예는 GenBank 참고 번호 NP_001005862, NP_001289936, NP_001289937, NP_001289938 및 NP_004448에 기재되어 있다. HER2 펩타이드 서열의 비제한적인 예는 GenBank 참고 번호 NP_001005862, NP_001276865, NP_001276866, NP_001276867 및 NP_004439에 기재되어 있다.

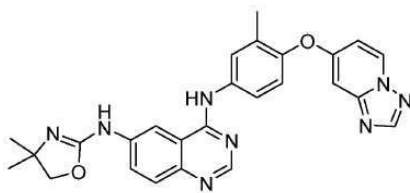
[0037] HER2가 세포에서 또는 세포 상에서 증폭되거나 과발현될 때, 세포는 "HER2 양성"인 것으로 지칭된다. HER2 양성 세포에서의 HER2 증폭 또는 과발현의 수준은 흔히 0 내지 3의 범위의 점수(즉, HER2 0, HER2 1+, HER2 2+ 또는 HER2 3+)로 표시되고, 더 높은 점수는 더 높은 정도의 발현에 상응한다. Mol Biol Int. 2014;852748 (2014). 점수화 방법은 면역조직화학에 의해 결정된 것과 같이 세포 막 염색 패턴에 기초할 수 있고 하기와 같다:

[0038] i. 3+: 양성 HER2 발현, 침윤 종양 세포의 30% 초과와 균일하고 강한 막 염색;

[0039] ii. 2+: HER2 단백질 발현에 대해 불분명, 강도가 불균일하거나 약하지만 세포의 적어도 10%에서 원주의 분포를 갖는 완전한 막 염색;

[0040] iii. 0 또는 1+: HER2 단백질 발현에 대해 음성.

[0041] ONT-380 및 ARRY-380으로도 알려진 용어 "투카티닙"은 HER2 활성화를 억제하거나 차단하는 소분자 티로신 키나제 억제제를 지칭한다. 투카티닙은 하기 구조를 갖는다:



[0042]

[0043] 용어 "면역글로불린"은, 모든 4개가 이황화 결합에 의해 상호연결된, 저분자량 경쇄(L)의 1개의 쌍 및 중쇄(H)의 1개의 쌍의, 폴리펩타이드 사슬의 2개의 쌍으로 이루어진 구조적으로 관련된 당단백질의 종류를 지칭한다. 면역글로불린의 구조는 잘 규명되었다. 예를 들면, Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))를 참조한다. 간단히, 각각의 중쇄는 통상적으로 중쇄 가변 영역(본원에서 V_H 또는 VH 로 축약됨) 및 중쇄 불변 영역(C_H 또는 CH)으로 이루어진다. 중쇄 불변 영역은 통상적으로 C_{H1} , C_{H2} 및 C_{H3} 의 3개의 도메인으로 이루어진다. 중쇄는 일반적으로 소위 "힌지 영역"에서의 이황화 결합을 통해 상호연결된다. 각각의 경쇄는 통상적으로 경쇄 가변 영역(본원에서 V_L 또는 VL 로 축약됨) 및 경쇄 불변 영역(C_L 또는 CL)으로 이루어진다. 경쇄 불변 영역은 통상적으로 C_L 의 1개의 도메인으로 이루어진다. CL 은 κ (카파) 또는 λ (람다) 아이소타입일 수 있다. 용어 "불변 도메인" 및 "불변 영역"은 본원에서 상호교환 가능하게 사용된다. 면역글로불린은 비제한적인 예로서 IgA, 분비성 IgA, IgG 및 IgM을 포함하는 임의의 흔히 알려진 아이소타입으로부터 유래될 수 있다. IgG 하위종류는 당업자에게 또한 잘 알려져 있고, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. "아이소타입"은 중쇄 불변 영역 유전자에 의해 암호화된 항체 종류 또는 하위종류(예를 들면, IgM 또는 IgG1)를 지칭한다.

- [0044] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체를 항원에 결합시키는 것에 관여된 항체 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 지칭한다. 자연적 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역(각각 V_H 및 V_L)은 프레임워크 영역(FR)이라 칭하는 더 보존된 영역이 개재된 상보성-결정 영역(CDR)이라고도 칭하는 초가변의 영역(또는 구조적으로 한정된 루프의 서열 및/또는 형태에서 초가변적일 수 있는 초가변 영역)으로 추가로 하위분할될 수 있다. "초가변 영역" 또는 "HVR"와 동의어인 용어 "상보성 결정 영역" 및 "CDR"은 항원 특이성 및/또는 결합 친화도를 부여하는 항체 가변 영역 내의 아미노산의 비인접 서열을 지칭하는 것으로 당해 분야에 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 중쇄 가변 영역에서의 3개의 CDR(CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) 및 각각의 경쇄 가변 영역에서의 3개의 CDR(CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3)이 있다. "프레임워크 영역" 및 "FR"은 중쇄 및 경쇄의 가변 영역의 비-CDR 부분을 지칭하는 것으로 당해 분야에 알려져 있다. 일반적으로, 각각의 전장 중쇄 가변 영역에서의 4개의 FR(FR-H1, FR-H2, FR-H3 및 FR-H4) 및 각각의 전장 경쇄 가변 영역에서의 4개의 FR(FR-L1, FR-L2, FR-L3 및 FR-L4)이 있다. 각각의 V_H 및 V_L 내에, 3개의 CDR 및 4개의 FR은 통상적으로 하기 순서로 아미노 말단에서 카복시 말단으로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4(또한 Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.*, 195, 901-917 (1987) 참조).
- [0045] 본 발명의 맥락에서 용어 "항체"(Ab)는 적어도 약 30분, 적어도 약 45분, 적어도 약 1시간(h), 적어도 약 2시간, 적어도 약 4시간, 적어도 약 8시간, 적어도 약 12시간(h), 약 24시간 또는 초과, 약 48시간 또는 초과, 약 3일, 4일, 5일, 6일, 7일 또는 초과 등과 같은 상당한 시간 기간의 반감기 또는 임의의 다른 관련된 기능적으로 정의된 기간(예컨대, 항원에 결합하는 항체와 연관된 생리학적 반응을 유도하고/하거나 촉진하고/하거나 향상시키고/시키거나 조절하기에 충분한 시간 또는 항체가 효과기 활성을 동원하기에 충분한 시간)으로 통상적인 생리학적 조건 하에 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 갖는 면역글로불린 분자, 면역글로불린 분자의 단편 또는 이들 중 어느 하나의 유도체를 지칭한다. 면역글로불린 분자의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체(Ab)의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예컨대, 효과기 세포) 및 보체 시스템의 성분, 예컨대 보체 활성화의 전통적인 경로에서의 제1 성분인 C1q를 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는 또한 이중특이적 항체, 디아바디, 다중특이적 항체 또는 유사한 분자일 수 있다.
- [0046] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "단일클론 항체"는 단일 1차 아미노산 서열에 의해 재조합으로 제조된 항체 분자의 조제물이다. 단일클론 항체 조성물은 특정한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타낸다. 따라서, 용어 "인간 단일클론 항체"는 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역 및 불변 영역을 갖는 단일 결합 특이성을 나타내는 항체를 지칭한다. 인간 단일클론 항체는 불활화된 세포에 융합된, 인간 중쇄 전이 유전자 및 경쇄 전이유전자를 포함하는 게놈을 갖는, 형질전환 또는 염색체이식 비인간 동물, 예컨대 형질전환 마우스로부터 얻은 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생성될 수 있다.
- [0047] "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다(예를 들면, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 PD-1 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없고, PD-L1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 PD-L1 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, PD-1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 상이한 종으로부터의 PD-1 분자에 교차반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 재료 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다. 그러나, PD-L1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원, 예컨대 상이한 종으로부터의 PD-L1 분자에 교차반응성을 가질 수 있다. 더욱이, 단리된 항체는 다른 세포 재료 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.
- [0048] "인간 항체"(HuMAb)는 FR 및 CDR 둘 다가 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 더욱이, 항체가 불변 영역을 함유하면, 불변 영역은 또한 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래된다. 본 개시내용의 인간 항체는 인간 생식선 면역글로불린 서열(예를 들면, 시험관내 랜덤 또는 부위 특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)에 의해 암호화되지 않은 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 바와 같은 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유류 종, 예컨대 마우스의 생식선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열로 그래프팅된 항체를 포함하도록 의도되지 않는다. 용어 "인간 항체" 및 "완전 인간 항체"는 동의어로 사용된다.
- [0049] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "인간화된 항체"는 인간 항체 불변 도메인 및 인간 가변 도메인에 높은 수준의 서열 상동성을 함유하도록 변형된 비인간 가변 도메인을 함유하는 유전 조작된 비인간 항체를 지칭한다. 이는 항원 결합 부위를 함께 형성하는 6개의 비인간 항체 상보성-결정 영역(CDR)을 상동성 인간 역선택 프레임워크 영역(FR)에 그래프팅함으로써 달성될 수 있다(WO92/22653호 및 EP0629240호 참조). 모 항체의 결합 친화도 및 특이성을 완전히 재구성하기 위해, 모 항체(즉, 비인간 항체)로부터의 프레임워크 잔기의 인간 프레임워크 영역

으로의 치환(역돌연변이)이 필요할 수 있다. 구조적 상동성 모델링은 항체의 결합 특성에 중요한 프레임워크 영역에서의 아미노산 잔기를 확인하는 것을 도울 수 있다. 따라서, 인간화된 항체는 비인간 CDR 서열, 주로 비인간 아미노산 서열에 대한 하나 이상의 아미노산 역돌연변이를 선택적으로 포함하는 인간 프레임워크 영역 및 완전 인간 불변 영역을 포함할 수 있다. 선택적으로, 필연적으로 역돌연변이가 아닌 추가 아미노산 변형은 바람직한 특징, 예컨대 친화도 및 생화학적 특성을 갖는 인간화된 항체를 얻기 위해 적용될 수 있다.

[0050] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "키메라 항체"는 가변 영역이 비인간 종(예를 들면, 설치류)으로부터 유래되고, 불변 영역이 상이한 종, 예컨대 인간으로부터 유래된 항체를 지칭한다. 키메라 항체는 항체 조작에 의해 생성될 수 있다. "항체 조작"은 항체의 변형의 상이한 종류에 대한 총칭이고, 당업자에게 잘 알려진 과정인 사용된 용어이다. 특히, 키메라 항체는 Sambrook *et al.*, 1989, Molecular Cloning: A laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Ch. 15에 기재된 것과 같은 표준 DNA 기법에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 키메라 항체는 유전적으로 또는 효소적으로 조작된 재조합 항체일 수 있다. 키메라 항체를 생성하는 것은 당업자의 지식 내에 있고, 따라서 본 발명에 따른 키메라 항체의 생성은 본원에 기재된 것 이외의 다른 방법에 의해 수행될 수 있다. 치료학적 분야를 위한 키메라 단일클론 항체는 항체 면역원성을 감소시키도록 개발되었다. 이것은 통상적으로 관심 있는 항원에 특이적인 비인간(예를 들면, 쥐) 가변 영역 및 인간 불변 항체 중쇄 및 경쇄 도메인을 함유할 수 있다. 키메라 항체의 맥락에서 사용된 것과 같은 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄 둘 다의 CDR 및 프레임워크 영역을 포함하는 영역을 지칭한다.

[0051] "항-항원 항체"는 항원에 결합하는 항체를 지칭한다. 예를 들면, 항-PD-1 항체는 항원 PD-1에 결합하는 항체이고, 항-PD-L1 항체는 항원 PD-L1에 결합하는 항체이고, 항-CTLA4 항체는 항원 CTLA4에 결합하는 항체이다.

[0052] 항체의 "항원 결합 부분" 또는 항원 결합 단편"은 전체 항체가 결합한 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체 단편(예를 들면, 항원 결합 단편)의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-사슬 항체 분자(예를 들면, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 항체의 파파인 분해는 각각 단일 항원 결합 부위 및 잔류 "Fc" 단편을 갖는 "Fab" 단편이라 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편을 생성하고, 이의 명칭은 용이하게 결정화하는 이의 능력을 반영한다. 펩신 처리는 2개의 항원-조합 부위를 갖고 여전히 항원을 가교결합시킬 수 있는 F(ab')₂ 단편을 생성시킨다.

[0053] 기준 폴리펩타이드 서열과 관련하여 "퍼센트(%) 서열 동일성"은 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요하면 갭을 도입한 후 서열 동일성의 일부분으로서 임의의 보존적 치환을 고려하지 않으면서 기준 폴리펩타이드 서열에서의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열에서의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 것의 목적을 위한 정렬은 예를 들면 공공에게 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 당해 분야의 기술 내에 있는 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여 서열을 정렬하기 위한 적절한 매개변수를 결정할 수 있다. 예를 들면, 아미노산 서열 B와, B에 대한 또는 B에 대항한 주어진 아미노산 서열 A의 % 서열 동일성(대안적으로 주어진 아미노산 서열 B와, B에 대한 또는 B에 대항한 소정의 % 서열을 갖거나 포함하는 주어진 아미노산 서열 A로서 표현될 수 있음)은 하기와 같이 계산된다:

[0054] $100 \times \text{분율 } X/Y$

[0055] 여기서, X는 A 및 B의 그 프로그램의 정렬에서의 서열에 의한 동일한 일치로서 점수화된 아미노산 잔기의 수이고, Y는 B에서의 아미노산 잔기의 총 수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우에, B에 대한 A의 % 서열 동일성은 A에 대한 B의 % 서열 동일성과 동등하지 않은 것으로 이해될 것이다.

[0056] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "결합", "결합한다" 또는 "특이적으로 결합한다"는 미리 결정된 항원에 대한 항체의 결합의 맥락에서 통상적으로 리간드로서 항체를 사용하고 분석물질로서 항원을 사용하여 Octet HTX 기계에서 예를 들면 BioLayer Interferometry(BLI) 기술에 의해 결정될 때 약 10^{-6} M 또는 미만, 예를 들면 10^{-7} M 또는 미만, 예컨대 약 10^{-8} M 또는 미만, 예컨대 약 10^{-9} M 또는 미만, 약 10^{-10} M 또는 미만 또는 약 10^{-11} M 또는 더욱 미만의 K_D에 상응하는 친화도를 갖는 결합이고, 항체는 미리 결정된 항원 또는 밀접하게 관련된 항원 이외의 비특이적 항원(예를 들면, BSA, 카제인)에 대한 결합의 이의 K_D보다 적어도 10배, 예컨대 적어도 100배, 예를 들면 적어도 1,000배, 예컨대 적어도 10,000배, 예를 들면 적어도 100,000배 낮은 K_D에 상응하는 친화도로

미리 결정된 항원에 결합한다. 결합의 K_D 가 더 낮은 양은 항체의 K_D 에 따라 달라지고, 그래서 항체의 K_D 가 매우 낮을 때, 항원에 대한 결합의 K_D 가 비특이적 항원에 대한 결합의 K_D 보다 낮은 양은 적어도 10,000배이다(즉, 항체는 고도로 특이적임).

[0057] 본원에 사용된 것과 같은 용어 " K_D "(M)는 특정한 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 지칭한다. 본원에 사용된 것과 같은 친화도 및 K_D 는 역관련되고, 즉 더 높은 친화도는 더 낮은 K_D 를 지칭하도록 의도되고, 더 낮은 친화도는 더 높은 K_D 를 지칭하도록 의도된다.

[0058] "예정사-1"(PD-1)은 CD28 패밀리에 속하는 면역억제 수용체를 지칭한다. PD-1은 생체내 이전에 활성화된 T-세포에서 주로 발현되고, PD-L1 및 PD-L2인 2개의 리간드에 결합한다. 본원에 사용된 것과 같은 용어 "PD-1"은 인간 PD-1(hPD-1), hPD-1의 변이체, 이소폼 및 중 호모로그, 및 hPD-1과 적어도 하나의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 일부 실시형태에서, hPD-1은 GenBank 수탁 번호 U64863 하에 발견된 아미노산 서열을 포함한다.

[0059] "예정사 리간드-1"(PD-L1)은 PD-1에 대한 결합 시 T-세포 활성화 및 사이토카인 분비를 하향조절하는 PD-1에 대한 2개의 세포 표면 당단백질 리간드 중 하나(다른 것은 PD-L2임)이다. 본원에 사용된 것과 같은 용어 "PD-L1"은 인간 PD-L1(hPD-L1), hPD-L1의 변이체, 이소폼 및 중 호모로그, 및 hPD-L1과 적어도 하나의 공통 에피토프를 갖는 유사체를 포함한다. 일부 실시형태에서, hPD-L1은 GenBank 수탁 번호 Q9NZQ7 하에 발견된 아미노산 서열을 포함한다.

[0060] 대상체의 "치료" 또는 "치료법"은 증상, 합병증, 병태 또는 질환과 연관된 생화학적 지표의 시작, 진행, 발생, 중증도 또는 재발을 역전하거나 완화하거나 개선하거나 억제하거나 느리게 하거나 예방하기 위한 목적으로 대상체에서 수행된 중재 또는 과정 또는 대상체에 대한 활성제의 투여 중 임의의 유형을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 질환은 암이다.

[0061] "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 용어 "비인간 동물"은 척추동물, 예컨대 비인간 영장류, 양, 개 및 설치류, 예컨대 마우스, 래트 및 기니아 피그를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 일부 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 용어 "대상체" 및 "환자" 및 "개체"는 본원에서 상호교환 가능하게 사용된다.

[0062] 약물 또는 치료제의 "유효량" 또는 "치료학적 유효량" 또는 "치료학적으로 효과적인 투여량"은 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합하여 사용될 때 질환 증상의 중증도의 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간의 증가 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 불능의 예방에 의해 입증된 것과 같이 질환의 시작에 대해 대상체를 보호하거나 질환 퇴행을 촉진하는 약물의 임의의 양이다. 질환 퇴행을 촉진하는 치료제의 능력은 임상 실험 동안, 인간에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서 또는 시험관내 검정에서 체제의 활성을 분석함으로써 예컨대 인간 대상체에서 숙련자에게 알려진 다양한 방법을 사용하여 평가될 수 있다.

[0063] 종양의 치료를 위해 예의 방식으로, 항암제의 치료학적 유효량은 비치료된 대상체(들)(예를 들면, 하나 이상의 비치료된 대상체)에 비해 치료된 대상체(들)(예를 들면, 하나 이상의 치료된 대상체)에서 적어도 약 10%만큼, 적어도 약 20%만큼, 적어도 약 30%만큼, 적어도 약 40%만큼, 적어도 약 50%만큼, 적어도 약 60%만큼, 적어도 약 70% 또는 by 적어도 약 80%만큼, 적어도 약 90%만큼, 적어도 약 95%만큼, 적어도 약 96%만큼, 적어도 약 97%만큼, 적어도 약 98%만큼 또는 적어도 약 99%만큼 세포 성장 또는 종양 성장을 억제한다. 일부 실시형태에서, 항암제의 치료학적 유효량은 비치료된 대상체(들)(예를 들면, 하나 이상의 비치료된 대상체)에 비해 치료된 대상체(들)(예를 들면, 하나 이상의 치료된 대상체)에서 100%만큼 세포 성장 또는 종양 성장을 억제한다.

[0064] 본 개시내용의 다른 실시형태에서, 종양 퇴행은 관찰되고, 적어도 약 20일, 적어도 약 30일, 적어도 약 40일, 적어도 약 50일 또는 적어도 약 60일의 기간 동안 계속될 수 있다. 치료 유효성의 이 최종 측정에도 불구하고, 면역치료학적 약물의 평가는 또한 "면역 관련된 반응 패턴"에 대한 허용을 만들어야 한다.

[0065] 약물(예를 들면, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체 또는 항-CTLA4 항체)의 치료학적 유효량은 암을 발생시킬 위험에 있는 대상체(예를 들면, 전악성 병태를 갖는 대상체) 또는 암의 재발을 겪는 대상체에게 단독으로 또는 항암제와 조합되어 투여될 때 암의 발생 또는 재발을 억제하는 약물의 임의의 양인 "예방학적 유효량"을 포함한다. 일부 실시형태에서, 예방학적 유효량은 암의 발생 또는 재발을 전부 예방한다. 암의 발생 또는 재발을 "억제한다"는 것은 암의 발생 또는 재발의 가능성을 줄이는 것 또는 암의 발생 또는 재발을 전부 예방하는 것 중 어느 하나를 의미한다.

[0066] 본원에 사용된 것과 같은, "준치료학적 용량"은 과증식성 질환(예를 들면, 암)의 치료를 위해 단독으로 투여될

때 치료학적 화합물의 보통 용량 또는 통상적 용량보다 낮은 치료학적 화합물(예를 들면, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체 또는 항-CTLA4 항체)의 용량을 의미한다.

[0067] 용어 "종양 성장 억제(TGI) 지수"는 제제(예를 들면, 투카티닙, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체, 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합)가 비치료된 대조군과 비교할 때 종양의 성장을 억제하는 정도를 나타내도록 사용된 값을 지칭한다. TGI 지수는 하기 식에 따라 특정한 시점(예를 들면, 실험 또는 임상 실험으로 특정 일자 수)에 대해 계산된다:

$$TGI = 1 - \left(\frac{\text{부피 치료된 (Tx 제X일)} - \text{부피 치료된 (Tx 제0일)}}{\text{부피 대조군 (Tx 제X일)} - \text{부피 대조군 (Tx 제0일)}} \right) \times 100\%$$

[0069] 여기서, "Tx 제0일"은 치료제가 투여되는 첫날(즉, 실험 치료제 또는 대조군 치료제(예를 들면, 비히클 단독)가 투여되는 첫날)을 나타내고, "Tx 제X일"은 제0일 후 X 일자 수를 나타낸다. 통상적으로, 치료된 그룹 및 대조군 그룹에 대한 평균 부피가 사용된다. 비제한적인 예로서, 연구 제0일이 "Tx 제0일"에 상응하고 TGI 지수가 연구 제28일(즉, "Tx 제28일")에 계산되는 실험에서, 연구 제0일에 그룹 둘 다에서의 평균 종양 부피가 250 mm^3 이고, 실험 그룹 및 대조군 그룹에서의 평균 종양 부피가 각각 125 mm^3 및 750 mm^3 이면, 제28일에 TGI 지수는 125%이다.

[0070] 본원에 사용된 것과 같은, 용어 "상승적" 또는 "상승작용"은 성분 또는 제제의 조합(예를 들면, 투카티닙과 항-PD-1 항체의 조합, 투카티닙과 항-PD-L1 항체의 조합, 투카티닙과 항-CTLA4 항체의 조합, 투카티닙, 항-PD-1 항체와 항-CTLA4 항체의 조합 또는 투카티닙, 항-PD-L1 항체와 항-CTLA4 항체의 조합)을 투여하는 것이 개별 성분의 상가 특성 또는 효과에 기초하여 예상된 효과보다 큰 효과(예를 들면, 종양 성장의 억제, 생존 시간의 연장)를 생성할 때 관찰된 결과를 지칭한다. 일부 실시형태에서, 상승작용은 Bliss 분석을 수행함으로써 결정된다(예를 들면, Fouquier *et al. Pharmacol. Res. Perspect.* (2015) 3(3):e00149; 모든 목적을 위해 본원에 그 전체가 참고로 포함됨). Bliss Independence 모델은 약물 효과가 확률론적 과정의 결과라고 추정하고, 약물이 완전히 독립적으로 작용한다고 추정한다(즉, 약물은 서로 방해하지 않고(예를 들면, 약물은 상이한 작용 부위를 가짐), 각각 일반 결과에 기여함). Bliss Independence 모델에 따르면, 2개의 약물의 조합의 예측된 효과는 식을 이용하여 계산된다:

$$E_{AB} = E_A + E_B - E_A \times E_B$$

[0072] 여기서, E_A 및 E_B 는 각각 약물 A 및 약물 B의 효과를 나타내고, E_{AB} 는 약물 A 및 약물 B의 조합의 효과를 나타낸다. 조합의 관찰된 효과가 예측된 효과 E_{AB} 보다 클 때, 2개의 약물의 조합은 상승적인 것으로 여겨진다. 조합의 관찰된 효과가 E_{AB} 와 동일할 때, 2개의 약물의 조합의 효과는 상가적인 것으로 여겨진다. 대안적으로, 조합의 관찰된 효과가 E_{AB} 보다 낮을 때, 2개의 약물의 조합은 길항적인 것으로 여겨진다.

[0073] 약물의 조합의 관찰된 효과는 예를 들면 TGI 지수, 종양 크기(예를 들면, 부피, 질량), 2 초과 시점 사이의(예를 들면, 치료가 투여된 제1일과 치료가 처음에 투여된 후 특정 일자 수 사이의) 종양 크기(예를 들면, 부피, 질량)의 절대 변화, 2 초과 시점 사이의(예를 들면, 치료가 투여된 제1일과 치료가 처음에 투여된 후 특정 일자 수 사이의) 종양 크기(예를 들면, 부피, 질량)의 변화 속도, 또는 대상체 또는 대상체의 집단의 생존 시간에 기초할 수 있다. TGI 지수가 약물의 조합의 관찰된 효과의 측정치로서 취해질 때, TGI 지수는 1 이상의 시점에 결정될 수 있다. 2 초과 시점에 TGI 지수가 결정될 때, 일부 경우에 다수의 TGI 지수의 평균 값 또는 중앙치 값은 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 수 있다. 더욱이, TGI 지수는 단일 대상체 또는 대상체의 집단에서 결정될 수 있다. TGI 지수가 집단에서 결정될 때, (예를 들면, 1 이상의 시점에) 집단에서의 평균 또는 중앙치 TGI 지수는 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 수 있다. 종양 크기 또는 종양 성장 속도가 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 때, 종양 크기 또는 종양 성장 속도는 대상체 또는 대상체의 집단에서 측정될 수 있다. 일부 경우에, 평균 또는 중앙치 종양 크기 또는 종양 성장 속도는 2 초과 시점에 대상체에 대해 또는 1 이상의 시점에 대상체의 집단 중에서 결정된다. 생존 시간이 집단에서 측정될 때, 평균 또는 중앙치 생존 시간은 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 수 있다.

[0074] 예측된 조합 효과 E_{AB} 는 조합(예를 들면, 투카티닙 및 항-PD-1 항체, 투카티닙 및 항-PD-L1 항체 또는 투카티닙 및 항-CTLA4 항체)을 구성하는 약물의 단일 용량 또는 다수의 용량 중 어느 하나를 사용하여 계산될 수 있다. 일부 실시형태에서, 예측된 조합 효과 E_{AB} 는 오직 각각의 약물 A 및 약물 B(예를 들면, 투카티닙 및 항-PD-1 항

체 또는 투카티닙 및 항-PD-L1 항체)의 단일 용량을 사용하여 계산되고, 값 E_A 및 E_B 는 단일 제제로서 투여될 때 각각의 약물의 관찰된 효과에 기초한다. E_A 및 E_B 에 대한 값이 단일 제제로서 약물 A 및 약물 B를 투여하는 것의 관찰된 효과에 기초할 때, E_A 및 E_B 는 예를 들면 TGI 지수, 1 이상의 시점에서 측정된 종양 크기(예를 들면, 부피, 질량), 2 초과 시점 사이의(예를 들면, 치료가 투여된 제1일과 치료가 처음에 투여된 후 특정 일자 수 사이의) 종양 크기(예를 들면, 부피, 질량)의 절대 변화, 2 초과 시점 사이의(예를 들면, 치료가 투여된 제1일과 치료가 처음에 투여된 후 특정 일자 수 사이의) 종양 크기(예를 들면, 부피, 질량)의 변화 속도, 또는 각각의 치료 그룹에서의 대상체 또는 대상체의 집단의 생존 시간에 기초할 수 있다.

[0075] TGI 지수가 관찰된 효과의 측정치로서 취해질 때, TGI 지수는 1 이상의 시점에 결정될 수 있다. 2 초과 시점에 TGI 지수가 결정될 때, 일부 경우에 평균 값 또는 중앙치 값은 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 수 있다. 더욱이, TGI 지수는 각각의 치료 그룹에서의 단일 대상체 또는 대상체의 집단에서 결정될 수 있다. 대상체의 집단에서 TGI 지수가 결정될 때, (예를 들면, 1 이상의 시점에) 집단에서의 평균 또는 중앙치 TGI 지수는 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 수 있다. 종양 크기 또는 종양 성장 속도가 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 때, 종양 크기 또는 종양 성장 속도는 각각의 치료 그룹에서의 대상체 또는 대상체의 집단에서 측정될 수 있다. 일부 경우에, 평균 또는 중앙치 종양 크기 또는 종양 성장 속도는 2 초과 시점에 대상체에 대해 또는 1 이상의 시점에 대상체의 집단 중에서 결정된다. 생존 시간이 집단에서 측정될 때, 평균 또는 중앙치 생존 시간은 관찰된 효과의 측정치로서 사용될 수 있다.

[0076] 일부 실시형태에서, 예측된 조합 효과 E_{AB} 는 일련의 용량을 사용하여 계산된다(즉, 각각의 약물의 효과는 단일 제제로서 측정될 때 다수의 용량에서 관찰되고, 다수의 용량에서의 관찰된 효과는 특정 용량에서 예측된 조합 효과를 결정하도록 사용됨). 비제한적인 예로서, E_{AB} 는 하기 식에 따라 계산된 E_A 및 E_B 에 대한 값을 사용하여 계산될 수 있다:

$$E_A = E_{Amax} \times \frac{a^p}{A_{50}^p + a^p}$$

$$E_B = E_{Bmax} \times \frac{b^q}{B_{50}^q + b^q}$$

[0077] 여기서, E_{Amax} 및 E_{Bmax} 는 각각 약물 A 및 약물 B의 최대 효과이고, A_{50} 및 B_{50} 는 각각 약물 A 및 약물 B의 최대 절반 유효 용량이고, a 및 b 는 각각 약물 A 및 약물 B의 투여된 용량이고, p 및 q 는 각각 약물 A 및 약물 B에 대한 용량-반응 곡선의 형상으로부터 도출된 계수이다(예를 들면, Fouquier *et al. Pharmacol. Res. Perspect.* (2015) 3(3):e00149 참조).

[0079] 일부 실시형태에서, 2개 또는 초과 약물의 조합은 그 조합이 약물의 조합에 대한 예측된 TGI 지수보다 높은 관찰된 TGI 지수를 생성할 때(예를 들면, 예측된 TGI 지수가 약물이 상가적인 조합된 효과를 생성한다는 가정에 기초할 때) 상승적인 것으로 여겨진다. 일부 경우에, 조합은 관찰된 TGI 지수가 약물의 조합에 대한 예측된 TGI 지수보다 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 클 때 상승적인 것으로 여겨진다.

[0080] 일부 실시형태에서, 종양 성장 속도(예를 들면, 종양의 크기(예를 들면, 부피, 질량)의 변화의 속도)는 약물의 조합이 상승적인지(예를 들면, 약물의 조합은 종양 성장 속도가 약물의 조합이 상가 효과를 생성한다면 예상되는 것보다 느릴 때 상승적임)를 결정하도록 사용된다. 다른 실시형태에서, 생존 시간은 약물의 조합이 상승적인지(예를 들면, 약물의 조합은 대상체 또는 대상체의 집단의 생존 시간이 약물의 조합이 상가 효과를 생성한다면 예상되는 것보다 길 때 상승적임)를 결정하도록 사용된다.

[0081] "면역 관련된 반응 패턴"은 암 특이적 면역 반응을 유도함으로써 또는 자연적 면역 과정을 변형시킴으로써 항종양 효과를 생성하는 면역치료제로 치료된 암 환자에서 대개 관찰된 임상 반응 패턴을 지칭한다. 이 반응 패턴은 전통적인 화학치료제의 평가에서 질환 진행으로서 분류되고 약물 실패와 동의어인 종양 부담의 초기 증가 또는 새로운 병변의 출현에 뒤따르는 유리한 치료 효과를 특징으로 한다. 따라서, 적절한 면역치료제 평가는 표적 질환에 대한 이 면역치료제의 효과의 장기간 모니터링을 요할 수 있다.

[0082] 예로서, "항암제"는 대상체에서 암 퇴행을 촉진한다. 일부 실시형태에서, 약물의 치료학적 유효량은 암을 제거하는 점까지 암 퇴행을 촉진한다. "암 퇴행을 촉진한다"는 것은 단독으로 또는 항암제와 조합하여 약물의 유효량을 투여하는 것이 종양 성장 또는 크기의 감소, 종양의 괴사, 적어도 하나의 질환 증상의 중증도의 감소, 질

환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간의 증가 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 불능의 예방을 생성시킨다는 것을 의미한다. 게다가, 용어 "효과적인" 및 "유효성"은 치료와 관련하여 약리학적 유효성 및 생리학적 안전성 둘 다를 포함한다. 약리학적 유효성은 환자에서 암 퇴행을 촉진하는 약물의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 약물의 투여로부터 생긴 세포, 장기 및/또는 유기체 수준에서의 독성 또는 다른 불리한 생리학적 효과(불리한 효과)의 수준을 지칭한다.

[0083] "지속적 반응"은 치료의 중단 후 종양 성장을 감소시키는 것에 대한 지속적 효과를 지칭한다. 예를 들면, 종양 크기는 투여 단계의 시작 시의 크기와 비교하여 동일하거나 더 작게 있을 수 있다. 일부 실시형태에서, 지속적 반응은 치료 기간과 적어도 동일하거나 치료 기간보다 적어도 1.5배, 2.0배, 2.5배 또는 3배 긴 기간을 갖는다.

[0084] 본원에 사용된 것과 같은, "완전한 반응" 또는 "CR"은 모든 표적 병변의 사라짐을 지칭하고; "부분 반응" 또는 "PR"은 기준선 SLD를 기준으로 취하여 표적 병변의 가장 긴 직경(SLD)의 합이 적어도 30% 감소를 지칭하고; "안정한 질환" 또는 "SD"는 치료가 시작된 이후로 가장 작은 SLD를 기준으로 취하여 PR의 자격이 있는 표적 병변의 충분한 수축도 없고 PD의 자격이 있는 충분한 증가도 없음을 지칭한다.

[0085] 본원에 사용된 것과 같은, "무진행 생존기간" 또는 "PFS"는 치료되는 질환(예를 들면, 암)이 악화하지 않는 치료 동안의 및 치료 후의 시간의 길이를 지칭한다. 무진행 생존기간은 환자가 완전한 반응 또는 부분 반응을 경험하는 시간의 양뿐만 아니라 환자가 안정한 질환을 경험하는 시간의 양을 포함할 수 있다.

[0086] 본원에 사용된 것과 같은, "전체 반응율" 또는 "ORR"은 완전한 반응(CR)율 및 부분 반응(PR)율의 합을 지칭한다.

[0087] 본원에 사용된 것과 같은, "전체 생존기간" 또는 "OS"는 특정한 시간 기간 후 살아 있을 것 같은 그룹에서의 개체의 백분율을 지칭한다.

[0088] 본원에 지칭된 것과 같은 용어 "체중 기반 용량"은 대상체에게 투여되는 용량이 대상체의 체중에 기초하여 계산된다는 것을 의미한다. 예를 들면, 60 kg 체중을 갖는 대상체가 2.0 mg/kg의 항-PD-1 항체를 요할 때, 상기 대상체에 대한 투여에 대해 항-PD-1 항체의 적절한 양(즉, 120 mg)을 계산하고 사용할 수 있다.

[0089] 본 개시내용의 방법과 관련하여 용어 "고정된 용량"의 사용은 2개 또는 초과와 상이한 제제(예를 들면, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체)가 서로와 특정한 (고정된) 비로 대상체에게 투여된다는 것을 의미한다. 일부 실시형태에서, 고정된 용량은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 항체의 양(예를 들면, mg)에 기초한다. 소정의 실시형태에서, 고정된 용량은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 항체의 농도(예를 들면, mg/ml)에 기초한다. 예를 들면, 대상체에게 투여되는 항-PD-1 항체 대 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 3:1 비는 약 240 mg의 항-PD-1 항체 및 약 80 mg의 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 약 3 mg/ml의 항-PD-1 항체 및 약 1 mg/ml의 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물이 대상체에게 투여된다는 것을 의미할 수 있다.

[0090] 본 개시내용의 방법 및 투여량과 관련하여 용어 "플랫 용량"의 사용은 대상체의 체중 또는 체표면적(BSA)과 관련 없이 대상체에게 투여되는 용량을 의미한다. 플랫 용량은 따라서 제제(예를 들면, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및/또는 항-PD-1 항체)의 mg/kg 용량으로서 제공되지 않고, 오히려 절대 양으로서 제공된다. 예를 들면, 60 kg 체중을 갖는 대상체 및 100 kg 체중을 갖는 대상체는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 항체의 동일한 용량(예를 들면, 300 mg의 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 예를 들면 240 mg의 항-PD-1 항체)을 받을 것이다.

[0091] "약학적으로 허용 가능한"이라는 구절은 물질 또는 조성물이 화학적으로 및/또는 독성학적으로 제형을 포함하는 다른 성분 및/또는 이에 의해 치료되는 포유류와 적합해야 한다는 것을 나타낸다.

[0092] 본원에 사용된 것과 같은 "약학적으로 허용 가능한 염"이라는 구절은 본 발명의 화합물의 약학적으로 허용 가능한 유기 또는 무기 염을 지칭한다. 예시적인 염은 설페이트, 시트레이트, 아세테이트, 옥살레이트, 클로라이드, 브로마이드, 요오다이드, 니트레이트, 바이설페이트, 포스페이트, 산 포스페이트, 이소니코티네이트, 락테이트, 살리실레이트, 산 시트레이트, 타르트레이트, 올레이트, 탄네이트, 판토테네이트, 바이타르트레이트, 아스코르베이트, 숙시네이트, 말레이트, 젠티시네이트, 푸마레이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 사카레이트, 포르메이트, 벤조에이트, 글루타메이트, 메탄설폰네이트 "메실레이트", 에타설폰네이트, 벤젠설폰네이트, p-톨루엔설폰네이트, 과포에이트(즉, 4,4'-메틸렌-비스-(2-하이드록시-3-나프토에이트)) 염, 알칼리 금속(예를 들면, 나트륨 및 칼륨) 염, 알칼리 토금속(예를 들면, 마그네슘) 염 및 암모늄염을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 약학적으로 허용 가능한 염은 또 다른 분자, 예컨대 아세테이트 이온, 숙시네이트 이온 또는 다른 반대이

온의 포함을 수반할 수 있다. 반대이온은 모 화합물에서 전하를 안정화시키는 임의의 유기 또는 무기 모이어티일 수 있다. 더욱이, 약학적으로 허용 가능한 염은 이의 구조에서 하나 초과와 하전된 원자를 가질 수 있다. 다수의 하전된 원자가 약학적으로 허용 가능한 염의 일부인 경우는 다수의 반대이온을 가질 수 있다. 그러므로, 약학적으로 허용 가능한 염은 하나 이상의 하전된 원자 및/또는 하나 이상의 반대이온을 가질 수 있다.

[0093] "투여하는" 또는 "투여"는 당업자에게 알려진 임의의 다양한 방법 및 전달 시스템을 사용한 대상체에 대한 치료제의 물리적 도입을 지칭한다. 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및/또는 항-PD-1 항체 및/또는 항-PD-L1 항체 및/또는 항-CTLA4 항체에 대한 예시적인 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피하, 복강내, 척추 또는 예를 들면 주사 또는 점적(예를 들면, 정맥내 점적)에 의한 다른 비경구 투여 경로를 포함한다. 본원에 사용된 것과 같은 "비경구 투여"라는 구절은 보통 주사에 의한 장관 투여 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하고, 제한 없이 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 림프내, 병변내, 낭내, 안와내, 심장내, 진피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막의 및 흉골내 주사 및 점적뿐만 아니라 생체내 전기영동을 포함한다. 치료제는 비비경구 경로를 통해 또는 경구로 투여될 수 있다. 다른 비비경구 경로는 예를 들면 비강내로, 질내로, 직장내로, 설하로 또는 국소로 국소, 상피 또는 점막 투여 경로를 포함한다. 투여는 또한 예를 들면 1회, 복수 횟수로 및/또는 하나 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0094] 본원에 상호교환 가능하게 사용된 용어 "기준선" 또는 "기준선 값"은 치료(예를 들면, 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및/또는 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체, 및/또는 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체)의 투여 전의 또는 치료의 투여의 시작 시의 증상의 측정 또는 규명을 지칭할 수 있다. 기준선 값은 본원에 고려되는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 연관된 질환(예를 들면, 고형 종양)의 증상의 감소 또는 개선을 결정하기 위해 기준 값과 비교될 수 있다. 본원에 상호교환 가능하게 사용된 용어 "기준" 또는 "기준 값"은 치료(예를 들면, 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및/또는 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 및/또는 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체)의 투여 후의 증상의 측정 또는 규명을 지칭할 수 있다. 기준 값은 투여량 요법 또는 치료 사이클 동안에 또는 투여량 요법 또는 치료 사이클의 완료 시 1회 초과 측정될 수 있다. "기준 값"은 절대 값; 상대 값; 상한 및/또는 하한을 갖는 값; 값의 범위; 평균의 값; 중앙치 값; 평균 값; 또는 기준선 값과 비교된 값일 수 있다.

[0095] 유사하게, "기준선 값"은 절대 값; 상대 값; 상한 및/또는 하한을 갖는 값; 값의 범위; 평균의 값; 중앙치 값; 평균 값; 또는 기준 값과 비교된 값일 수 있다. 기준 값 및/또는 기준선 값은 하나의 개별, 2개의 상이한 개별 또는 개별의 그룹(예를 들면, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 초과와 개별)으로부터 얻어질 수 있다.

[0096] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "단일요법"은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체가 치료 사이클 동안 대상체에게 투여되는 유일한 항암제라는 것을 의미한다. 그러나, 다른 치료제는 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들면, 염증, 통증, 중량 손실 및 전신 권태를 예를 들면 포함하는 기저 암 자체가 아니라 암과 연관된 증상을 치료하기 위해 암을 갖는 대상체에게 투여되는 소염제 또는 다른 제제는 단일요법의 기간 동안 투여될 수 있다.

[0097] 본원에 사용된 것과 같은 "부작용"(AE)은 의학 치료의 사용과 연관된 임의의 불리하고 일반적으로 의도되지 않거나 원해지지 않는 징후(비정상 실험실 소견을 포함), 증상 또는 질환이다. 의학 치료는 하나 이상의 연관된 AE를 가질 수 있고, 각각의 AE는 동일한 또는 상이한 중증도 수준을 가질 수 있다. "부작용을 변경"할 수 있는 방법의 언급은 상이한 치료 요법의 사용과 연관된 하나 이상의 AE의 발생 및/또는 중증도를 감소시키는 치료 요법을 의미한다.

[0098] 본원에 사용된 것과 같은 "심각한 부작용" 또는 "SAE"는 하기 기준 중 하나를 충족시키는 부작용이다:

[0099] • 치명적이거나 삶을 위협함(심각한 부작용의 정의에서 사용된 것과 같음), "삶을 위협하는"은 환자가 사건의 시간에 사망의 위험에 있는 사건을 지칭하고; 이것은 이것이 더 심각하면 가설적으로 사망을 야기하는 사건을 지칭하지 않는다.

[0100] • 영구적인 또는 상당한 불능/무능력을 발생시킴

[0101] • 기형아/선천적 결손을 구성함

[0102] • 의학적으로 유의미함, 즉 환자를 위태롭게 하거나 상기 열거된 결과 중 하나를 막도록 의학 중재 또는 수술

증제를 요할 수 있는 사건으로서 정의됨. 의학 판단 및 과학 판단은 AE가 "의학적으로 유의미한"지를 결정하는데 있어서 실행되어야 함

[0103] • 하기를 배제하여 입원환자 입원 또는 기존 입원의 연장을 요함: 1) 임의의 병태 악화와 연관되지 않은 기저 질환의 일상적 치료 또는 모니터링; 2) 연구 동안 적응증과 관련되지 않고 서면 동의서에 서명 이후로 악화하지 않는 기존의 병태에 대한 선택적 또는 미리 계획된 치료; 및 3) 환자의 일반 상태의 어떠한 악화의 부재 하의 사회적 이유 및 임시 간호.

[0104] 대안(예를 들면, "또는")의 사용은 대안의 하나, 둘 다, 또는 임의의 이들의 조합을 의미하도록 이해되어야 한다. 본원에 사용된 것과 같은, 부정 관사("a" 또는 "an")는 임의의 열거되거나 서술된 성분의 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다.

[0105] 용어 "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은, 값 또는 조성물이 어떻게 측정되거나 결정되는지에 따라 부분적으로 달라지는, 당업자에 의해 결정된 것과 같은 특정 값 또는 조성물에 대한 허용 가능한 오차 범위, 즉 측정 시스템의 제한 내인 값 또는 조성물을 지칭한다. 예를 들면, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 당해 분야에서의 실행에 따라 1 또는 1 초과의 표준 편차 내를 의미할 수 있다. 대안적으로, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"은 20% 이하의 범위를 의미할 수 있다. 더욱이, 특히 생물학적 시스템 또는 공정과 관련하여, 상기 용어는 값의 1 자리수 이하 또는 5배 이하를 의미할 수 있다. 특정한 값 또는 조성물이 출원 및 청구항에 제공될 때, 달리 기술되지 않는 한, "약" 또는 "본질적으로 포함하는"의 의미는 그 특정한 값 또는 조성물에 대한 허용 가능한 오차 범위 내인 것으로 추정되어야 한다.

[0106] 본원에 사용된 것과 같은 용어 "약 매 1주 1회", "약 매 2주 1회" 또는 임의의 다른 유사한 투약 간격 용어는 근사치 숫자를 의미한다. "약 매 1주 1회"는 매 7일 $\pm$ 1일, 즉 매 6일 내지 매 8일을 포함할 수 있다. "약 매 2주 1회"는 매 14일 $\pm$ 2일, 즉 매 12일 내지 매 16일을 포함할 수 있다. "약 매 3주 1회"는 매 21일 $\pm$ 3일, 즉 매 18일 내지 매 24일을 포함할 수 있다. 유사한 근사치는 예를 들면 약 매 4주 1회, 약 매 5주 1회, 약 매 6주 1회 및 약 매 12주 1회에 적용된다. 일부 실시형태에서, 약 매 6주 1회 또는 약 매 12주 1회의 용량 간격은 제1 용량이 제1주에서의 임의의 일자에 투여될 수 있고, 이후 다음의 용량이 각각 제6주 또는 제12주에서의 임의의 일자에 투여될 수 있다는 것을 의미한다. 다른 실시형태에서, 약 매 6주 1회 또는 약 매 12주 1회의 용량 간격은 제1 용량이 제1주의 특정한 일자(예를 들면, 월요일)에 투여되고, 이후 다음의 용량이 각각 제6주 또는 제12주의 동일한 일자(즉, 월요일)에 투여된다는 것을 의미한다.

[0107] 본원에 기재된 것과 같이, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는, 달리 표시되지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수 및 적절할 때 이의 분수(예컨대, 정수의 10/1 및 100/1)의 값을 포함한다고 이해되어야 한다.

[0108] 본 개시내용의 다양한 양태는 하기 하위부문에 더 자세히 기재되어 있다:

[0109] II. 실시형태의 설명

[0110] A. 투카티닙 및 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체에 의해 고형 종양을 치료하는 방법

[0111] 일 양태에서, 본 발명은 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 고형 종양을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 자연 살해(NK) 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, PD-1을 발현하는 CD8⁺ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, IFN γ 3을 발현하는 CD8⁺ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, TIM3을 발현하는 CD8⁺ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, OX40을 발현하는 CD8⁺ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, FOXP3을 발현하는 CD4⁺ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, FOXP3을 발현하지 않는 CD4⁺ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, Ki67을 발현하는 CD4⁺ T 세포의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, CD4⁺ 세포 대 CD8⁺ T 세포의 비는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증

가된다. 일부 실시형태에서, 중성구의 침윤은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소된다. 일부 실시형태에서, CD11b 수지상 세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, MHC-II 고발현 대식세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 증가된다. 일부 실시형태에서, MHC-II 저발현 대식세포의 백분율은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 후 고형 종양에서 감소된다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 암을 치료하기 위해 대상체에게 하나 이상의 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 추가 치료제는 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맙 또는 이의 바이오시밀러이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2+ 고형 종양이다.

[0112]

일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현하는 것으로 결정되었다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2의 돌연변이체 형태를 발현한다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 하나 이상의 HER2 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 HER2 변형은 HER2 돌연변이이다. 일부에서 인간 야생형 HER2 아미노산 서열과 비교하여 적어도 하나의 아미노산 치환, 삽입 또는 결실. 일부 실시형태에서, 인간 야생형 HER2는 VPQQGFFCPDPAPGAGGMVHHRSSSTRSGGDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMGAAGLQSLPHTDPSPLQRYSEDPTVPLPSETDG YVAPLTCSPQPEYVNPQDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERPKTSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLT PQGGAAPQPHPPAFSPAFDNLYYWDQDPP ERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDVPV(서열 번호 1)의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 활성화 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 구성적 HER2 키나제 도메인 활성화를 발생시킨다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 세포의 도메인, 키나제 도메인 또는 막관통/막근접 도메인 또는 임의의 이들의 조합에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 세포의 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 G309A, G309E, S310F, S310Y, C311R, C311S 및 C334S로 이루어지는 군으로부터 선택된 세포의 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에서의 돌연변이는 G309A이다. 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에서의 돌연변이는 G309E이다. 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에서의 돌연변이는 S310F이다. 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에서의 돌연변이는 S310Y이다. 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에서의 돌연변이는 C311R이다. 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에서의 돌연변이는 C311S이다. 일부 실시형태에서, 세포의 도메인에서의 돌연변이는 C334S이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 Y772, G776, G778 및 T798로 이루어지는 군으로부터 선택된 아미노산 잔기에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 Y772에 있다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 G776에 있다. 일부 실시형태에서, G776에서의 돌연변이는 G776 YVMA 삽입(G776 ins YVMA)이다. HER2의 G776 ins YVMA 돌연변이체 형태는 HER2 단백질의 772번 내지 775번 위치에서의 아미노산 서열인 YVMA(티로신, 발린, 메티오닌, 알라닌)가 다시 한번 반복된 돌연변이체("Y772_A775dup" 또는 "A775_G776insYVMA"라고도 칭함)이다. Nature. 2004 Sep 30; 431 (7008): 525-6 및 Cancer Res. 2005 Mar 1; 65 (5): 1642-6. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 G778에 있다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 T798에 있다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 T733I, L755P, L755S, I767M, L768S, D769N, D769Y, D769H, V777L, V777M, L841V, V842I, N857S, T862A, L869R, H878Y 및 R896C로 이루어지는 군으로부터 선택된 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 T733I이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 L755P이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 L755S이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 I767M이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 L768S이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 D769N이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 D769Y이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 D769H이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 V777L이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 V777M이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 L841V이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 V842I이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 N857S이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 T862A이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 L869R이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 H878Y이다. 일부 실시형태에서, 키나제 도메인에서의 돌연변이는 R896C이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 아미노산 잔기 V697에서의 키나제 도메인에서의 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 S653C, I655V, V659E, G660D 및 R678Q로 이루어지는 군으로부터 선택된 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이

다. 일부 실시형태에서, 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이는 S653C이다. 일부 실시형태에서, 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이는 I655V이다. 일부 실시형태에서, 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이는 V659E이다. 일부 실시형태에서, 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이는 G660D이다. 일부 실시형태에서, 막관통/막근접 도메인에서의 돌연변이는 R678Q이다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2 증폭을 갖지 않는다. 일부 실시형태에서, 암은 HER2 증폭을 포함하지 않는 것으로 결정되었다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 IHC에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 0의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 IHC에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 1+의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 IHC에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 0 또는 1+의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 IHC에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2는 암이 IHC에 의해 결정된 것과 같이 0의 점수를 가지면 증폭되지 않는다. 일부 실시형태에서, HER2는 암이 IHC에 의해 결정된 것과 같이 1+의 점수를 가지면 증폭되지 않는다. 일부 실시형태에서, 암은 비암성 조직과 비교하여 HER2 단백질 수준의 2배 미만의 증가를 갖는다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 DNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 RNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 차세대 시퀀싱(NGS)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이는 중합효소 연쇄 반응(PCR)에 의해 결정된다.

[0113]

일부 실시형태에서, 고형 종양은 하나 이상의 HER2 변형을 포함한다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 HER2 변형은 HER2 과발현/증폭이다. 일부 실시형태에서, 암은 2+의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 암은 3+의 HER2 증폭 점수를 갖고, HER2 증폭 점수는 IHC에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2는 암이 IHC에 의해 결정된 것과 같이 2+의 점수를 가지면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 암이 IHC에 의해 결정된 것과 같이 3+의 점수를 가지면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 5%, 약 10%, 약 15%, 약 20%, 약 25%, 약 30%, 약 35%, 약 40%, 약 45%, 약 50%, 약 55%, 약 60%, 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 100%, 약 125%, 약 150%, 약 175%, 약 200%, 약 250%, 약 300%, 약 350%, 약 400%, 약 450% 또는 약 500%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 50%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 75%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 100%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 150%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 200%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 250%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 300%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 400%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 500%만큼 암에서 과발현되면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 1.5배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 10배, 약 15배, 약 20배, 약 25배, 약 30배, 약 40배, 약 50배, 약 60배, 약 70배, 약 80배, 약 90배 또는 약 100배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 1.5배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 2배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 3배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 4배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 5배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 10배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 15배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 20배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 25배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 30배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 40배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 50배의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 60배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 70배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 80배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 90배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2는 적어도 약 100배의 암에서의 HER2 단백질 수준 증가가 있으면 증폭된다. 일부 실시형태에서, HER2 과발현은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정된 것과 같이 3+ 과발현이다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 인시츄 혼성화 검정에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, 인시츄 혼성화 검정은 형광 인시츄 혼성화(FISH) 검정이다. 일부 실시형태에서, 인시츄 혼성화 검정은 색소생산성 인시츄 혼성화이다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 NGS에 의해 조직에서 결정된다. 일부 실시형태에서, HER2 증폭은 혈액 기반 NGS 검정에 의해 순환 종양 DNA(ctDNA)에서 결정된다.

- [0114] 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HER2+ 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 전이성 고형 종양이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 국소로 진행된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 절제 불가능하다. 일부 실시형태에서, 대상체는 고형 종양에 대해 하나 이상의 추가 치료제에 의해 과거에 치료되었다. 일부 실시형태에서, 대상체는 고형 종양에 대해 하나 이상의 추가 치료제에 의해 과거에 치료되었고, 치료에 반응하지 않았다. 일부 실시형태에서, 대상체는 고형 종양에 대해 하나 이상의 추가 치료제에 의해 과거에 치료되었고, 치료 후 재발하였다. 일부 실시형태에서, 대상체는 고형 종양에 대해 하나 이상의 추가 치료제에 의해 과거에 치료되었고, 치료 동안 질환 진행을 경험하였다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 트라스투주맵에 민감하다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 트라스투주맵에 저항성이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 자궁경부암, 자궁암, 담낭암, 담관암종, 요로상피암, 폐암, 유방암, 위식도암 및 결장직장암으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 자궁경부암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 자궁암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 담도암, 예를 들면 담낭암 또는 담관암종이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 담낭암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 담관암종이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 요로상피암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 폐암이다. 일부 실시형태에서, 폐암은 비소세포 폐암(NSCLC)이다. 일부 실시형태에서, NSCLC는 비편평 NSCLC이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 HER2+ 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 호르몬 수용체 양성(HR+) 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 호르몬 수용체 음성(HR-) 유방암이다. 일부 실시형태에서, 유방암은 삼중 음성 유방암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 위식도암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 결장직장암이다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-1을 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 암 세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 PD-L1을 발현한다. 일부 실시형태에서, 대상체로부터의 T-세포의 적어도 약 0.1%, 적어도 약 1%, 적어도 약 2%, 적어도 약 3%, 적어도 약 4%, 적어도 약 5%, 적어도 약 6%, 적어도 약 7%, 적어도 약 8%, 적어도 약 9%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%는 CTLA4를 발현한다.
- [0115] 일부 실시형태에서, 샘플 세포의 HER2 상태가 결정된다. 치료(즉, 투카티닙의 투여)가 시작하기 전에, 치료 동안에 또는 치료가 완료된 후 결정이 이루어질 수 있다. 일부 경우에, HER2 상태의 결정은 치료를 변경하려는 결정(예를 들면, 치료 요법에 대한 항-HER2 항체의 첨가, 투카티닙의 사용의 중단, 함께 치료의 중단 또는 또 다른 치료 방법으로부터의 본 발명의 발명으로의 전환)을 발생시킨다.
- [0116] 일부 실시형태에서, 샘플 세포는 암 세포이다. 일부 경우에, 샘플 세포는 암을 갖는 대상체로부터 얻어진다. 샘플 세포는 생검 시편으로서, 수술 절제에 의해 또는 미세침 흡입물(FNA: fine needle aspirate)로서 얻어질 수 있다. 일부 실시형태에서, 샘플 세포는 순환 종양 세포(CTC)이다.
- [0117] HER2 발현은 기준 세포와 비교될 수 있다. 일부 실시형태에서, 기준 세포는 샘플 세포와 동일한 대상체로부터 얻은 비암 세포이다. 다른 실시형태에서, 기준 세포는 상이한 대상체 또는 대상체의 집단으로부터 얻은 비암 세포이다. 일부 실시형태에서, HER2의 발현의 측정은 예를 들면 *HER2* 유전자 카피수 또는 증폭의 결정, 핵산 시퀀싱(예를 들면, 게놈 DNA 또는 cDNA의 시퀀싱 또는 RNA 시퀀싱), mRNA 발현의 측정, 단백질 풍부도의 측정 또는 이들의 조합을 포함한다. HER2 시험 방법은 RT-PCR 및 마이크로어레이 분석과 같은 기법을 사용한 면역조직화학(IHC), 인시츄 혼성화, 형광 인시츄 혼성화(FISH), 색소생산성 인시츄 혼성화(CISH), ELISA 및 RNA 정량화(예를 들면, *HER2* 발현의 정량화)를 포함한다.
- [0118] 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이의 존재 또는 부재는 예를 들면 암 환자로부터 종양 조직을 수집하는 것 및 실시간 정량적 PCR(qRT-PCR) 또는 마이크로어레이 분석과 같은 방법을 수행함으로써 확인된다. 일부 실시형태에서, 종양 조직은 포르말린 고정된 파라핀 포매된 시편(FFPE)이다. 일부 실시형태에서, HER2 돌연변이의 존재 또는 부재는 암 환자로부터 무세포 순환 종양 DNA(ctDNA)를 수집하는 것 및 차세대 시퀀싱(NGS)과 같은 방법을 수행함으로써 확인된다(J Clin Oncol 2013; 31: 1997-2003, Clin Cancer Res 2012; 18: 4910-8, J Thorac Oncol 2012; 7: 85-9, Lung Cancer 2011; 74: 139-44, Cancer Res 2005; 65: 1642-6, Cancer Sci 2006; 97: 753-9

및 ESMO Open 2017; 2: e000279).

- [0119] 본원에 기재된 임의의 방법에서 HER2 돌연변이를 검출하기 위해 사용된 핵산은 게놈 DNA, 게놈 DNA로부터 전사된 RNA 및 RNA로부터 전사된 cDNA를 포함한다. 핵산은 척추동물, 예를 들면 포유류로부터 유래될 수 있다. 핵산은 특정한 원천으로부터 직접 유래되거나 이것이 그 원천에서 발견된 핵산의 카피이면 특정한 원천으로부터 "유래된다"고 말해진다.
- [0120] 소정의 실시형태에서, 핵산은 핵산의 카피, 예를 들면 증폭으로부터 생긴 카피를 포함한다. 예를 들면, 돌연변이를 검출하기 위해 원하는 양의 재료를 얻기 위한 증폭은 소정의 경우에 바람직할 수 있다. 이후, 앰플리콘은 앰플리콘에 돌연변이가 존재하는지를 결정하기 위해 돌연변이 검출 방법, 예컨대 하기에 기재된 것을 겪을 수 있다.
- [0121] 체세포 돌연변이 또는 변이는 당업자에게 알려진 소정의 방법에 의해 검출될 수 있다. 이러한 방법은 DNA 시퀀싱, 체세포 돌연변이 특이적 뉴클레오타이드 혼입 검정 및 체세포 돌연변이 특이적 프라이머 연장 검정(예를 들면, 체세포 돌연변이 특이적 PCR, 체세포 돌연변이 특이적 결찰 연쇄 반응(LCR) 및 gap-LCR 연장 검정)을 포함하는 프라이머, 돌연변이 특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 검정(예를 들면, 올리고뉴클레오타이드 결찰 검정), 핵산 듀프렉스에서 불화된 염기를 검출하기 위해 절단 체세포로부터의 보호가 이용되는 절단 보호 검정, 변이체 및 야생형 핵산 분자의 이동성을 비교하는 전기영동 분석, 변성-구배 겔 전기영동(예를 들면, Myers et al. (1985) Nature 313: 495에서처럼 DGGE), 비인치된(uninched) 염기 쌍에서의 RNase 절단의 분석, 헤테로듀프렉스 DNA의 화학 또는 효소 절단, 질량 분광법(예를 들면, MALDI-TOF); 유전적 비트 분석(GBA), 5' 뉴클레아제 검정(예를 들면, TaqManTm) 및 분자 경로 라벨을 사용한 검정을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0122] 표적 핵산에서의 변이의 검출은 당해 분야에 잘 알려진 기법을 사용하여 표적 핵산의 분자 클로닝 및 시퀀싱에 의해 달성될 수 있다. 대안적으로, 증폭 기법, 예컨대 중합효소 연쇄 반응(PCR)은 종양 조직으로부터 게놈 DNA 조제물로부터 직접 표적 핵산 서열을 증폭하기 위해 사용될 수 있다. 이후, 증폭된 서열의 핵산 서열은 결정되고 변이는 이로부터 확인될 수 있다. 증폭 기법은 당해 분야에 잘 알려져 있고, 예를 들면 중합효소 연쇄 반응은 Saiki et al., Science 239: 487, 1988; 미국 특허 제4,683,203호 및 미국 특허 제4,683,195호에 기재되어 있다.
- [0123] 당해 분야에 알려진 리가제 연쇄 반응은 또한 표적 핵산 서열을 증폭하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, Wu et al., Genomics 4: 560-569 (1989)를 참조한다. 또한, 대립유전자 특이적 PCR로서 알려진 기법은 또한 체세포 돌연변이(예를 들면, 치환)를 검출하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, Ruano and Kidd (1989) Nucleic Acids Research 17: 8392; McClay et al. (2002) Analytical Biochem. 301: 200-206을 참조한다. 이 기법의 소정의 실시형태에서, 프라이머의 3' 말단 뉴클레오타이드는 표적 핵산의 소정의 변이에 상보성이다(즉, 이것과 염기 쌍을 특이적으로 형성한다). 돌연변이 특이적 프라이머가 사용된다. 특이적 돌연변이가 존재하지 않으면, 증폭 산물이 관찰되지 않는다. 증폭 저항 돌연변이 시스템(ARMS)은 또한 변이(예를 들면, 치환)를 검출하기 위해 사용될 수 있다. ARMS는 예를 들면 유럽 특허 출원 공보 제0332435호 및 Newton et al., Nucleic Acids Research, 17: 7, 1989에 기재되어 있다.
- [0124] 변이(예를 들면, 치환)를 검출하기 위해 유용한 다른 방법은 (1) 돌연변이 특이적 뉴클레오타이드 혼입 검정, 예컨대 단일 염기 연장 검정(예를 들면, Chen et al. (2000) Genome Res. 10: 549-557 참조); (2) 돌연변이 특이적 프라이머 연장 검정(예를 들면, Ye et al. (2001) Hum. Mut. 17: 305-316 참조); (3) 5' 뉴클레아제 검정(예를 들면, De La Vega et al. (2002) BioTechniques 32: S48-S54(TaqMan® 검정을 기재함) 참조); (4) 분자 경로 라벨을 사용한 검정(예를 들면, Tyagi et al. (1998) Nature Biotech. 16: 49-53 참조); (5) 올리고뉴클레오타이드 결찰 검정(예를 들면, Grossman et al. (1994) Nuc. Acids Res. 22: 4527-4534 참조) 및 (6) 대립유전자 특이적 PCR을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0125] 변이는 또한 미스매치 검출 방법에 의해 검출될 수 있다. 미스매치는 100% 상보성이 아닌 혼성화된 핵산 듀프렉스이다. 전체 상보성의 결여는 결실, 삽입, 역위 또는 치환에 기인할 수 있다. 미스매치 검출 방법의 하나의 예는 예를 들면 Faham et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 14717-14722 (2005)에 기재된 미스매치 회수 검출(MRD: mismatch recovery detection) 검정이다. 미스매치된 절단 기법의 또 다른 예는 Myers et al., Science 230: 1242, 1985에 자세히 기재된 RNase 보호 방법이다. 예를 들면, 변이를 검출하기 위해 사용된 방법은 인간 야생형 표적 핵산에 상보성인 표지된 리보프로브의 사용을 포함할 수 있다. 조직 샘플로부터 유래된 리보프로브 및 표적 핵산은 함께 어닐링(혼성화)되고, 후속하여 듀프렉스 RNA 구조에서 약간의 미스매치를 검출할 수 있는 효소 RNase A에 의해 분해된다. 미스매치가 RNase A에 의해 검출되면, 이것은 미스매치의 부위에서 절

단된다. 따라서, 어닐링된 RNA 조제물이 전기영동 겔 매트릭스에서 분리될 때, 미스매치가 RNase A에 의해 검출되고 절단되면, DNA 및 리보프로브에 대해 mRNA 또는 전장 듀프렉스 RNA보다 더 작은 RNA 산물이 관찰될 것이다. 리보프로브는 표적 핵산의 전체 길이일 필요는 없지만, 표적 핵산이 돌연변이를 갖는 것으로 의심되는 위치를 포함하는 한 표적 핵산의 일부일 수 있다.

[0126] 유사한 방식으로, DNA 프로브는 예를 들면 효소 또는 화학 절단을 통해 미스매치를 검출하도록 사용될 수 있다. 예를 들면, Cotton et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 4397, 1988. 대안적으로, 미스매칭된 듀프렉스의 매칭된 듀프렉스로의 전기영동 이동성의 이행에 의해 불일치가 검출될 수 있다. 예를 들면, Cariello, Human Genetics, 42: 726, 1988을 참조한다. 리보프로브 또는 DNA 프로브 중 어느 하나에 의해, 돌연변이를 함유하는 것으로 의심되는 표적 핵산은 혼성화 전에 증폭될 수 있다. 특히, 변경이 결실 및 삽입과 같은 심각한 재배열이면, 표적 핵산의 변경은 또한 사우던 혼성화(Southern hybridization)를 사용하여 검출될 수 있다.

[0127] 표적 핵산 또는 둘러싼 마커 유전자에 대한 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 프로브는 변이, 예를 들면 삽입 또는 결실을 검출하기 위해 사용될 수 있다. 삽입 및 결실은 또한 표적 핵산의 클로닝, 시퀀싱 및 증폭에 의해 검출될 수 있다. 단일 가닥 다형성(SSCP) 검정은 또한 대립유전자의 변이체를 변경하는 염기를 검출하도록 사용될 수 있다. SSCP는 ErbB2 체세포 돌연변이의 검출을 위해 변형될 수 있다. SSCP는 단일 가닥 PCR 산물의 전기영동 이동의 변경으로 인해 염기 차이를 확인한다. 단일 가닥 PCR 산물은 이중 가닥 PCR 산물의 가열 또는 그렇지 않으면 변성에 의해 제조될 수 있다. 단일 가닥 핵산은 재폴딩하거나 부분적으로 염기 서열에 의존하는 2차 구조를 형성할 수 있다. 단일 가닥 증폭 산물의 상이한 전기영동 이동성은 SNP 위치에서의 염기-서열 차이와 관련된다. 변성 구배 겔 전기영동(DGGE)은 다형 DNA에 고유한 상이한 서열 의존적 안정성 및 용융 특징 및 변성 구배 겔에서의 전기영동 이동 패턴의 상응하는 차이에 기초하여 SNP 대립유전자를 구별한다.

[0128] 체세포 돌연변이 또는 변형은 또한 마이크로어레이를 사용하여 검출될 수 있다. 마이크로어레이는 통상적으로 예를 들면 cDNA 또는 cRNA 샘플과 높은 엄격성 조건 하에 혼성화하도록 배열된 일련의 수천개의 핵산 프로브를 사용한 멀티플렉스 기법이다. 프로브 표적 혼성화는 통상적으로 표적으로서의 핵산 서열의 상대 풍부도를 결정하기 위해 형광단, 은 또는 화학발광제 표지된 표적의 검출에 의해 검출되고 정량화된다. 통상적인 마이크로어레이에서, 프로브는 (에폭시-실란, 아미노-실란, 리신, 폴리알킬아미드 또는 기타를 통해) 화학 매트릭스에 대한 공유 결합에 의해 딱딱한 표면에 부착된다. 딱딱한 표면은 예를 들면 유리, 실리콘 칩 또는 미시적 비드이다.

[0129] 체세포 돌연변이의 검출을 위한 또 다른 방법은 질량 분광법에 기초한다. 질량 분광법은 DNA의 4개의 뉴클레오타이드의 각각의 고유 질량을 이용한다. 잠재적인 돌연변이 함유 ErbB2 핵산은 체세포 돌연변이를 갖는 핵산의 질량의 차이를 측정함으로써 질량 분광법에 의해 명확히 분석될 수 있다. MALDI-TOF(매트릭스 보조 레이저 탈착 이온화-타임아웃) 질량 분광법 기법은 체세포 돌연변이를 함유하는 핵산과 같은 분자량의 극도로 정확한 결정에 유용하다. 핵산 분석에 대한 많은 접근법은 질량 분광법에 기초하여 개발되었다. 예시적인 질량 분광법 기반 방법은 또한 전통적인 겔 기반 형식 및 마이크로어레이와 같은 다른 접근법과 조합되어 사용될 수 있는 프라이머 연장 검정을 포함한다.

[0130] 서열 특이적 리보자임(미국 특허 제5,498,531호)은 또한 리보자임 절단 부위의 발생 또는 손실에 기초하여 체세포 돌연변이를 검출하도록 사용될 수 있다. 완벽하게 매칭된 서열은 뉴클레아제 절단 분해 검정 또는 융점 차이로 인해 미스매칭된 서열과 구별될 수 있다. 돌연변이가 제한 효소 절단 부위에 영향을 미치면, 돌연변이는 제한 효소 분해 패턴의 변경 및 겔 전기영동에 의해 결정된 핵산 단편 길이의 상응하는 변경에 의해 확인될 수 있다.

[0131] 본 개시내용의 소정의 실시형태에서, 단백질 기반 검출 기법은 본원에 개시된 것과 같은 유전적 변이에 의해 유전자에 의해 암호화된 변이체 단백질을 검출하도록 사용된다. 단백질의 변이체 형태의 존재의 결정은 당해 분야에 알려진 임의의 적합한 기법, 예를 들면 전기영동(예를 들면, 변성된 또는 비변형된 폴리알킬아미드 겔 전기영동, 2차원 겔 전기영동, 모세관 전기영동)에 의해 수행될 수 있다. 전기영동 및 등전점 포커싱, 크로마토그래피(예를 들면, 사이징 크로마토그래피, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 및 양이온 교환 HPLC), 질량 분광법(예를 들면, MALDI-TOF 질량 분광법, 전기분무), 이온화(ESI) 질량 분광법 및 탠덤 질량 분광법). 예를 들면, Ahrer and Jungbauer (2006) J. Chromatog. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 841: 110-122를 참조한다. 적합한 기법은 부분적으로 검출되는 변이의 성질에 기초하여 선택될 수 있다. 예를 들면, 치환된 아미노산이 원래의 아미노산과 다른 전하를 갖는 아미노산 치환을 발생시키는 변이는 등전점 전기영동에 의해 검출될 수 있다. 고전압에서 pH 구배를 갖는 겔에 걸친 폴리펩타이드의 등전점 전기영동은 이의 등점점(pi)에 의해 단백질

을 분리한다. pH 구배 겔은 야생형 단백질을 함유하는 공동작동된 겔과 비교될 수 있다. 돌연변이가 새로운 단백분해 절단 부위의 생성 또는 이미 있는 것의 폐기를 발생시키는 경우에, 샘플은 단백분해 분해, 이어서 적절한 전기영동, 크로마토그래피 또는 질량 분광법 기법을 이용하여 맵핑된 펩타이드일 수 있다. 변이의 존재는 또한 단백질 시퀀싱 기법, 예컨대 Edman 분해 또는 질량 분광법의 소정의 형태를 이용하여 검출될 수 있다.

[0132] 이들 기법의 조합을 이용한 당해 분야에 알려진 방법이 또한 이용될 수 있다. 예를 들면, HPLC-현미경검사 탠덤 질량 분광법 기법에서, 단백질에서 단백분해 분해가 수행되고, 생성된 펩타이드 혼합물은 역상 크로마토그래피 분리에 의해 분리된다. 이후, 탠덤 질량 분광법이 수행되고, 이로부터 수집된 데이터가 분석된다. 또 다른 예에서, 비변형된 겔 전기영동은 MALDI 질량 분광법과 조합된다.

[0133] 소정의 실시형태에서, 단백질은 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 또는 펩타이드와 같은 시약을 사용하여 샘플로부터 단리되고 이후 상기에 개시된 임의의 기법을 이용하여 유전적 변이를 제시하도록 추가로 분석될 수 있다.

[0134] 대안적으로, 샘플에서의 변이체 단백질의 존재는 유전적 변이를 갖는 단백질에 특이적인 항체, 즉 돌연변이를 갖는 단백질에 특이적으로 결합하지만 돌연변이를 갖지 않는 단백질에 결합하지 않는 항체와 관련될 수 있다. 이것은 면역침화도 검정에 의해 검출될 수 있다. 이러한 항체는 당해 분야에 알려진 임의의 적합한 기법에 의해 제조될 수 있다. 항체는 용액 샘플로부터 특정한 단백질을 면역침전하도록 또는 예를 들면 폴리아크릴아미드 겔에 의해 분리된 단백질을 면역블롯하도록 사용될 수 있다. 면역세포화학 방법은 또한 조직 또는 세포에서 특이적 단백질 변이체를 검출하도록 사용될 수 있다. 예를 들면, 단일클론 항체 또는 다중클론 항체를 사용한, 효소 연결 면역흡착 검정(ELISA), 방사면역검정(RIA), 면역방사측정(IRMA) 및 샌드위치 검정을 포함하는, 면역효소 검정(IEMA).

[0135] B. 투카티닙 용량 및 투여

[0136] 일부 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 대상체의 체중의 1 kg당 약 0.1 mg 내지 10 mg(예를 들면, 대상체의 체중의 1 kg당 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 또는 10 mg)이다. 다른 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 대상체의 체중의 1 kg당 약 10 mg 내지 100 mg(예를 들면, 대상체의 체중의 1 kg당 약 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, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 mg)이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 대상체의 체중의 1 kg당 적어도 약 100 mg 내지 500 mg(예를 들면, 대상체의 체중의 1 kg당 적어도 약 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475 또는 500 mg)이다. 특정한 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 대상체의 체중의 1 kg당 약 1 mg 내지 50 mg(예를 들면, 대상체의 체중의 1 kg당 약 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 50 mg)이다. 일부 경우에, 투카티닙의 용량은 대상체의 체중의 1 kg당 약 50 mg이다.

[0137] 일부 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 약 1 mg 내지 100 mg(예를 들면, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 mg)의 투카티닙을 포함한다. 다른 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 약 100 mg 내지 1,000 mg(예를 들면, 약 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 975 또는 1,000 mg)의 투카티닙을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 약 150 mg 내지 약 650 mg이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 약 300 mg이다. 특정한 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 (예를 들면, 1일 2회 투여될 때) 약 300 mg이다.

[0138] 일부 실시형태에서, 투카티닙의 용량은 적어도 약 1,000 mg 내지 10,000 mg(예를 들면, 적어도 약 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500, 3,600, 3,700, 3,800, 3,900, 4,000, 4,100, 4,200, 4,300, 4,400, 4,500, 4,600, 4,700, 4,800, 4,900, 5,000, 5,100, 5,200, 5,300, 5,400, 5,500, 5,600, 5,700, 5,800, 5,900, 6,000, 6,100, 6,200, 6,300, 6,400, 6,500, 6,600, 6,700, 6,800, 6,900, 7,000, 7,100, 7,200, 7,300, 7,400, 7,500, 7,600, 7,700, 7,800, 7,900, 8,000, 8,100, 8,200, 8,300, 8,400, 8,500, 8,600, 8,700, 8,800, 8,900, 9,000, 9,100, 9,200, 9,300, 9,400,

9,500, 9,600, 9,700, 9,800, 9,900, 10,000 또는 초과 mg)의 투카티닙을 포함한다.

[0139] 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 용량은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량을 함유한다. 다른 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 용량은 (예를 들면, 다수의 용량이 원하는 임상 또는 치료 효과를 달성하기 위해 주어질 때) 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 치료학적 유효량 미만을 함유한다.

[0140] 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 임의의 적합한 경로 및 방식에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 소분자를 투여하는 적합한 경로는 당해 분야에 잘 알려져 있고, 당업자에 의해 선택될 수 있다. 일 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 비경구로 투여된다. 비경구 투여는 보통 주사에 의한 장관 투여 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 지칭하고, 상피, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 진피내, 복강내, 힘줄내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 두개내, 흉내, 경막의 및 흉골내 주사 및 점적을 포함한다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 경로는 정맥내 주사 또는 점적이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 경로는 정맥내 주사 또는 점적이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 정맥내 점적이다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물의 투여 경로는 경구이다.

[0141] 본원에 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 매일, 1일 2회, 1일 3회 또는 1일 4회 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 격일, 약 주마다 1회 또는 약 3주마다 1회 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 1회 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 2회 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 2회 약 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 2회 300 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 1회 약 600 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 1일 1회 600 mg의 용량으로 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 21일 치료 사이클의 각 일자에 1일 2회 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물은 대상체에게 경구로 투여된다.

[0142] C. 항-PD-1 항체

[0143] 일반적으로, 본 개시내용의 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 PD-1, 예를 들면 인간 PD-1에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어지는 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펌브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맙, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091,

GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 펩트폴리주맵이다. 미국 특허 제8,354,509호 및 미국 특허 제8,900,587호를 참조한다. 항체 펩트폴리주맵은 KEYTRUDA®로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 니볼루맵이다. 예를 들면, 미국 특허 제8,008,449호; WO 2013/173223호; WO 2006/121168호를 참조한다. 항체 니볼루맵은 OPDIVO®로서도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Amp-514이다. 예를 들면, Naing et al., *Annals of Oncology*, Volume 27, Issue suppl_6, 1 October 2016, 1072P를 참조한다. 항체 Amp-514는 MEDI0680으로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 티스텔리주맵이다. 예를 들면, 미국 특허 제9,834,606호를 참조한다. 항체 티스텔리주맵은 BGB-A317로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 세미플리주맵이다. 예를 들면, Burova et al., *Mol Cancer Ther.* 2017 May;16(5):861-870을 참조한다. 항체 세미플리주맵은 REGN2810으로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 (www.ejancer.com/article/S0959-8049(16)32902-1/pdf에서 월드 와이드 웹에서 용이하게 이용 가능한) TSR-042이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 JNJ-63723283이다. 예를 들면, Calvo et al., *Journal of Clinical Oncology* 36, no. 5_suppl (February 2018) 58-58을 참조한다. 항체 JNJ-63723283은 JNJ-3283으로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CBT-501이다. 예를 들면, Patel et al., *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 2017, 5(Suppl 2):P242를 참조한다. 항체 CBT-501은 게슬립주맵으로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 PF-06801591이다. 예를 들면, Youssef et al., *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2017; Cancer Res* 2017;77(13 Suppl): Abstract을 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 JS-001이다. 예를 들면, US 2016/0272708호를 참조한다. 일부 실시형태에서, the 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 캄렐리주맵이다. 예를 들면, 미국 특허 공보 US2016/376367호; Huang et al., *Clinical Cancer Research* 2018 Mar 15;24(6):1296-1304를 참조한다. 항체 캄렐리주맵은 SHR-1210 및 INCSHR-1210으로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 PDR001이다. 예를 들면, WO2017/106656호; Naing et al., *Journal of Clinical Oncology* 34, no. 15_suppl (May 2016) 3060-3060을 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BCD-100이다. 예를 들면, WO2018/103017호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 AGEN2034이다. 예를 들면, WO2017/040790호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 IBI-308이다. 예를 들면, WO2017/024465호; WO2017/133540호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BI-754091이다. 예를 들면, 미국 특허 공보 US2017/334995호; Johnson et al., *Journal of Clinical Oncology* 36, no. 5_suppl (February 2018) 212-212를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 GLS-010이다. 예를 들면, WO2017/025051호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 LZM-009이다. 예를 들면, 미국 특허 공보 US2017/210806호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 AK-103이다. 예를 들면, WO2017/071625호; WO2017/166804호; WO2018/036472호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 MGA-012이다. 예를 들면, WO2017/019846호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 Sym-021이다. 예를 들면, WO2017/055547호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CS1003이다. 예를 들면, CN107840887호를 참조한다.

[0144] 본 개시내용의 항-PD-1 항체는 바람직하게는 단일클론성이고, 다중특이적, 인간, 인간화된 또는 키메라 항체, 단일 사슬 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 제조된 단편 및 임의의 상기의 PD-1 결합 단편일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 항-PD-1 항체는 PD-1(예를 들면, 인간 PD-1)에 특이적으로 결합한다. 본 개시내용의 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 종류(예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위종류일 수 있다.

[0145] 본 개시내용의 소정의 실시형태에서, 항체는 본원에 기재된 것과 같은 항원 결합 단편(예를 들면, 인간 항원 결합 단편)이고, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 단일-사슬 Fv(scFv), 단일-사슬 항체, 이황화 연결된 Fv(sdFv) 및 V_L 도메인 또는 V_H 도메인 중 어느 하나를 포함하는 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 단일-사슬 항체를 포함하는 항원 결합 단편은 가변 영역(들)을 단독으로 또는 힌지 영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인의 전체 또는 일부와 조합하여 포함할 수 있다. 힌지 영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인을 갖는 가변 영역(들)의 임의의 조합을 포함하는 항원 결합 단편이 또한 본 개시내용에 포함된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간, 쥐과(예를 들면, 마우스 및 래트), 당나귀, 양, 토끼, 염소, 기니아 피그, 낙타, 말 또

는 답이다.

- [0146] 본 개시내용의 항-PD-1 항체는 단일특이적, 이중특이적, 삼중특이적이거나 더 고차의 다중특이성을 가질 수 있다. 다중특이적 항체는 PD-1의 상이한 에피토프에 특이적일 수 있거나, PD-1뿐만 아니라 이중성 단백질 둘 다에 특이적일 수 있다. 예를 들면, PCT 공보 WO 93/17715호; WO 92/08802호; WO 91/00360호; WO 92/05793호; Tutt, *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:60 69; 미국 특허 제4,474,893호; 미국 특허 제4,714,681호; 미국 특허 제 4,925,648호; 미국 특허 제5,573,920호; 미국 특허 제5,601,819호; Kostelny *et al.*, 1992, J. Immunol. 148:1547 1553을 참조한다.
- [0147] 본 개시내용의 항-PD-1 항체는 이것이 포함하는 특정한 CDR의 면에서 기재되거나 규정될 수 있다. 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 경계는 Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD("카밧" 넘버링 체계); Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948("초티아" 넘버링 체계); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol. 262, 732-745("접촉" 넘버링 체계); Lefranc MP *et al.*, "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77("IMGT" 넘버링 체계); Honegger A and Pluckthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool," J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70("Aho" 넘버링 체계); 및 Martin *et al.*, "Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm," PNAS, 1989, 86(23):9268-9272("AbM" 넘버링 체계)에 의해 기재된 것을 포함하는 임의의 다수의 잘 알려진 체계를 사용하여 용이하게 결정될 수 있다. 주어진 CDR의 경계는 확인을 위해 사용된 체계에 따라 변할 수 있다. 일부 실시형태에서, 주어진 항체 또는 이의 영역(예를 들면, 이의 가변 영역)의 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역" 또는 개별적인 규정된 CDR(예를 들면, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)은 임의의 상기 언급된 체계에 의해 정의된 것과 같이 하나의(또는 특정) CDR을 포함하는 것으로서 이해되어야 한다. 예를 들면, 특정한 CDR(예를 들면, CDR-H3)이 주어진 V_H 영역 아미노산 서열 또는 V_L 영역 아미노산 서열에서 상응하는 CDR의 아미노산 서열을 함유한다고 서술되는 경우에, 이러한 CDR이 임의의 상기 언급된 체계에 의해 정의된 것과 같이 상응하는 CDR(예를 들면, CDR-H3)의 서열을 갖는다고 이해된다. 카밧, 초티아, AbM 또는 IMGT 방법에 의해 정의된 것과 같은 CDR과 같은 특정한 CDR 또는 CDR들의 확인을 위한 체계가 규정될 수 있다.
- [0148] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR 서열에서의 아미노산 잔기의 넘버링은 Lefranc, M. P. *et al.*, Dev. Comp. Immunol., 2003, 27, 55-77에 기재된 것과 같은 IMGT 넘버링 체계에 따른다.
- [0149] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR 서열에서의 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat, E. A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242에 기재된 것과 같은 카밧 넘버링 체계에 따른다.
- [0150] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-PD-1 항체는 항체 니볼루맙의 CDR을 포함한다. WO 2006/121168호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항체 니볼루맙의 CDR은 카밧 넘버링 체계(Kabat, E. A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242)를 이용하여 기술된다. 본 개시내용은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-PD-1 항체 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 가변 도메인은 (a) 3개의 CDR의 세트(CDR의 상기 세트는 단일클론 항체 니볼루맙 유래임) 및 (b) 4개의 프레임워크 영역의 세트(프레임워크 영역의 상기 세트는 단일클론 항체 니볼루맙에서의 프레임워크 영역의 세트와 다르고, 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 유도체는 PD-1에 결합함)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맙이다. 항체 니볼루맙은 OPDIVO®로서도 알려져 있다.
- [0151] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-PD-1 항체는 항체 펌브롤리주맙의 CDR을 포함한다. 미국 특허 제 8,354,509호 및 미국 특허 제8,900,587호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항체 펌브롤리주맙의 CDR은 카밧 넘버링 체계(Kabat, E. A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242)를 이용하여 기술된다. 본 개시내용은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-PD-1 항체 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 가변 도메인은 (a) 3개의 CDR의 세트(CDR의 상기 세트는 단일클론 항체 펌브롤리주맙 유래임) 및 (b) 4개의 프

레이워크 영역의 세트(프레임워크 영역의 상기 세트는 단일클론 항체 캄브롤리주맙에서의 프레임워크 영역의 세트와 다르고, 상기 항-PD-1 항체 또는 이의 유도체는 PD-1에 결합함)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 캄브롤리주맙이다. 항체 캄브롤리주맙은 KEYTRUDA®로도 알려져 있다. (Merck & Co., Inc., 미국 뉴저지주 케닐워스).

[0152] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 단일클론 항체이다.

[0153] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 WO 2006/121168호에 기재된 것과 같은 항체 OPDIVO®로도 알려진 니볼루맙이다.

[0154] 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 미국 특허 제8,354,509호 및 미국 특허 제8,900,587호에 기재된 것과 같은 항체 KEYTRUDA®로도 공지된 캄브롤리주맙이다.

[0155] 본 발명의 항-PD-1 항체는 또한 PD-1(예를 들면, 인간 PD-1)에 대한 이의 결합 친화도의 면에서 기재되거나 규정될 수 있다. 바람직한 결합 친화도는 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M 또는 10^{-15} M 미만의 해리 상수 또는 Kd를 갖는 것을 포함한다.

[0156] 면역글로불린의 5개의 종류가 있다: 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 지정된 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM. γ 및 α 종류는 하위종류로 추가로 분할되고, 예를 들면 인간은 하기 하위종류를 발현한다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2. IgG1 항체는 (Jefferis and Lefranc 2009. *mAbs* Vol 1 Issue 4 1-7에 검토된) 알로타입이라 칭하는 다수의 다형 변이체로 존재할 수 있고, 이들 중 어느 것은 본원에서의 실시형태 중 일부에서 사용하기에 적합하다. 인간 집단에서의 공통 알로타입 변이체는 철자 a, f, n, z 또는 이들의 조합에 의해 지정된 것이다. 본원에서의 임의의 실시형태에서, 항체는 인간 IgG Fc 영역을 포함하는 중쇄 Fc 영역을 포함할 수 있다. 추가의 실시형태에서, 인간 IgG Fc 영역은 인간 IgG1을 포함한다.

[0157] 항체는 또한 공유 부착이 항체가 PD-1에 결합하는 것을 막지 않도록 변형된, 즉 항체에 대한 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형된 유도체를 포함한다. 예를 들면, 그러나 제한의 방식이 아니라, 항체 유도체는, 예를 들면 글리코실화, 아세틸화, PEG화, 인산화, 아마이드화, 알려진 보호 기/차단 기에 의한 유도체화, 단백질 분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 비제한적인 예로서 투니카마이신의 특정 화학 절단, 아세틸화, 포밀화, 대사 합성 등을 포함하는 알려진 기법에 의해 임의의 많은 화학 변형이 수행될 수 있다. 추가적으로, 유도체는 하나 이상의 비전통적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0158] 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 임의의 적합한 경로 및 방식에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 투여하는 적합한 경로는 당해 분야에 잘 알려져 있고, 당업자에 의해 선택될 수 있다. 일 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 비경구로 투여된다. 비경구 투여는 보통 주사에 의한 장관 투여 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 지칭하고, 상피, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 진피내, 복강내, 힘줄내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 두개내, 흉내, 경막외 및 흉골내 주사 및 점적을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 정맥내 점적이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 정맥내 주사 또는 점적이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 경구이다.

[0159] D. 항-PD-L1 항체

[0160] 일반적으로, 본 개시내용의 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 PD-L1, 예를 들면 인간 PD-L1에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맙, BMS-936559, 더발루맙, 아벨루맙, 엔바폴리맙, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어

지는 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맵, BMS-936559, 더발루맵, 아벨루맵, 엔바폴리맵, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어지는 군으로부터 선택된 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맵, BMS-936559, 더발루맵, 아벨루맵, 엔바폴리맵, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333, 또는 이들의 바이오시밀러로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맵, BMS-936559, 더발루맵, 아벨루맵, 엔바폴리맵, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아테졸리주맵이다. 예를 들면, 미국 특허 제8,217,149호를 참조한다. 항체 아테졸리주맵은 TECENTRIQ®로도 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BMS-936559이다. 예를 들면, 미국 특허 제7,943,743호(12A4라고 지칭됨)를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 더발루맵이다. 항체 더발루맵은 IMFINZI®로서도 알려져 있다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 아벨루맵이다. 항체 아벨루맵은 BAVENCIO®로서도 알려져 있다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 엔바폴리맵이다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CK-301이다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CS-1001이다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 SHR-1316이다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CBT-502이다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 BGB-A333이다. Akinleye and Rasool, J. Hematol. Oncol., 2019, 12:92를 참조한다.

[0161] 본 개시내용의 항-PD-L1 항체는 바람직하게는 단일클론성이고, 다중특이적, 인간, 인간화된 또는 키메라 항체, 단일 사슬 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 제조된 단편 및 임의의 상기의 PD-L1 결합 단편일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체는 PD-L1(예를 들면, 인간 PD-L1)에 특이적으로 결합한다. 본 개시내용의 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 종류(예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위종류일 수 있다.

[0162] 본 개시내용의 소정의 실시형태에서, 항체는 본원에 기재된 것과 같은 항원 결합 단편(예를 들면, 인간 항원 결합 단편)이고, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 단일-사슬 Fv(scFv), 단일-사슬 항체, 이항화 연결된 Fv(sdFv) 및 V_L 도메인 또는 V_H 도메인 중 어느 하나를 포함하는 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 단일-사슬 항체를 포함하는 항원 결합 단편은 가변 영역(들)을 단독으로 또는 힌지 영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인의 전체 또는 일부와 조합하여 포함할 수 있다. 힌지 영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인을 갖는 가변 영역(들)의 임의의 조합을 포함하는 항원 결합 단편이 또한 본 개시내용에 포함된다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간, 쥐과(예를 들면, 마우스 및 래트), 당나귀, 양, 토끼, 염소, 기니아 피그, 낙타, 말 또는 닭이다.

[0163] 본 개시내용의 항-PD-L1 항체는 단일특이적, 이중특이적, 삼중특이적이거나 더 고차의 다중특이성을 가질 수 있다. 다중특이적 항체는 PD-L1의 상이한 에피토프에 특이적일 수 있거나, PD-L1뿐만 아니라 이중성 단백질 둘 다에 특이적일 수 있다. 예를 들면, PCT 공보 WO 93/17715호; WO 92/08802호; WO 91/00360호; WO 92/05793호; Tutt, *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:60 69; 미국 특허 제4,474,893호; 미국 특허 제4,714,681호; 미국 특허 제4,925,648호; 미국 특허 제5,573,920호; 미국 특허 제5,601,819호; Kostelny *et al.*, 1992, J. Immunol. 148:1547 1553을 참조한다.

[0164] 본 개시내용의 항-PD-L1 항체는 이것이 포함하는 특정한 CDR의 면에서 기재되거나 규정될 수 있다. 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 경계는 Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD("카바트" 넘버링 체계); Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948("쵸티아" 넘버링 체계); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol. 262, 732-745("접촉" 넘버링 체계); Lefranc MP *et al.*, "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev Comp

Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77("IMGT" 넘버링 체계); Honegger A and Pluckthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool," J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70("Aho" 넘버링 체계); 및 Martin *et al.*, "Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm," PNAS, 1989, 86(23):9268-9272("AbM" 넘버링 체계)에 의해 기재된 것을 포함하는 임의의 다수의 잘 알려진 체계를 사용하여 용이하게 결정될 수 있다. 주어진 CDR의 경계는 확인을 위해 사용된 체계에 따라 변할 수 있다. 일부 실시형태에서, 주어진 항체 또는 이의 영역(예를 들면, 이의 가변 영역)의 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역" 또는 개별적인 규정된 CDR(예를 들면, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)은 임의의 상기 언급된 체계에 의해 정의된 것과 같이 하나의(또는 특정) CDR을 포함하는 것으로서 이해되어야 한다. 예를 들면, 특정한 CDR(예를 들면, CDR-H3)이 주어진 V_H 영역 아미노산 서열 또는 V_L 영역 아미노산 서열에서 상응하는 CDR의 아미노산 서열을 함유한다고 서술되는 경우에, 이러한 CDR이 임의의 상기 언급된 체계에 의해 정의된 것과 같이 상응하는 CDR(예를 들면, CDR-H3)의 서열을 갖는다고 이해된다. 카밧, 초티아, AbM 또는 IMGT 방법에 의해 정의된 것과 같은 CDR과 같은 특정한 CDR 또는 CDR들의 확인을 위한 체계가 규정될 수 있다.

[0165] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR 서열에서의 아미노산 잔기의 넘버링은 Lefranc, M. P. *et al.*, Dev. Comp. Immunol., 2003, 27, 55-77에 기재된 것과 같은 IMGT 넘버링 체계에 따른다.

[0166] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR 서열에서의 아미노산 잔기의 넘버링은 Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242에 기재된 것과 같은 카밧 넘버링 체계에 따른다.

[0167] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-PD-L1 항체는 항체 아테졸리주맙의 CDR을 포함한다. 예를 들면, 미국 특허 제8,217,149호를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항체 아테졸리주맙의 CDR은 카밧 넘버링 체계(Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242)를 이용하여 기재되어 있다. 본 개시내용은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 가변 도메인은 (a) 3개의 CDR의 세트(CDR의 상기 세트는 단일클론 항체 아테졸리주맙 유래임) 및 (b) 4개의 프레임워크 영역의 세트(프레임워크 영역의 상기 세트는 단일클론 항체 아테졸리주맙에서의 프레임워크 영역의 세트와 다르고, 상기 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체는 PD-L1에 결합함)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맙이다. 항체 아테졸리주맙은 TECENTRIQ®로도 알려져 있다.

[0168] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-PD-L1 항체는 항체 BMS-936559의 CDR을 포함한다. 예를 들면, 미국 특허 제7,943,743호(12A4라고 칭해짐)를 참조한다. 일부 실시형태에서, 항체 BMS-936559의 CDR은 카밧 넘버링 체계(Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242)를 이용하여 기재되어 있다. 본 개시내용은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 가변 도메인은 (a) 3개의 CDR의 세트(CDR의 상기 세트는 단일클론 항체 BMS-936559 유래임) 및 (b) 4개의 프레임워크 영역의 세트(프레임워크 영역의 상기 세트는 단일클론 항체 BMS-936559에서의 프레임워크 영역의 세트와 다르고, 상기 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체는 PD-L1에 결합함)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559이다.

[0169] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-PD-L1 항체는 항체 더발루맙의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 더발루맙의 CDR은 카밧 넘버링 체계(Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242)를 이용하여 기재되어 있다. 본 개시내용은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 가변 도메인은 (a) 3개의 CDR의 세트(CDR의 상기 세트는 단일클론 항체 더발루맙 유래임) 및 (b) 4개의 프레임워크 영역의 세트(프레임워크 영역의 상기 세트는 단일클론 항체 더발루맙에서의 프레임워크 영역의 세트와 다르고, 상기 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체는 PD-L1에 결합함)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 더발루맙이다. 항체 더발루맙은 IMFINZI®로서도 알려져 있다.

[0170] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-PD-L1 항체는 항체 아벨루맙의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 아벨루맙의 CDR은 카밧 넘버링 체계(Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242)를

이용하여 기재되어 있다. 본 개시내용은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 가변 도메인은 (a) 3개의 CDR의 세트(CDR의 상기 세트는 단일클론 항체 아벨루맵 유래임) 및 (b) 4개의 프레임워크 영역의 세트(프레임워크 영역의 상기 세트는 단일클론 항체 아벨루맵에서의 프레임워크 영역의 세트와 다르고, 상기 항-PD-L1 항체 또는 이의 유도체는 PD-L1에 결합함)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아벨루맵이다. 항체 아벨루맵은 BAVENCIO®로서도 알려져 있다.

[0171] 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 단일클론 항체이다.

[0172] 본 발명의 항-PD-L1 항체는 또한 PD-L1(예를 들면, 인간 PD-L1)에 대한 이의 결합 친화도의 면에서 기재되거나 규정될 수 있다. 바람직한 결합 친화도는 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M 또는 10^{-15} M 미만의 해리 상수 또는 Kd를 갖는 것을 포함한다.

[0173] 면역글로불린의 5개의 종류가 있다: 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 지정된 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM. γ 및 α 종류는 하위종류로 추가로 분할되고, 예를 들면 인간은 하기 하위종류를 발현한다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2. IgG1 항체는 (Jefferis and Lefranc 2009, *mAbs* Vol 1 Issue 4 1-7에 검토된) 알로타입이라 칭하는 다수의 다형 변이체로 존재할 수 있고, 이들 중 어느 것은 본원에서의 실시형태 중 일부에서 사용하기에 적합하다. 인간 집단에서의 공통 알로타입 변이체는 철자 a, f, n, z 또는 이들의 조합에 의해 지정된 것이다. 본원에서의 임의의 실시형태에서, 항체는 인간 IgG Fc 영역을 포함하는 중쇄 Fc 영역을 포함할 수 있다. 추가의 실시형태에서, 인간 IgG Fc 영역은 인간 IgG1을 포함한다.

[0174] 항체는 또한 공유 부착이 항체가 PD-L1에 결합하는 것을 막지 않도록 변형된, 즉 항체에 대한 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형된 유도체를 포함한다. 예를 들면, 그러나 제한의 방식이 아니라, 항체 유도체는, 예를 들면 글리코실화, 아세틸화, PEG화, 인산화, 아마이드화, 알려진 보호 기/차단 기에 의한 유도체화, 단백질 분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 비제한적인 예로서 투니카마이신의 특정 화학 절단, 아세틸화, 포밀화, 대사 합성 등을 포함하는 알려진 기법에 의해 임의의 많은 화학 변형이 수행될 수 있다. 추가적으로, 유도체는 하나 이상의 비전통적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0175] 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 임의의 적합한 경로 및 방식에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 투여하는 적합한 경로는 당해 분야에 잘 알려져 있고, 당업자에 의해 선택될 수 있다. 일 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 비경구로 투여된다. 비경구 투여는 보통 주사에 의한 장관 투여 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 지칭하고, 상피, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 진피내, 복강내, 힘줄내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 두개내, 흉내, 경막외 및 흉골내 주사 및 점적을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 정맥내 점적이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 경구이다.

[0176] E. 항-CTLA4 항체

[0177] 일반적으로, 본 개시내용의 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 세포독성 T-림프구 연관된 단백질 4(CTLA4), 예를 들면 인간 CTLA4에 결합한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵 또는 이의 바이오시밀러의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵 또는 이의 바이오시밀러의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 항원 결합 단편 이플리무맵 또는 이의 바이오시밀러. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이플리무맵이다. 항체 이플리무맵은 YERVOY®로도 알려져 있다.

[0178] 본 개시내용의 항-CTLA4 항체는 바람직하게는 단일클론성이고, 다중특이적, 인간, 인간화된 또는 키메라 항체, 단일 사슬 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 제조된 단편 및 임의의 상기의 CTLA4 결

합 단편일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체는 CTLA4(예를 들면, 인간 CTLA4)에 특이적으로 결합한다. 본 개시내용의 면역글로불린 분자는 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 종류(예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위종류일 수 있다.

[0179] 본 개시내용의 소정의 실시형태에서, 항체는 본원에 기재된 것과 같은 항원 결합 단편(예를 들면, 인간 항원 결합 단편)이고, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, 단일-사슬 Fv(scFv), 단일-사슬 항체, 이항화 연결된 Fv(sdFv) 및 V_L 도메인 또는 V_H 도메인 중 어느 하나를 포함하는 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 단일-사슬 항체를 포함하는 항원 결합 단편은 가변 영역(들)을 단독으로 또는 힌지 영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인의 전체 또는 일부와 조합하여 포함할 수 있다. 힌지 영역, CH1, CH2, CH3 및 CL 도메인을 갖는 가변 영역(들)의 임의의 조합을 포함하는 항원 결합 단편이 또한 본 개시내용에 포함된다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간, 쥐과(예를 들면, 마우스 및 래트), 당나귀, 양, 토끼, 염소, 기니아 피그, 낙타, 말 또는 닭이다.

[0180] 본 개시내용의 항-CTLA4 항체는 단일특이적, 이중특이적, 삼중특이적이거나 더 고차의 다중특이성을 가질 수 있다. 다중특이적 항체는 CTLA4의 상이한 에피토프에 특이적일 수 있거나, CTLA4뿐만 아니라 이종성 단백질 둘 다에 특이적일 수 있다. 예를 들면, PCT 공보 WO 93/17715호; WO 92/08802호; WO 91/00360호; WO 92/05793호; Tutt, *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:60-69; 미국 특허 제4,474,893호; 미국 특허 제4,714,681호; 미국 특허 제4,925,648호; 미국 특허 제5,573,920호; 미국 특허 제5,601,819호; Kostelny *et al.*, 1992, J. Immunol. 148:1547-1553을 참조한다.

[0181] 본 개시내용의 항-CTLA4 항체는 이것이 포함하는 특정한 CDR의 면에서 기재되거나 규정될 수 있다. 주어진 CDR 또는 FR의 정확한 아미노산 서열 경계는 Kabat *et al.* (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD("카바트" 넘버링 체계); Al-Lazikani *et al.*, (1997) JMB 273,927-948("초티아" 넘버링 체계); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), "Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography," J. Mol. Biol. 262, 732-745("접촉" 넘버링 체계); Lefranc MP *et al.*, "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77("IMGT" 넘버링 체계); Honegger A and Pluckthun A, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool," J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70("Aho" 넘버링 체계); 및 Martin *et al.*, "Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm," PNAS, 1989, 86(23):9268-9272("AbM" 넘버링 체계)에 의해 기재된 것을 포함하는 임의의 다수의 잘 알려진 체계를 사용하여 용이하게 결정될 수 있다. 주어진 CDR의 경계는 확인을 위해 사용된 체계에 따라 변할 수 있다. 일부 실시형태에서, 주어진 항체 또는 이의 영역(예를 들면, 이의 가변 영역)의 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역" 또는 개별적인 규정된 CDR(예를 들면, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3)은 임의의 상기 언급된 체계에 의해 정의된 것과 같이 하나의(또는 특정) CDR을 포함하는 것으로서 이해되어야 한다. 예를 들면, 특정한 CDR(예를 들면, CDR-H3)이 주어진 V_H 영역 아미노산 서열 또는 V_L 영역 아미노산 서열에서 상응하는 CDR의 아미노산 서열을 함유한다고 서술되는 경우에, 이러한 CDR이 임의의 상기 언급된 체계에 의해 정의된 것과 같이 상응하는 CDR(예를 들면, CDR-H3)의 서열을 갖는다고 이해된다. 카바트, 초티아, AbM 또는 IMGT 방법에 의해 정의된 것과 같은 CDR과 같은 특정한 CDR 또는 CDR들의 확인을 위한 체계가 규정될 수 있다.

[0182] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 CDR 서열에서의 아미노산 잔기의 넘버링은 Lefranc, M. P. *et al.*, Dev. Comp. Immunol., 2003, 27, 55-77에 기재된 것과 같은 IMGT 넘버링 체계에 따른다.

[0183] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 항-CTLA4 항체는 항체 이플리무맙의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체 이플리무맙의 CDR은 카바트 넘버링 체계(Kabat, E. A., *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NTH Publication No. 91-3242)를 이용하여 기재되어 있다. 본 개시내용은 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항-CTLA4 항체 또는 이의 유도체를 포함하고, 상기 가변 도메인은 (a) 3개의 CDR의 세트(CDR의 상기 세트는 단일클론 항체 이플리무맙 유래임) 및 (b) 4개의 프레임워크 영역의 세트(프레임워크 영역의 상기 세트는 단일클론 항체 이플리무맙에서의 프레임워크 영역의 세트와 다르고, 상기 항-CTLA4 항체 또는 이의 유도체는 CTLA4에 결합함)을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 이플리무맙이다. 항체 이플리무맙은 YERVOY®로도 알려져 있다.

- [0184] 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 단일클론 항체이다.
- [0185] 본 발명의 항-CTLA4 항체는 또한 CTLA4(예를 들면, 인간 CTLA4)에 대한 이의 결합 친화도의 면에서 기재되거나 규정될 수 있다. 바람직한 결합 친화도는 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M 또는 10^{-15} M 미만의 해리 상수 또는 Kd를 갖는 것을 포함한다.
- [0186] 면역글로불린의 5개의 종류가 있다: 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 지정된 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM. γ 및 α 종류는 하위종류로 추가로 분할되고, 예를 들면 인간은 하기 하위종류를 발현한다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2. IgG1 항체는 (Jefferis and Lefranc 2009. *mAbs* Vol 1 Issue 4 1-7에 검토됨) 알로타입이라 칭하는 다수의 다형 변이체로 존재할 수 있고, 이들 중 어느 것은 본원에서의 실시형태 중 일부에서 사용하기에 적합하다. 인간 집단에서의 공통 알로타입 변이체는 철자 a, f, n, z 또는 이들의 조합에 의해 지정된 것이다. 본원에서의 임의의 실시형태에서, 항체는 인간 IgG Fc 영역을 포함하는 중쇄 Fc 영역을 포함할 수 있다. 추가의 실시형태에서, 인간 IgG Fc 영역은 인간 IgG1을 포함한다.
- [0187] 항체는 또한 공유 부착이 항체가 CTLA4에 결합하는 것을 막지 않도록 변형된, 즉 항체에 대한 임의의 유형의 분자의 공유 부착에 의해 변형된 유도체를 포함한다. 예를 들면, 그러나 제한의 방식이 아니라, 항체 유도체는, 예를 들면 글리코실화, 아세틸화, PEG화, 인산화, 아마이드화, 알려진 보호 기/차단 기에 의한 유도체화, 단백질 분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 비제한적인 예로서 투니카마이신의 특정 화학 절단, 아세틸화, 포밀화, 대사 합성 등을 포함하는 알려진 기법에 의해 임의의 많은 화학 변형이 수행될 수 있다. 추가적으로, 유도체는 하나 이상의 비전통적 아미노산을 함유할 수 있다.
- [0188] 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 임의의 적합한 경로 및 방식에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 투여하는 적합한 경로는 당해 분야에 잘 알려져 있고, 당업자에 의해 선택될 수 있다. 일 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 비경구로 투여된다. 비경구 투여는 보통 주사에 의한 장관 투여 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 지칭하고, 상피, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 진피내, 복강내, 힘줄내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 두개내, 흉내, 경막외 및 흉골내 주사 및 점적을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 정맥내 점적이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 정맥내 주사 또는 점적이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 투여 경로는 경구이다.
- [0189] *F. 핵산, 숙주 세포 및 제조 방법*
- [0190] 일부 양태에서, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산이 본원에 또한 제공된다. 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터가 본원에 추가로 제공된다. 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산을 발현하는 숙주 세포가 본원에 추가로 제공된다. 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 숙주 세포가 본원에 추가로 제공된다.
- [0191] 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 또는 본원에 기재된 항-CTLA4 항체는 잘 알려진 발현 벡터 시스템 및 숙주 세포를 사용하여 잘 알려진 재조합 기법에 의해 제조될 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 De la Cruz Edmunds *et al.*, 2006, *Molecular Biotechnology* 34; 179-190, EP216846호, 미국 특허 제 5,981,216호, WO 87/04462호, EP323997호, 미국 특허 제 5,591,639호, 미국 특허 제 5,658,759호, EP338841호, 미국 특허 제 5,879,936호 및 미국 특허 제 5,891,693호에 개시된 것과 같은 GS 발현 벡터 시스템을 사용하여 CHO

세포에서 제조된다.

- [0192] 본원에 기재된 단일클론 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 또는 본원에 기재된 항-CTLA4 항체는 예를 들면 Kohler *et al.*, *Nature*, 256, 495 (1975)에 의해 처음으로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. 단일클론 항체는 또한 예를 들면 Clackson *et al.*, *Nature*, 352, 624-628 (1991) 및 Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222(3):581-597 (1991)에 기재된 기법을 이용하여 과지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 단일클론 항체는 임의의 적합한 원천으로부터 얻어질 수 있다. 따라서, 예를 들면 단일클론 항체는 표면 상에 항원을 발현하는 세포의 형태의 관심 있는 항원으로 면역화된 마우스로부터 얻은 림프구 및 B 세포로부터 제조된 하이브리도마 또는 관심 있는 항원을 암호화하는 핵산으로부터 얻어질 수 있다. 단일클론 항체는 또한 면역화된 인간 또는 비인간 포유류, 예컨대 래트, 개, 영장류 등의 항체 발현 세포로부터 유래된 하이브리도마로부터 얻어질 수 있다.
- [0193] 일 실시형태에서, 본 발명의 항체(예를 들면, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체 또는 항-CTLA4 항체)는 인간 항체이다. PD-1, PD-L1 또는 CTLA4에 대항하여 지향된 인간 단일클론 항체는 마우스 시스템보다는 인간 면역계의 부분을 보유하는 형질전환 또는 염색체이식 마우스를 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 형질전환 및 염색체이식 마우스는 각각 본원에서 HuMab 마우스 및 KM 마우스라 지칭되는 마우스를 포함하고, 본원에서 "형질전환 마우스"라 총체적으로 지칭된다.
- [0194] HuMab 마우스는 내인성 μ 및 κ 사슬 좌위를 불활성화하는 표적화된 돌연변이와 함께 비재배열된 인간 중쇄(μ 및 γ) 및 κ 경쇄 면역글로불린 서열을 암호화하는 인간 면역글로불린 유전자 미니 좌위를 함유한다(Lonberg, N. *et al.*, *Nature*, 368, 856-859 (1994)). 따라서, 마우스는 마우스 IgM 또는 κ 의 감소된 발현을 나타내고, 면역화에 반응하여 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 전이유전자는 높은 친화도 인간 IgG, κ 단일클론 항체를 생성하도록 클래스 변환 및 체세포 돌연변이를 겪는다(상기 Lonberg, N. 외의 문헌 (1994); Lonberg, N. *Handbook of Experimental Pharmacology* 113, 49-101 (1994), Lonberg, N. and Huszar, D., *Intern. Rev. Immunol.*, Vol. 13 65-93 (1995) 및 Harding, F. and Lonberg, N. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 764:536-546 (1995)에서 검토됨). HuMab 마우스의 제조는 Taylor, L. *et al.*, *Nucleic Acids Research*. 20:6287-6295 (1992), Chen, J. *et al.*, *International Immunology*. 5:647-656 (1993), Tuailon *et al.*, *J. Immunol.*, 152:2912-2920 (1994), Taylor, L. *et al.*, *International Immunology*, 6:579-591 (1994), Fishwild, D. *et al.*, *Nature Biotechnology*, 14:845-851 (1996)에 자세히 기재되어 있다. 또한 미국 특허 제5,545,806호, 미국 특허 제5,569,825호, 미국 특허 제5,625,126호, 미국 특허 제5,633,425호, 미국 특허 제5,789,650호, 미국 특허 제5,877,397호, 미국 특허 제5,661,016호, 미국 특허 제5,814,318호, 미국 특허 제5,874,299호, 미국 특허 제5,770,429호, 미국 특허 제5,545,807호, WO 98/24884호, WO 94/25585호, WO 93/1227호, WO 92/22645호, WO 92/03918호 및 WO 01/09187호를 참조한다.
- [0195] HCo7 마우스는 (Chen *et al.*, *EMBO J.* 12:821-830 (1993)에 기재된 것과 같은) 내인성 경쇄(카파) 유전자에서의 JKD 파괴, (WO 01/14424호의 실시예 1에 기재된 것과 같은) 내인성 중쇄 유전자에서의 CMD 파괴, (Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnology*, 14:845-851 (1996)에 기재된 것과 같은) KCo5 인간 카파 경쇄 전이유전자 및 (미국 특허 제5,770,429호에 기재된 것과 같은) HCo7 인간 중쇄 전이유전자를 가질 수 있다.
- [0196] HCo12 마우스는 (Chen *et al.*, *EMBO J.* 12:821-830 (1993)에 기재된 것과 같은) 내인성 경쇄(카파) 유전자에서의 JKD 파괴, (WO 01/14424호의 실시예 1에 기재된 것과 같은) 내인성 중쇄 유전자에서의 CMD 파괴, (Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnology*, 14:845-851 (1996)에 기재된 것과 같은) KCo5 인간 카파 경쇄 전이유전자 및 (WO 01/14424호의 실시예 2에 기재된 것과 같은) HCo12 인간 중쇄 전이유전자를 갖는다.
- [0197] HCo17 형질전환 마우스 균주(또한 US 2010/0077497호 참조)는 pH2의 80 kb 인서트(Taylor *et al.* (1994) *Int. Immunol.*, 6:579-591), pVX6의 Kb 인서트 및 yIgH24 염색체의 -460 kb 효모 인공 염색체 단편의 공동주입에 의해 생성되었다. 이 계통은 (HCo17) 25950으로 지정되었다. 이후, (HCo17) 25950 계통은 (PCT 공보 WO 01109187호의 실시예 1에 기재된) CMD 돌연변이, JKD 돌연변이(Chen *et al.*, (1993) *EMBO J.* 12:811-820) 및 (KCo5) 9272 전이유전자(Fishwild *et al.* (1996) *Nature Biotechnology*, 14:845-851)를 포함하는 마우스에 의해 사육되었다. 생성된 마우스는 내인성 마우스 중쇄 및 카파 경쇄 좌위의 파괴에 동종접합성인 배경에서 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 전이유전자를 발현한다.
- [0198] HCo20 형질전환 마우스 균주는 미니좌위 30개 중쇄 전이유전자 pH2, 생식선 가변 영역(Vh) 함유 YAC yIgH10 및 미니좌위 작제물 pVx6(WO09097006호에 기재됨)의 공동주입의 결과이다. 이후, (HCo20) 계통은 (PCT 공보 WO 01/09187호의 실시예 1에 기재된) CMD 돌연변이, JKD 돌연변이(Chen *et al.* (1993) *EMBO J.* 12:811-820) 및

(KC05) 9272 전이유전자(Fishwild et al.). (1996) *Nature Biotechnology*, 14:845-851)를 포함하는 마우스에 의해 사육되었다. 생성된 마우스는 내인성 마우스 중쇄 및 카파 경쇄 좌위의 파괴에 동종접합성인 배경에서 인간 10 개 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 전이유전자를 발현한다.

[0199] Balb/c 균주의 유익한 효과를 갖는 HuMab 마우스를 생성하기 위해, HuMab 마우스를 W009097006호에 기재된 것과 같은 마우스를 생성하기 위해 (Fishwild et al. (1996) *Nature Biotechnology*, 14:845-851에 기재된 것과 같이) KC05 균주를 야생형 Balb/c 마우스에 역교배하여 생성된 KC005[MIK](Balb) 마우스와 교배하였다. 이 교배를 사용하여 Balb/c 하이브리드는 HCo12, HCo17 및 HCo20 균주에 대해 생성되었다.

[0200] KM 마우스 균주에서, 내인성 마우스 카파 경쇄 유전자는 Chen et al., *EMBO J.* 12:811-820 (1993)에 기재된 것과 같이 동종접합성으로 파괴되었고, 내인성 마우스 중쇄 유전자는 WO 01/09187호의 실시예 1에 기재된 것과 같이 동종접합성으로 파괴되었다. 이 마우스 균주는 Fishwild et al., *Nature Biotechnology*, 14:845-851 (1996)에 기재된 것과 같이 인간 카파 경쇄 전이유전자, KC05를 보유한다. 이 마우스 균주는 또한 WO 02/43478호에 기재된 것과 같이 염색체 14 단편 hCF(SC20)로 이루어진 인간 중쇄 전이염색체를 보유한다.

[0201] 이 형질전환 마우스로부터의 비장세포는 잘 알려진 기법에 따라 인간 단일클론 항체를 분비하는 하이브리도마를 생성하도록 사용될 수 있다. 본 발명의 인간 단일클론 또는 다중클론 항체 또는 다른 종으로부터 기원한 본 발명의 항체는 또한 관심 있는 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 서열에 형질전환인 또 다른 비인간 포유류 또는 식물의 생성 및 이로부터 회수 가능한 형태의 항체의 제조를 통해 형질전환으로 생성될 수 있다. 포유류에서의 형질전환 제조와 연결되어 항체는 염소, 소 또는 다른 포유류의 젖에서 제조되고 이로부터 회수될 수 있다. 예를 들면 미국 특허 제5,827,690호, 미국 특허 제5,756,687호, 미국 특허 제5,750,172호 및 미국 특허 제5,741,957호를 참조한다.

[0202] 추가로, 본 발명의 인간 항체 또는 다른 종으로부터의 본 발명의 항체는 당해 분야에 잘 알려진 기법을 이용하여 제한 없이 파지 디스플레이, 레트로바이러스 디스플레이, 리보솜 디스플레이 및 다른 기법을 포함하는 디스플레이-유형 기술을 통해 생성될 수 있고, 이러한 기법이 당해 분야에 잘 알려져 있으면서(예를 들면, Hoogenboom et al., *J. Mol. Biol.* 227(2):381-388 (1992)(파지 디스플레이), Vaughan et al., *Nature Biotech.* 14:309 (1996)(파지 디스플레이), Hanes and Plutchau, *PNAS USA* 94:4937-4942 (1997)(리보솜 디스플레이), Parmley and Smith, *Gene*, 73:305-318 (1988)(파지 디스플레이), Scott, *TIBS*, 17:241-245 (1992), Cwirla et al., *PNAS USA*, 87:6378-6382 (1990), Russel et al., *Nucl. Acids Research*, 21:1081-1085 (1993), Hogenboom et al., *Immunol. Reviews*, 130:43-68 (1992), Chiswell and McCafferty, *TIBTECH*, 10:80-84 (1992) 및 미국 특허 제5,733,743호 참조), 생성된 분자는 추가 성숙, 예컨대 친화도 성숙으로 처리될 수 있다. 디스플레이 기술이 인간이 아닌 항체를 제조하도록 이용되면, 이러한 항체는 인간화될 수 있다.

[0203] G. 치료 결과

[0204] 일부 실시형태에서, 대상체를 치료하는 것은 암 세포 성장을 억제하는 것, 암 세포 증식을 억제하는 것, 암 세포 이동을 억제하는 것, 암 세포 침윤을 억제하는 것, 암의 하나 이상의 징후 또는 증상을 감소시키거나 제거하는 것, 암 종양의 크기(예를 들면, 부피)를 감소시키는 것, 암 종양의 수를 감소시키는 것, 암 세포의 수를 감소시키는 것, 암 세포 괴사, 파이로토시스(pyroptosis), 종양중, 아포토시스, 자가포식 또는 다른 세포사를 유도하는 것, 대상체의 생존 시간을 증가시키는 것 또는 또 다른 약물 또는 치료의 치료 효과를 향상시키는 것을 포함한다.

[0205] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 대상체를 치료하는 것은 약 10% 내지 70%(예를 들면, 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% 또는 70%)인 종양 성장 억제(TGI) 지수를 생성시킨다. 바람직하게는, 대상체를 치료하는 것은 적어도 약 70%(예를 들면, 약 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%)인 TGI 지수를 생성시킨다. 더 바람직하게는, 대상체를 치료하는 것은 적어도 약 85%(예를 들면, 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%)인 TGI 지수를 생성시킨다. 훨씬 더 바람직하게는, 대상체를 치료하는 것은 적어도 약 95%(예를 들면, 약 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%)인 TGI 지수를 생성시킨다. 가장 바람직하게는, 대상체를 치료하는 것은 약 100% 또는 초과(예를 들면, 약 100%, 101%, 102%, 103%, 104%, 105%, 106%, 107%, 108%, 109%, 110%, 111%, 112%, 113%, 114%, 115%, 116%, 117%, 118%, 119%, 120%, 125%, 130%, 135%, 140%, 145%, 150% 또는 초과)인 TGI 지수를 생성시킨다.

- [0206] 특정한 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 의해 대상체를 치료하는 것은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 경우에, 대상체의 치료는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 다른 경우에, 대상체를 치료하는 것은 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 대상체를 치료하는 것은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 높은 TGI 지수를 생성시킨다.
- [0207] 특정한 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편에 의해 대상체를 치료하는 것은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 경우에, 대상체의 치료는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 다른 경우에, 대상체를 치료하는 것은 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 대상체를 치료하는 것은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 또는 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 단독으로 사용될 때 관찰된 TGI 지수보다 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 높은 TGI 지수를 생성시킨다.
- [0208] 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합은 상승적이다. 특정한 실시형태에서, 상승적 조합과 관련하여, 대상체를 치료하는 것은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합이 상가 효과를 생성한다면 예상되는 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 경우에, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합이 투여될 때 관찰된 TGI 지수는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합이 상가 효과를 생성한다면 예상되는 TGI 지수보다 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 높다.
- [0209] 일부 실시형태에서, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합은 상승적이다. 특정한 실시형태에서, 상승적 조합과 관련하여, 대상체를 치료하는 것은 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합이 상가 효과를 생성한다면 예상되는 TGI 지수보다 높은 TGI 지수를 생성시킨다. 일부 경우에, 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합이 투여될 때 관찰된 TGI 지수는 투카티닙, 또는 이의 염 또는 용매화물, 및 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 조합이 상가 효과를 생성한다면 예상되는 TGI 지수보다 적어도 약 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 80% 높다.
- [0210] 일 양태에서, 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙 및 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체에 의해 암을 치료하는 방법은 기준선에 비해 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙 및 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체의 투여 후 대상체에서의 하나 이상의 치료 효과의 개선을 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 고형 종양으로부터 유래된 종양의 크기, 객관적 반응을, 반응 지속기간, 반응까지의 시간, 무진행 생존기간, 전체 생존기간 또는 임의의 이들의 조합이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 고형 종양으로부터 유래된 종양의 크기이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 감소된 종양 크기이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 안정한 질환이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 부분 반응이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 완전한 반응이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 객관적 반응율이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 반응 지속기간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 반응까지의 시간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 무진행 생존기간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 전체 생존기간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 암 퇴행이다.
- [0211] 본원에 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙 및 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 하기 기준(RECIST 기준 1.1)을 포함할 수 있다:

	카테고리	기준
표적 병변에 기초	완전한 반응(CR)	모든 표적 병변의 사라짐. 임의의 병리학적 림프절은 10 mm 미만으로의 단축의 감소를 가져야 한다.
	부분 반응(PR)	LD의 기준선 합계를 참고로 취하여 표적 병변의 가장 긴 직경(LD)의 합계의 30% 이상의 감소.
	안정한 질환(SD)	실험에 있으면서 LD의 가장 작은 합계를 참고로 취하여 PR의 자격이 있는 충분한 수축도 없고, PD의 자격이 있는 충분한 증가도 없음.
	진행성 질환(PD)	실험에 있으면서 기록된 표적 LD의 가장 작은 합계를 참고로 취하여 표적 병변의 LD의 합계의 20% 이상(및 5 mm 이상)의 증가 또는 하나 이상의 새로운 병변의 출현.
비표적 병변에 기초	CR	모든 비표적 병변의 사라짐 및 종양 마커 수준의 정상화. 모든 림프절은 크기가 비병리학적이여야 한다(10 mm 미만의 단축).
	SD	하나 이상의 비표적 병변(들)의 지속 또는/및 정상 수준 초과와 종양 마커 수준의 유지.
	PD	하나 이상의 새로운 병변의 출현 및/또는 기존의 비표적 병변의 명백한 진행.

[0212]

[0213]

본원에 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 의한 치료의 유효성은 객관적 반응율을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 객관적 반응율은 최소 기간 동안 미리 정의된 양의 종양 크기 감소를 갖는 환자의 비율이다. 일부 실시형태에서, 객관적 반응율은 RECIST v1.1에 기초한다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 20% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 30% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 40% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 50% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 60% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 70% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 85%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 90%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 95%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 98%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 99%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 20% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 30% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 40% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 50% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 60% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 70% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 85%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 90%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 95%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 98%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 99%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 100%이다.

[0214]

본원에 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 암(예를 들면, 고형 종양)으로부터 유래된 종양의 크기를 측정함으로써 평가된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 10% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 20% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 30% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 40% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 50% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 60% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 70% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 85%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 90%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로

부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 95%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 98%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 99%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 10% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 20% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 30% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 40% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 50% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 60% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 70% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 85%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 90%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 95%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 98%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 99%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 100%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 자기 공명 영상화(MRI)에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 컴퓨터 단층촬영(CT)에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 양성자 방출 단층촬영(PET)에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 유방촬영술에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 초음파촬영술에 의해 측정된다. Gruber et. al., 2013, *BMC Cancer*. 13:328을 참조한다.

[0215]

본원에 기재된 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 암(예를 들면, 고형 종양)으로부터 유래된 종양의 퇴행을 촉진한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 10% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 20% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 30% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 40% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 50% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 60% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 70% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 85%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 90%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 95%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 98%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 99%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 10% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 20% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 30% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 40% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 50% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 60% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 70% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 85%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 90%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 95%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 98%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 99%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 100%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 자기 공명 영상화(MRI)에 의해 결정된다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 컴퓨터 단층촬영(CT)에 의해 결정된다.

다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 양성자 방출 단층촬영(PET)에 의해 결정된다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 유방촬영술에 의해 결정된다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 초음파촬영술에 의해 결정된다. Gruber et. al., 2013, *BMC Cancer*. 13:328을 참조한다.

[0216] 본원에 기재된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후의 무진행 생존기간의 시간을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 6개월의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 1년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 2년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 3년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 4년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 18개월, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 6개월의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 1년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 2년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 3년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 4년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다.

[0217] 본원에 기재된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후의 전체 생존기간의 시간을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 6개월의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 1년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 2년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 3년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 4년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 18개월, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 6개월의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/

또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 1년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 2년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 3년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 4년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 5년의 전체 생존기간을 나타낸다.

[0218] 본원에 기재된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 6개월이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 1년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 2년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 3년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 4년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 약 5년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 18개월, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 6개월이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 1년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 2년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 3년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 4년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 투여 후 적어도 5년이다.

[0219] 일 양태에서, 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙 및 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체에 의해 암을 치료하는 방법은 기준선에 비해 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙 및 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체의 투여 후 대상체에서의 하나 이상의 치료 효과의 개선을 생성시킨다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 고형 종양으로부터 유래된 종양의 크기, 객관적 반응을, 반응 지속기간, 반응까지의 시간, 무진행 생존기간, 전체 생존기간 또는 임의의 이들의 조합이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 고형 종양으로부터 유래된 종양의 크기이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 감소된 종양 크기이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 안정한 질환이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 부분 반응이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 완전한 반응이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 객관적 반응율이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 반응 지속기간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 반응까지의 시간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 무진행 생존기간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 전체 생존기간이다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 치료 효과는 암 퇴행이다.

[0220]

본원에 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 것과 같은 투카티닙 및 본원에 기재된 것과 같은 항-PD-L1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 하기 기준(RECIST 기준 1.1)을 포함할 수 있다:

	카테고리	기준
표적 병변에 기초	완전한 반응(CR)	모든 표적 병변의 사라짐. 임의의 병리학적 림프절은 10 mm 미만으로의 단축의 감소를 가져야 한다.
	부분 반응(PR)	LD의 기준선 합계를 참고로 취하여 표적 병변의 가장 긴 직경(LD)의 합계의 30% 이상의 감소.
	안정한 질환(SD)	실험에 있으면서 LD의 가장 작은 합계를 참고로 취하여 PR의 자격이 있는 충분한 수축도 없고, PD의 자격이 있는 충분한 증가도 없음.
	진행성 질환(PD)	실험에 있으면서 기록된 표적 LD의 가장 작은 합계를 참고로 취하여 표적 병변의 LD의 합계의 20% 이상(및 5 mm 이상)의 증가 또는 하나 이상의 새로운 병변의 출현.
비표적 병변에 기초	CR	모든 비표적 병변의 사라짐 및 종양 마커 수준의 정상화. 모든 림프절은 크기가 비병리학적이야 한다(10 mm 미만의 단축).
	SD	하나 이상의 비표적 병변(들)의 지속 또는/및 정상 수준 초과와 종양 마커 수준의 유지.
	PD	하나 이상의 새로운 병변의 출현 및/또는 기존의 비표적 병변의 명백한 진행.

[0221]

[0222]

본원에 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 의한 치료의 유효성은 객관적 반응율을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 객관적 반응율은 최소 기간 동안 미리 정의된 양의 종양 크기 감소를 갖는 환자의 비율이다. 일부 실시형태에서, 객관적 반응율은 RECIST v1.1에 기초한다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 20% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 30% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 40% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 50% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 60% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 70% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 85%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 90%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 95%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 98%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 약 99%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 20% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 30% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 40% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 50% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 60% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 70% 내지 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 80%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 85%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 90%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 95%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 98%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 적어도 99%이다. 일 실시형태에서, 객관적 반응율은 100%이다.

[0223]

본원에 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 암(예를 들면, 고형 종양)으로부터 유래된 종양의 크기를 측정함으로써 평가된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 10% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 20% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 30% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 40% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 50% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 60% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 70% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 80% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 90% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 95% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 98% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 99% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 100% 내지 80%만큼 감소된다.

부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 70% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 85%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 90%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 95%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 98%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 약 99%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 10% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 20% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 30% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 40% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 50% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 60% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 70% 내지 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 80%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 85%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 90%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 95%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 98%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 99%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 적어도 100%만큼 감소된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 자기 공명 영상화(MRI)에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 컴퓨터 단층촬영(CT)에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 양성자 방출 단층촬영(PET)에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 유방촬영술에 의해 측정된다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양의 크기는 초음파촬영술에 의해 측정된다. Gruber et. al., 2013, *BMC Cancer*, 13:328을 참조한다.

[0224]

본원에 기재된 제공된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 암(예를 들면, 고형 종양)으로부터 유래된 종양의 퇴행을 촉진한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70% 또는 적어도 약 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 10% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 20% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 30% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 40% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 50% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 60% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 70% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 85%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 90%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 95%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 98%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 약 99%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 전의 암으로부터 유래된 종양의 크기에 비해 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70% 또는 적어도 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 10% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 20% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 30% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 40% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 50% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 60% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 70% 내지 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 80%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 85%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 90%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 95%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터

부터 유래된 종양은 적어도 98%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 99%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 암으로부터 유래된 종양은 적어도 100%만큼 퇴행한다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 자기 공명 영상화(MRI)에 의해 결정된다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 컴퓨터 단층촬영(CT)에 의해 결정된다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 양성자 방출 단층촬영(PET)에 의해 결정된다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 유방촬영술에 의해 결정된다. 일 실시형태에서, 종양 퇴행은 초음파촬영술에 의해 결정된다. Gruber et. al., 2013, *BMC Cancer*. 13:328을 참조한다.

[0225] 본원에 기재된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후의 무진행 생존기간의 시간을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 6개월의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 1년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 2년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 3년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 4년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 18개월, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 6개월의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 1년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 2년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 3년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 4년의 무진행 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 5년의 무진행 생존기간을 나타낸다.

[0226] 본원에 기재된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후의 전체 생존기간의 시간을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 6개월의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 1년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 2년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 3년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 4년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 5년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도

11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 18개월, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 전체 생존 기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 6개월의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 1년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 2년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 3년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 4년의 전체 생존기간을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 5년의 전체 생존기간을 나타낸다.

[0227]

본원에 기재된 방법 또는 용도 또는 용도를 위한 생성물의 일 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 의한 치료에 대한 반응은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후의 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간을 측정함으로써 평가된다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 12개월, 적어도 약 18개월, 적어도 약 2년, 적어도 약 3년, 적어도 약 4년 또는 적어도 약 5년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 6개월이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 1년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 2년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 3년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 4년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 약 5년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 1개월, 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 5개월, 적어도 6개월, 적어도 7개월, 적어도 8개월, 적어도 9개월, 적어도 10개월, 적어도 11개월, 적어도 12개월, 적어도 18개월, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 6개월이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 1년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 2년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 3년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 4년이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙 및 본원에 기재된 항-PD-L1 항체에 대한 반응의 지속기간은 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 투여 후 적어도 5년이다.

[0228]

H. 조성물

[0229]

또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 투카티닙 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-PD-1 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 팜브롤리주맙, 니볼루맙, Amp-514, 티스렐리주맙, 세미플리맙, TSR-042, JNJ-63723283,

CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맵, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 및 CS1003으로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 일부 경우에, 항-PD-1 항체는 팜브롤리주맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵이다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 이플리루맵이다.

[0230] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 투카티닙 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵, BMS-936559, 더발루맵, 아벨루맵, 엔바폴리맵, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 및 BGB-A333으로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 일부 경우에, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559이다. 일부 경우에, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 더발루맵이다. 일부 경우에, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아벨루맵이다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 이플리루맵이다.

[0231] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙은 약 0.1 nM 내지 10 nM(예를 들면, 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 또는 10 nM)의 농도로 존재한다. 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙은 약 10 nM 내지 100 nM(예를 들면, 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 nM)의 농도로 존재한다. 일부 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙은 약 100 nM 내지 1,000 nM(예를 들면, 약 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1,000 nM)의 농도로 존재한다. 더 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 투카티닙은 적어도 약 1,000 nM 내지 10,000 nM(예를 들면, 적어도 약 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500, 3,600, 3,700, 3,800, 3,900, 4,000, 4,100, 4,200, 4,300, 4,400, 4,500, 4,600, 4,700, 4,800, 4,900, 5,000, 5,100, 5,200, 5,300, 5,400, 5,500, 5,600, 5,700, 5,800, 5,900, 6,000, 6,100, 6,200, 6,300, 6,400, 6,500, 6,600, 6,700, 6,800, 6,900, 7,000, 7,100, 7,200, 7,300, 7,400, 7,500, 7,600, 7,700, 7,800, 7,900, 8,000, 8,100, 8,200, 8,300, 8,400, 8,500, 8,600, 8,700, 8,800, 8,900, 9,000, 9,100, 9,200, 9,300, 9,400, 9,500, 9,600, 9,700, 9,800, 9,900, 10,000 또는 초과 nM)의 농도로 존재한다.

[0232] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 항-PD-1 항체는 약 0.1 nM 내지 10 nM(예를 들면, 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 또는 10 nM)의 농도로 존재한다. 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 항-PD-1 항체는 약 10 nM 내지 100 nM(예를 들면, 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 nM)의 농도로 존재한다. 일부 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 약 100 nM 내지 1,000 nM(예를 들면, 약 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1,000 nM)의 농도로 존재한다. 더 다른 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 적어도 약 1,000 nM 내지 10,000 nM(예를 들면, 적어도 약 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500, 3,600, 3,700, 3,800, 3,900, 4,000, 4,100, 4,200, 4,300, 4,400, 4,500, 4,600, 4,700, 4,800, 4,900, 5,000, 5,100, 5,200, 5,300, 5,400, 5,500, 5,600, 5,700, 5,800, 5,900, 6,000, 6,100, 6,200, 6,300, 6,400, 6,500, 6,600, 6,700, 6,800, 6,900, 7,000, 7,100, 7,200, 7,300, 7,400, 7,500, 7,600, 7,700, 7,800, 7,900, 8,000, 8,100, 8,200, 8,300, 8,400, 8,500, 8,600, 8,700, 8,800, 8,900, 9,000, 9,100, 9,200, 9,300, 9,400, 9,500, 9,600, 9,700, 9,800, 9,900, 10,000 또는 초과 nM)의 농도로 존재한다.

[0233] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체는 약 0.1 nM 내지 10 nM(예를 들면, 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 또는 10 nM)의 농도로 존재한다. 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체는 약 10 nM 내지 100 nM(예를 들면, 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 nM)의 농도로 존재한다. 일부 다른 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 약 100 nM 내지 1,000 nM(예를 들면, 약 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1,000 nM)의 농도로 존재한다. 더 다른 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 적어도 약 1,000 nM 내지 10,000 nM(예를 들면, 적어도 약

1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500, 3,600, 3,700, 3,800, 3,900, 4,000, 4,100, 4,200, 4,300, 4,400, 4,500, 4,600, 4,700, 4,800, 4,900, 5,000, 5,100, 5,200, 5,300, 5,400, 5,500, 5,600, 5,700, 5,800, 5,900, 6,000, 6,100, 6,200, 6,300, 6,400, 6,500, 6,600, 6,700, 6,800, 6,900, 7,000, 7,100, 7,200, 7,300, 7,400, 7,500, 7,600, 7,700, 7,800, 7,900, 8,000, 8,100, 8,200, 8,300, 8,400, 8,500, 8,600, 8,700, 8,800, 8,900, 9,000, 9,100, 9,200, 9,300, 9,400, 9,500, 9,600, 9,700, 9,800, 9,900, 10,000 또는 초과 nM)의 농도로 존재한다.

[0234] 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체는 약 0.1 nM 내지 10 nM(예를 들면, 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 또는 10 nM)의 농도로 존재한다. 다른 실시형태에서, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체는 약 10 nM 내지 100 nM(예를 들면, 약 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 nM)의 농도로 존재한다. 일부 다른 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 약 100 nM 내지 1,000 nM(예를 들면, 약 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1,000 nM)의 농도로 존재한다. 더 다른 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 적어도 약 1,000 nM 내지 10,000 nM(예를 들면, 적어도 약 1,000, 1,100, 1,200, 1,300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500, 3,600, 3,700, 3,800, 3,900, 4,000, 4,100, 4,200, 4,300, 4,400, 4,500, 4,600, 4,700, 4,800, 4,900, 5,000, 5,100, 5,200, 5,300, 5,400, 5,500, 5,600, 5,700, 5,800, 5,900, 6,000, 6,100, 6,200, 6,300, 6,400, 6,500, 6,600, 6,700, 6,800, 6,900, 7,000, 7,100, 7,200, 7,300, 7,400, 7,500, 7,600, 7,700, 7,800, 7,900, 8,000, 8,100, 8,200, 8,300, 8,400, 8,500, 8,600, 8,700, 8,800, 8,900, 9,000, 9,100, 9,200, 9,300, 9,400, 9,500, 9,600, 9,700, 9,800, 9,900, 10,000 또는 초과 nM)의 농도로 존재한다.

[0235] 본 발명의 약학 조성물은 약학의 분야에 잘 알려진 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 본 발명과 사용하기에 적합한 약학적으로 허용 가능한 담체는 포스페이트 완충 식염수 용액, 물 및 에멀션(예컨대, 오일/물 또는 물/오일 에멀션) 및 다양한 유형의 습윤제 또는 아조반트를 포함하는 임의의 표준 약학 담체, 완충제 및 부형제를 포함한다. 적합한 약학 담체 및 이의 제형은 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, 19th ed. 1995)에 기재되어 있다. 바람직한 약학 담체는 활성제의 의도된 투여 방식에 따라 달라진다.

[0236] 본 발명의 약학 조성물은 활성 성분으로서의 약물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 및/또는 본원에 기재된 항-CTLA4 항체) 또는 이의 임의의 약학적으로 허용 가능한 염의 조합 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다. 약학 조성물은 선택적으로 다른 치료학적 성분을 함유할 수 있다.

[0237] 조성물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합을 포함)은 종래의 약학 배합 기법에 따라 적합한 약학 담체 또는 부형제와의 친밀한 혼합물로 활성 성분으로서 배합될 수 있다. 투여에 원해지는 조제물의 형태에 적합한 임의의 담체 또는 부형제는 본원에 개시된 화합물과의 사용을 위해 고려된다.

[0238] 약학 조성물은 경구, 국소, 비경구, 폐, 비강 또는 직장 투여에 적합한 것을 포함한다. 임의의 주어진 경우에 가장 적합한 투여 경로는 부분적으로 암 병태의 성질 및 중증도 및 또한 선택적으로 HER2 상태 또는 암의 병기에 따라 달라질 것이다.

[0239] 다른 약학 조성물은 전신(예를 들면, 장관 또는 비경구) 투여에 적합한 것을 포함한다. 전신 투여는 경구, 직장, 설하 또는 구순하 투여를 포함한다. 비경구 투여는 예를 들면 정맥내, 근육내, 세동맥내, 진피내, 피하, 복강내, 뇌실내 및 두개내를 포함한다. 다른 전달 방식은 리포솜 제형의 사용, 정맥내 점적, 경피 패치 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 특정한 실시형태에서, 본 발명의 약학 조성물은 종양내로 투여될 수 있다.

[0240] 폐 투여를 위한 조성물은 본원에 기재된 화합물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합) 또는 이의 염의 분말 및 적합한 담체 또는 활택제의 분말로 이루어진 건조 분말 조성물을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 폐 투여를 위한 조성물은 당업자에게 알려진 임의의 적합한 건조 분말 흡입기 장치로부터 흡입될 수 있다.

[0241] 전신 투여를 위한 조성물은 본원에 기재된 것과 같은 조성물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재

된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합) 및 적합한 담체 또는 부형제의 분말로 이루어진 건조 분말 조성물을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 전신 투여를 위한 조성물은 비제한적인 예로서 정제, 캡슐, 환제, 시럽, 용액 및 현탁액에 의해 표시될 수 있다.

[0242] 일부 실시형태에서, 조성물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합)은 추가로 약학 계면활성제를 포함한다. 다른 실시형태에서, 조성물은 추가로 동결보호제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 동결보호제는 글루코스, 수크로스, 트레할로스, 락토스, 글루탐산나트륨, PVP, HP β CD, CD, 글리세롤, 말토스, 만니톨 및 사카로스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0243] 본 발명에 사용하기 위한 약학 조성물 또는 약제는 하나 이상의 생리학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 사용하여 표준 기법에 의해 제형화될 수 있다. 적합한 약학 담체는 본원에 그리고 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., University of the Sciences in Philadelphia, Lippencott Williams & Wilkins (2005)에 기재되어 있다.

[0244] 조성물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합)의 제어 방출 비경구 제형은 임플란트, 유성 주사로서 또는 미립자 시스템으로서 제조될 수 있다. 전달 시스템의 광범위한 개관을 위해, 본원에 참고로 포함된 Banga, A.J., Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems, Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, PA, (1995)를 참조한다. 미립자 시스템은 마이크로구, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 나노캡슐, 나노구 및 나노입자를 포함한다.

[0245] 중합체는 본 발명의 조성물의 이온 제어 방출에 사용될 수 있다. 제어 약물 전달에 사용하기 위한 다양한 분해 가능한 및 분해 불가능한 중합체성 매트릭스는 당해 분야에 잘 알려져 있다(Langer R., Accounts Chem. Res., 26:537-542 (1993)). 예를 들면, 블록 공중합체, polaxamer 407은 저온에서 점성의 덜 이동성인 액체로 존재하지만, 체온에서 반고체 겔을 형성한다. 이것은 재조합 인트루킨 2 및 유레아제의 제형 및 지속적 전달을 위한 효과적인 비히클인 것으로 나타났다(Johnston et al., Pharm. Res., 9:425-434 (1992); 및 Pec et al., J. Parent. Sci. Tech., 44(2):58 65 (1990)). 대안적으로, 수산화인화석은 단백질의 제어 방출을 위한 마이크로담체로서 사용되었다(Ijntema et al., Int. J. Pharm., 112:215-224 (1994)). 더 또 다른 양태에서, 리포솜은 지질 캡슐화된 약물의 제어 방출뿐만 아니라 약물 표적화에 사용된다(Betageri et al., LIPOSOME DRUG DELIVERY SYSTEMS, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA (1993)). 치료학적 단백질의 제어 전달을 위한 많은 추가 시스템이 알려져 있다. 예를 들면, 미국 특허 제5,055,303호, 미국 특허 제5,188,837호, 미국 특허 제4,235,871호, 미국 특허 제4,501,728호, 미국 특허 제4,837,028호, 미국 특허 제4,957,735호 및 미국 특허 제5,019,369호, 미국 특허 제5,055,303호; 미국 특허 제5,514,670호; 미국 특허 제5,413,797호; 미국 특허 제5,268,164호; 미국 특허 제5,004,697호; 미국 특허 제4,902,505호; 미국 특허 제5,506,206호, 미국 특허 제5,271,961호; 미국 특허 제 5,254,342호 및 미국 특허 제5,534,496호를 참조하고, 이들의 각각은 본원에 참고로 포함된다.

[0246] 본원에 기재된 투카티닙 및/또는 본원에 기재된 항-PD-1 항체 및/또는 본원에 기재된 항-PD-L1 항체 및/또는 본원에 기재된 항-CTLA4 항체의 조합의 경구 투여를 위해, 약학 조성물 또는 약제는 예를 들면 약학적으로 허용 가능한 부형제와 중래의 수단에 의해 제조된 정제 또는 캡슐의 형태를 취할 수 있다. 본 발명은 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합 또는 이들 약물의 건조된 고체 분말을 (a) 희석제 또는 충전제, 예를 들면 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로스(예를 들면, 에틸 셀룰로스, 미결정질 셀룰로스), 글리세린, 펙틴, 폴리아크릴레이트 또는 인산수소칼슘, 황산칼슘, (b) 활택제, 예를 들면 실리카, 탈콰, 스테아르산, 마그네슘염 또는 칼슘염, 금속성 스테아레이트, 콜로이드성 이산화규소, 수소화 식물성 오일, 옥수수 전분, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨 또는 폴리에틸렌글리콜; 정제에 대해서는 또한 (c) 결합제, 예를 들면 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸트, 메틸셀룰로스, 나트륨 카복시메틸셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스; 원하면 (d) 붕괴제, 예를 들면 전분(예를 들면, 감자 전분 또는 나트륨 전분), 글리콜레이트, 한천, 알긴산 또는 이의 나트륨염 또는 발포성 혼합물; (e) 습윤제, 예를 들면 황산 라우릴 나트륨 또는 (f) 흡수제, 착색제, 향 및 감미료와 함께 포함하는 정제 및 젤라틴 캡슐을 제공한다.

[0247] 정제는 당해 분야에 알려진 방법에 따라 필름 코팅되거나 장용 코팅될 수 있다. 경구 투여를 위한 액체 조제물은 예를 들면 용액, 시럽 또는 현탁액의 형태를 취할 수 있거나, 이것은 사용 전에 물 또는 다른 적합한 비히클

과의 구성을 위한 건조 생성물로서 제시될 수 있다. 이러한 액체 조제물은 약학적으로 허용 가능한 첨가제, 예를 들면 현탁제, 예를 들면 소르비톨 시럽, 셀룰로스 유도체 또는 수소화 식물 지방; 유화제, 예를 들면 레시틴 또는 아카시아; 비수성 비히클, 예를 들면 아몬드유, 유성 에스테르, 에틸 알코올 또는 분별화 식물성 오일; 및 보존제, 예를 들면 메틸 또는 프로필-p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산과 종래의 수단에 의해 제조될 수 있다. 조제물은 또한 적절한 마대로 완충제 염, 착향제, 착색제 또는 감미료를 함유할 수 있다. 원하면, 경구 투여를 위한 조제물은 활성 화합물(들)의 제어 방출을 생성하도록 적합하게 제형화될 수 있다.

[0248] 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합의 국소 투여를 위한 통상적인 제형은 크림, 연고, 스프레이, 로션 및 패치를 포함한다. 그러나, 약학 조성물은 주사기 또는 다른 장치에 의해 임의의 투여 유형, 예를 들면 진피내, 진피하, 정맥내, 근육내, 피하, 비강내, 대뇌내, 기관내, 동맥내, 복강내, 방광내, 흉막내, 관상동맥내 또는 종양내 주사를 위해 제형화될 수 있다. 흡입(예를 들면, 에어로졸)에 의한 투여 또는 경구 또는 직장 투여를 위한 제형이 또한 고려된다.

[0249] 경피 적용에 적합한 제형은 하나 이상의 본원에 기재된 화합물의 유효량을 선택적으로 담체와 포함한다. 바람직한 담체는 숙주의 피부를 통한 통과를 보조하도록 흡수 가능한 약리학적으로 허용 가능한 용매를 포함한다. 예를 들면, 경피 장치는 백킹 부재, 화합물을 선택적으로 담체와 함유하는 저장소, 선택적으로 연장된 시간 기간에 걸쳐 제어되고 미리 결정된 속도로 숙주의 피부에 화합물을 전달하기 위한 속도 제어 장벽 및 피부에 장치를 고정하기 위한 수단을 포함하는 봉대의 형태이다. 매트릭스 경피 제형이 또한 사용될 수 있다.

[0250] 본원에 기재된 조성물 및 제형(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합)은 주사에 의해, 예를 들면 볼루스 주사 또는 연속 점적에 의해 비경구 투여를 위해 제형화될 수 있다. 주사용 제형은 첨가된 보존제를 갖는 예를 들면 앰플 또는 다중용량 용기에서 단위 투여량 형태로 제시될 수 있다. 주사용 조성물은 바람직하게는 수성 등장성 용액 또는 현탁액이고, 좌제는 바람직하게는 지방 에멀션 또는 현탁액으로부터 제조된다. 조성물은 멸균되거나 아췌반트, 예컨대 보존제, 안정화제, 습윤제 또는 유화제, 용액 프로모터, 삼투압을 조절하기 위한 염 또는 완충제를 함유할 수 있다. 대안적으로, 활성 성분(들)은 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들면 멸균 발열원 비함유 물과의 구성을 위해 분말 형태일 수 있다. 게다가, 이것은 또한 다른 치료학적으로 귀중한 물질을 함유할 수 있다. 조성물은 각각 종래의 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제조된다.

[0251] 흡입에 의한 투여를 위해, 조성물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합)을 포함하는 편리하게는 적합한 추진제, 예를 들면 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로메탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 가스의 사용에 의해 가압 팩 또는 분무기로부터 에어로졸 스프레이 제시의 형태로 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우에, 투여량 단위는 계량된 양을 전달하도록 밸브를 제공하여 결정될 수 있다. 화합물(들)의 분말 믹스 및 적합한 분말 기제, 예를 들면 락토스 또는 전분을 함유하는 예를 들면 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 젤라틴의 캡슐 및 카트리지가 제형화될 수 있다.

[0252] 조성물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합)을 포함하는 또한 예를 들면 종래의 좌제 기제, 예를 들면 코코아 버터 또는 다른 글리세라이드를 함유하는 직장 조성물, 예를 들면 좌제 또는 보유 관장으로 제형화될 수 있다.

[0253] 더욱이, 활성 성분(들)은 데포 조제물로서 제형화될 수 있다. 이러한 장기 작용 제형은 이식에 의해(예를 들면, 피하로 또는 근육내로) 또는 근육내 주사에 의해 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들면 본원에 기재된 화합물 중 하나 이상은 적합한 중합체성 재료 또는 소수성 재료(예를 들면, 허용 가능한 오일 중의 에멀션으로서) 또는 이온 교환 수지에 의해, 또는 난용성 유도체로서, 예를 들면 난용성 염으로서 제형화될 수 있다.

[0254] I. 제조 물품 및 키트

[0255] 또 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 고형 종양의 효과를 치료하거나 완화하기 위한 제조 물품 또는 키트를 제공하고, 상기 제조 물품 또는 키트는 본 발명의 약학 조성물(예를 들면, 본원에 기재된 투카티닙, 본원에 기재된 항-PD-1 항체, 본원에 기재된 항-PD-L1 항체, 본원에 기재된 것과 같은 항-CTLA4 항체 또는 이들의 조합)을 포함하는 약학 조성물)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 캄브롤리주맵, 니볼루맵, Amp-514, 티스렐리주맵, 세미플리주맵, TSR-042, JNJ-63723283, CBT-501, PF-06801591, JS-001, 캄렐리주맵, PDR001, BCD-100, AGEN2034, IBI-308, BI-754091, GLS-010, LZM-009, AK-103, MGA-012, Sym-021 또는 CS1003이다. 일부 경

우에, 항-PD-1 항체는 펩트올리주맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵, BMS-936559, 더발루맵, 아벨루맵, 엔바폴리맵, CK-301, CS-1001, SHR-1316, CBT-502 또는 BGB-A333이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아테졸리주맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 BMS-936559이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 더발루맵이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아벨루맵이다. 일부 경우에, 항-CTLA4 항체는 이폴리무맵이다.

[0256] 제조 물품 또는 키트는 암, 특히 고형 종양의 효과를 치료하거나 완화하기에 적합하다. 일부 실시형태에서, 암은 진행된 암이다.

[0257] 본 발명의 다양한 방법을 수행하기 위한 재료 및 시약은 상기 방법의 실행을 수월하게 하도록 제조 물품 또는 키트에 제공될 수 있다. 본원에 사용된 것과 같은 용어 "키트"는 공정, 검정, 분석 또는 조작을 수월하게 하는 물품의 조합을 포함한다. 특히, 본 발명의 키트는 예를 들면 진단학, 예후학, 치료 및 기타를 포함하는 광범위 분야에서 유용성이 발견된다.

[0258] 제조 물품 또는 키트는 화학 시약뿐만 아니라 다른 성분을 함유할 수 있다. 게다가, 본 발명의 제조 물품 또는 키트는 제한 없이 사용자에게 대한 설명서, 본원에 기재된 투카티닙과 본원에 기재된 항-PD-1 항체의 조합 또는 이의 약학 조성물을 투여하기 위한 장치 및 시약, 샘플 관, 홀더, 트레이, 랙, 디쉬, 플레이트, 용액, 완충제 또는 다른 화학 시약을 포함할 수 있다. 게다가, 본 발명의 제조 물품 또는 키트는 제한 없이 사용자에게 대한 설명서, 본원에 기재된 투카티닙과 본원에 기재된 항-PD-L1 항체의 조합 또는 이의 약학 조성물을 투여하기 위한 장치 및 시약, 샘플 관, 홀더, 트레이, 랙, 디쉬, 플레이트, 용액, 완충제 또는 다른 화학 시약을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제조 물품 또는 키트는 설명서, 유전자(예를 들면, *HER2*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*)의 유전자형을 결정하거나 샘플에서 *HER2*의 발현을 결정하기 위한 장치 또는 시약을 함유한다. 본 발명의 제조 물품 또는 키트는 또한 예를 들면 뚜껑을 갖는 박스에서 편리한 저장 및 안전한 운송을 위해 포장될 수 있다.

[0259] III. 결합 검정 및 다른 검정

[0260] 일 양태에서, 본 발명의 항체는 예를 들면 알려진 방법, 예컨대 효소 연결 면역수착 검정(ELISA), 면역블로팅(예를 들면, 웨스턴 블로팅), 유세포분석법(예를 들면, FACS™), 면역조직화학, 면역형광 등에 의해 이의 항원 결합 활성에 대해 시험된다.

[0261] 또 다른 양태에서, 경쟁 검정은 PD-1, PD-L1 또는 CTLA4에 대한 결합에 대해 본원에 기재된 항체 중 어느 하나와 경쟁하는 항체를 확인하도록 사용될 수 있다. 교차 경쟁 항체는 표준 PD-1, PD-L1 또는 CTLA4 결합 검정, 예컨대 Biacore 분석, ELISA 검정 또는 유세포분석법에서 교차 경쟁하는 이의 능력에 기초하여 용이하게 확인될 수 있다(예를 들면, WO 2013/173223호 참조). 소정의 실시형태에서, 이러한 경쟁 항체는 본원에 개시된 항체 중 어느 하나가 결합된 동일한 에피토프(예를 들면, 선형 또는 구성적 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 맵핑하기 위한 자세한 예시적인 방법은 Morris "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* Vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ, 1996)에 제공된다.

[0262] 예시적인 경쟁 검정에서, 부동화된 PD-1은 PD-1에 결합하는 제1 표지된 항체 및 PD-1에 대한 결합에 대해 제1 항체와 경쟁하는 이의 능력에 대해 시험되는 제2 비표지된 항체를 포함하는 용액에서 항온처리된다. 제2 항체는 하이브리도마 상청액에 존재할 수 있다. 대조군으로서, 부동화된 PD-1은 제2 비표지된 항체가 아니라 제1 표지된 항체를 포함하는 용액에서 항온처리된다. PD-1에 대한 제1 항체의 결합이 가능하게 하는 조건 하의 항온처리 후, 과량의 비결합된 항체는 제거되고, 부동화된 PD-1과 연관된 표지의 양이 측정된다. 부동화된 PD-1과 연관된 표지의 양이 대조군 샘플에 비해 시험 샘플에서 실질적으로 감소되면, 이는 2차 항체가 PD-1에 대한 결합에 대해 1차 항체와 경쟁한다는 것을 나타낸다. 예를 들면, Harlow *et al.* *Antibodies: A Laboratory Manual*. Ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1988)을 참조한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 항체가 경쟁 검정에서 PD-1에 대한 다른 항체의 결합을 20% 초과, 25% 초과, 30% 초과, 35% 초과, 40% 초과, 45% 초과, 50% 초과, 55% 초과, 60% 초과, 65% 초과, 70% 초과, 75% 초과, 80% 초과, 85% 초과, 90% 초과, 95% 초과만큼 차단하면 또 다른 PD-1 항체(예를 들면, 펩트올리주맵)와 PD-1에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 항체가 경쟁 검정에서 PD-1에 대한 다른 항체의 결합을 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 9% 미만, 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만만큼 차단하면 또 다른 PD-1 항체(예를 들면, 펩트올리주맵)와 PD-1에 대한 결합에 대해 경쟁하지 않는다. 일부 실시형태에서, PD-1은 인간 PD-1이다.

[0263] 유사한 경쟁 검정은 항-PD-L1 항체가 PD-L1에 대한 결합에 대해 본원에 기재된 항-PD-L1 항체와 경쟁하는지를

결정하도록 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 항체가 경쟁 검정에서 PD-L1에 대한 다른 항체의 결합을 20% 초과, 25% 초과, 30% 초과, 35% 초과, 40% 초과, 45% 초과, 50% 초과, 55% 초과, 60% 초과, 65% 초과, 70% 초과, 75% 초과, 80% 초과, 85% 초과, 90% 초과, 95% 초과만큼 차단하면 또 다른 PD-L1 항체와 PD-L1에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 항체가 경쟁 검정에서 PD-L1에 대한 다른 항체의 결합을 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 9% 미만, 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만만큼 차단하면 또 다른 PD-L1 항체와 PD-L1에 대한 결합에 대해 경쟁하지 않는다. 일부 실시형태에서, PD-L1은 인간 PD-L1이다.

[0264] 유사한 경쟁 검정은 항-CTLA4 항체가 CTLA4에 대한 결합에 대해 본원에 기재된 항-CTLA4 항체와 경쟁하는지를 결정하도록 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 항체가 경쟁 검정에서 CTLA4에 대한 다른 항체의 결합을 20% 초과, 25% 초과, 30% 초과, 35% 초과, 40% 초과, 45% 초과, 50% 초과, 55% 초과, 60% 초과, 65% 초과, 70% 초과, 75% 초과, 80% 초과, 85% 초과, 90% 초과, 95% 초과만큼 차단하면 또 다른 CTLA4 항체와 CTLA4에 대한 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시형태에서, 항-CTLA4 항체는 항체가 경쟁 검정에서 CTLA4에 대한 다른 항체의 결합을 20% 미만, 15% 미만, 10% 미만, 9% 미만, 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만, 3% 미만, 2% 미만, 1% 미만만큼 차단하면 또 다른 CTLA4 항체와 CTLA4에 대한 결합에 대해 경쟁하지 않는다. 일부 실시형태에서, CTLA4는 인간 CTLA4이다.

[0265] 본 발명은 하기 실시예를 참조하여 더 완전히 이해될 것이다. 그러나, 이것은 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에 기재된 실시예 및 실시형태가 오직 예시 목적을 위한 것이고, 이의 견지에서 다양한 변형 또는 변경이 당업자에게 제시되고 본 출원의 사상 및 범위 및 첨부된 청구항의 범위 내에 포함되어야 하는 것으로 이해된다.

[0266] 실시예

[0267] 실시예 1: 생체의 종양 미세환경에 대한 투카티닙의 효과

[0268] 이 연구는 트라스투주맙 민감성 및 트라스투주맙 내성 췌장 췌관암과 HER2-양성 종양 모델을 사용하여 생체의 종양 미세환경에 대한 투카티닙의 효과를 평가하기 위해 설계되었다. 트라스투주맙 민감성 모델은 암컷 MMTV-Balb/c 마우스에서 피하 주사에 의해 투여된 H2N113 종양을 이용하였다. 트라스투주맙 내성 모델은 FVB 마우스에서 유선 지방 패드 이식물로서 이식된 Fo5 종양을 이용하였다.

[0269] 트라스투주맙 내성 모델에 대해, 마우스를 비히클 대조군(메틸 셀룰로스 0.5%) 또는 투카티닙 50 mg/kg으로 1일 1회 경구로 치료하였다. 종양을 Fo5 종양에 대해 투카티닙 50 mg/kg 치료의 10일 내지 14일 후 수확하고 FACS에 의해 분석하였다. 도 1a 및 도 1b에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 각각 종양에서 PD-1 및 IFN γ 를 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤을 증가시켰다. 도 1c에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 또한 종양에서 FOXP3을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤을 증가시켰다. 마지막으로, 도 1d에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 종양에서 CD4+ T 세포 대 CD8+ T 세포 비를 보통으로 증가시켰다.

[0270] 트라스투주맙 민감성 모델에 대해, 마우스를 비히클 대조군(메틸 셀룰로스 0.5%) 또는 투카티닙 100 mg/kg으로 1일 1회 경구로 치료하였다. 종양을 H2N113 종양에 대해 투카티닙 100 mg/kg 치료의 14일 후 수확하고 FACS에 의해 분석하였다. 도 2a에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 종양에서 CD8+ T 세포의 침윤을 증가시켰다. 도 2b 및 도 2c에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 각각 종양에서 FOXP3을 발현하지 않고 FOXP3을 발현하는 CD4+ T 세포의 침윤을 증가시켰다. 도 2d 내지 도 2d에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 또한 각각 종양에서 Ki67, IFN γ , PD-1, OX40 및 TIM3을 발현하는 CD8+ T 세포의 침윤을 증가시켰다. 도 2i에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 또한 종양에서 자연 살해(NK) 세포의 침윤을 증가시켰다. 도 2j에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 종양에서 호중구의 침윤을 감소시켰다. 도 2k에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 종양에서 CD11b 수지상 세포의 백분율을 증가시켰다. 도 2l에 도시된 것과 같이, 투카티닙은 종양에서 MHC-II 고의 백분율을 증가시키고 MHC-II 저의 백분율을 감소시켰다. 이 결과는 투카티닙의 투여 후 항종양 면역력의 증가를 제시한다.

[0271] 실시예 2: 생체의 종양 샘플의 RNA 발현 프로파일에 대한 투카티닙의 효과

[0272] 트라스투주맙 내성 Fo5를 이식하고, 마우스를 비히클 대조군 또는 투카티닙으로 치료하고, 실시예 1에 기재된 것처럼 수확하였다. 이후, 수확된 종양을 가닥 polyA RNA 시퀀싱을 위해 가공하였다. 도 3a 및 도 3b에 도시된 것과 같이, Fo5 종양은 IFN γ 관련된 유전자 발현 서명(도 3a) 및 확장된 면역 서명(도 3b)에 따라 면역요법에 대한 반응을 예측하는 유전자의 증가된 발현을 보여주었다. 행은 개별 종양 샘플을 나타내고, 열은 개별 유전자이다.

[0273] **실시예 3: 생체내 종양 성장 및 생존율에 대한 투카티닙의 효과**

[0274] 트라스투주맵 내성 Fo5 종양을 FVB 마우스에서 유선 지방 패드 이식물로서 이식하였다. 마우스를 비히클 대조군 (메틸 셀룰로스 0.5%), 투카티닙(1일 1회 경구로 25 mg/kg, 50 mg/kg 또는 100 mg/kg) 또는 항-PD-1 항체, 항-CTLA4 또는 아이소타입 2A3의 조합으로 치료하였다. 투카티닙은 용량 의존적 방식으로 종양 성장을 유의미하게 억제하고, 25 mg/kg, 50 mg/kg 및 100 mg/kg에서 관찰되었다($p < 0.05$). H2N113 트라스투주맵 민감성 종양 모델에 의해 유사한 결과가 얻어졌다. 더욱이, PD-1 억제와 조합된 50 mg/kg 투카티닙은 투카티닙 단독과 비교하여 유의미하게 더 높은 항종양 효능(도 4a, $p = 0.0079$) 및 증가된 생존율(도 4b, $p = 0.05$)을 나타냈다.

[0275] **실시예 4: 투카티닙은 면역 활성화를 촉진하고, HER2+ 양성 유방암에서 PD-1/PD-L1 억제와 상승작용한다.**

[0276] 세포주 및 마우스 환자 유래 이종이식 모델. 쥐와 세포주인 H2N113을 10% FBS를 갖는 RPMI 배지에서 성장시켰다. BALB/C MMTV ErbB2/Neu 배경의 형질전환 암컷 마우스로부터 이 HER2-양성 쥐와 세포주를 생성시켰다. Fo5(MMTV-인간 HER2) 종양을 얻었다. 시험관내 실험에 HER2를 과발현하는 2개의 인간 세포주를 사용하였다: BT474(ATCC 카탈로그 번호: HTB-20) 및 SKBR3(ATCC 카탈로그 번호: HTB-30). BT474 세포는 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체 양성이고, HER2 증폭되고, 10% FBS를 갖는 RPMI 배지에서 유지되었다. SKBR3 세포는 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체 음성이고, HER2 증폭되고, 10% FBS를 갖는 DMEM 배지에서 유지되었다.

[0277] 약물. 시험관내 실험을 위해, 투카티닙을 DMSO에 10 mM의 농도로 가용하였다. 생체내 연구를 위해, 투카티닙을 필요한 농도로 0.5% 메틸셀룰로스에 용해시키고, 2개월 이하 동안 4°C에서 저장하였다. 투카티닙을 명시된 것처럼 25, 50 또는 100 mg/kg의 용량으로 경구 위관영양에 의해 1일 1회 생체내 투여하였다. 트라스투주맵을 4°C에서 저장하고, 멸균 PBS에 희석하고, 매주 30 mg/kg, 이어서 15 mg/kg의 로딩 용량으로 복강내 주사를 통해 투여하였다. 항-PD-1, 항-PD-L1 및 아이소타입 대조군(2A3, LTF2)에 대한 마우스 특이적 항체를 BioXcell로부터 구입하고, 2주 동안 복강내 주사를 통해 1주 2회 마우스마당 200 μ g으로 투여하였다. 모든 항체를 생체내 연구를 위해 멸균 PBS에 희석하였다.

[0278] 성장 억제 결정. 각각의 세포주에 대한 투카티닙에 대한 GI_{50} 값을 얻기 위해, 세포의 생존능력은 넓은 범위의 용량에 걸쳐 평가되었다. 세포를 96웰 백색 벽의 플레이트에 플레이팅하고, 대수적으로 상승하는 용량의 투카티닙으로 치료하였다. 세포를 37°C에서 72시간 동안 항온처리하고, 세포 생존능력을 1:3 희석으로 CellTiter-Glo® Assay(Promega)의 정량화 및 Cytation™(BioTek)을 사용한 발광 관독에 기초하여 결정하였다. macOS에 대한 GraphPad Prism 버전 8.1.0을 사용하여 용량-반응 곡선을 계산하였다. 모든 실험을 적어도 3회 수행하고, 평균 값은 GI_{50} 계산에 사용되었다.

[0279] CFSE 증식 결정. 인간 PBMC를 분리하고, RPMI 및 10% FBS에서 밤새 휴지시켰다. 이후, 세포를 제조사의 프로토콜(Thermo Fisher)에 따라 CFSE로 염색하고, 1×10^5 개의 세포를 증분 용량(0 내지 4 μ M)에서 투카티닙과 함께 또는 이것 없이 항-CD3(OKT3; 1:1000)/항-CD28 비드(Thermo Fisher)를 함유하는 96웰 플레이트에 시딩하였다. 96시간 후, 세포를 항-CD3(UCTH1; 500 ng/mL), 항-CD4(클론 OKT4, Biolegend; 500 ng/mL) 및 항-CD8a(클론 HIT8a, Biolegend; 500 ng/mL)으로 염색하였다. CD4 및 CD8 T 세포에 대한 집단 배가는 대조군으로서 염색된, 비자극된 세포를 사용하여 CFSE+ 피크를 적분함으로써 결정되었다. FlowJo™ 소프트웨어를 사용하여 분석을 수행하였다.

[0280] 웨스턴 블롯 분석. 웨스턴 블롯 분석을 위해, CD8+ 및 CD4+ T 세포를 인간 PBMC로부터 분리하였다. 조건마다 5×10^6 개의 T 세포를 항-CD3(1 μ g/mL) 예비코팅된 6웰 플레이트에 첨가하고, 항-CD28(0.5 μ g/mL), 10 nM에서의 항-CD28 및 투카티닙 또는 1.6 μ M에서의 항-CD28 및 투카티닙으로 치료하였다. 방사면역침전 결정(RIPA) 완충액을 사용하여 치료의 15분 또는 1시간 후 펠렛을 용해시켰다. 면역블로팅에 사용된 1차 항체를 Cell Signaling Technologies(미국 매사추세츠주 덴버) 또는 Invitrogen(Thermo Fisher Scientific, 미국 매사추세츠주 왓엄): p-ERK1/2(Thr202/Tyr204; #9101, 1:1000, 42/44 kDa), p-AKT(Ser473; D9E #4060, 1:1000, 65 kDa), p-PI3K(Tyr458/Tyr199; #4228, 1:1000, 85/55 kDa), p-ZAP70, p-ITK(Tyr512, #PA5-64523, 1:1000, 72 kDa), p-Src(Tyr416, #2101, 1:1000, 60 kDa), p-Lck(Tyr505, #2752, 1:1000, 56 kDa) 및 GAPDH 로딩 대조군(ab-9484, 1:10,000, 40 kDa; Abcam, 영국 캠브리지)으로부터 구입하였다. HER2-양성 인간 세포주 BT474 및 SKBR3 및 쥐와 세포주 H2N113을 1시간, 3시간, 6시간, 24시간 및 72시간 동안 투카티닙(각각 7 nM, 35 nM 또는 50 nM)으로 치료하였다. 사용된 2차 항체는 화학발광 신호 검출을 위한 α -토끼 HRP IgG(Santa Cruz; sc-2005, 1:3000)였다.

- [0281] 마우스 샘플의 게놈 분석. TRIzol® Reagent를 PureLink® RNA Mini Kit(Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, 미국 매사추세츠주 왈탐)와 사용하여 10일 동안 50 mg/kg에서의 투카티닙 또는 비히클(메틸 셀룰로스, 0.5%)로 생체내 치료된 Fo5 종양으로부터 RNA를 추출하였다. TapeStation 2200(Agilent Technologies) 및 표준 프로토콜(NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina and NEBNext Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module, NEB)에 따라 라이브러리 제조에 사용된 500 ng을 사용하여 총 RNA의 분량 및 무결성을 확인하였다. 인덱싱된 라이브러리를 풀링하고, NextSeq500 유세포(Illumina)에서 시퀀싱하여 샘플마다 2500만개 내지 5000만개의 쌍 말단 75 bp 리드를 생성하였다. 마이크로어레이 데이터의 예비가공 및 백분위 정규화는 AFFY package in R에서 수행되었다. 정규화된 RNA 강도로부터, 비바이어싱된 차등적 발현 분석 및 유전자의 짧은 목록(FDR<0.05)은 LIMMA package in R로 생성되었다. 차등적으로 발현된 유전자를 사용하여, 경로 및 분자 기능 농후화 분석은 MetCore GeneCo에서 수행되었다. 유전자 세트 농후화 분석에 대한 GSEA 소프트웨어는 정규화된 RNA 강도로 사용되었다. 거짓 발견율은 10% 미만으로 설정되었다. 상위 유전자 경로는 0.05 미만의 P-값 및 1.5 초과의 배수 변화에 기초하여 선택되었다. R 버전 3.5.0을 사용하여 모든 분석을 수행하였다. 차등적 발현 열 지도에 대한 유전자 세트는 인터페론- γ 10-유전자, 예비 확장된 면역 28-유전자, T 세포 염증 발생 18-유전자 및 T-효과기 6-유전자 서명 세트를 포함하였고, 이들 모두는 유방암을 포함하는 일련의 종양 유형 중에서 PD-1 또는 PD-L1 봉쇄와 연관되었다.
- [0282] 생체내 마우스 연구. 실험에 6주령 내지 8주령의 암컷 MMTV/Balb/c 및 FVB 마우스를 사용하였다. 치료 그룹은 그룹당 n=5마리 내지 8마리의 마우스로 이루어졌다. H2N113 HER2-양성, 트라스투주맙 민감성 종양 모델을 사용한 생체내 실험을 위해, 5×10^5 개의 세포를 포스포에이트 완충 식염수에 현탁시키고, 암컷 MMTV-Balb/c 마우스의 오른쪽 옆구리로 100 μ L 부피로 피하 단일 세포 현탁액으로서 주사하였다. Fo5 HER2-양성 트라스투주맙 내성 종양 모델을 사용한 생체내 실험을 위해, 대략 1 mm³의 종양 단편을 암컷 FVB 마우스의 제4 유선 지방 패드로 수술로 이식하였다. 무작위화 및 치료는 40 내지 80 mm³으로 변하는 종양 크기를 갖는 H2N113 종양 모델에 대해 접종 후 대략 제10일에 시작하고, 60 내지 120 mm³으로 변하는 종양 크기를 갖는 Fo5 종양 모델에 대해 대략 제14일에 시작하였다. 종양 부피를 식 (길이 x 폭²)/2를 사용하여 계산하였고, 여기서 길이 및 폭은 각각의 측정에서 수집된 더 긴 치수 및 더 작은 치수를 지칭한다. 종양의 확립 및 치료 그룹으로의 무작위화 후, 마우스를 (1) 비히클 대조군(메틸 셀룰로스 0.5%), (2) 투카티닙(경구로 25, 50 또는 100 mg/kg, 1일 1회), (3) 트라스투주맙 단독(30 mg/kg 로딩 용량, 이후 매주 15 mg/kg, 복강내 주사), (4) 항-PD-1 단독(200 μ g, 복강내 주사), (5) 아이소타입 2A3 단독(200 μ g, 복강내 주사), (6) 항-PD-L1 단독(200 μ g, 복강내 주사), (7) 아이소타입 LTF2 단독(200 μ g, 복강내 주사) 또는 (8) 투카티닙과 트라스투주맙, 항-PD-1, 아이소타입 2A3, 항-PD-1 또는 아이소타입 LTF2 중 어느 하나의 이중 조합으로 치료하였다. 모델 둘 다에서의 면역요법 및 아이소타입 대조군은 제0일, 제4일, 제8일 및 제12일에 전달하였다. 종양 부피를 1주 2회 캘리퍼로 측정하였다. 생존율을 모니터링하고, 종양이 1500 mm³의 윤리적 한계에 도달할 때 결정하였다.
- [0283] 유세포분석법 분석 생체의 연구를 위해, 종양을 절제하고 기계적으로 조각화하고 70 μ m 필터를 통해 통과시켰다. 이후, 세포를 30 μ g/mL DNase(Sigma-Aldrich), 이어서 Fc 블록(클론 2.4g2)에 재현탁시켰다. 이후, 단일 세포 현탁액을 다양한 TIL 하위집단에 대해 항체 각테일로 염색하였다. 일부 실험에서, 단리된 세포를 유세포분석법 분석 전에 3시간 내지 4시간 동안 GolgiPlug(BD Biosciences; 1:1000) 및 GolgiStop(BD Biosciences; 1:1500)의 존재 하에 포르볼 12-미리스테이트 13-아세테이트(PMA; 50 ng/mL) 및 이오노마이신(1 μ g/mL; Sigma-Aldrich)으로 염색하였다. 생존가능 세포 및 죽은 세포를 구별하기 위해 Fixable Yellow 또는 Zombie Red 중 어느 하나로 FACS에 의해 샘플을 분석하였다. 샘플 작동 전에 BD 형광단 계수 비드를 각테일에 첨가하였다.
- [0284] 통계 분석. 모든 통계 분석을 Prism(버전 9, GraphPad Software, Inc)을 사용하여 수행하였다. 데이터는 +/- SEM으로 제시된다.
- [0285] 결과. 도 5a 내지 5c에 도시된 것과 같이, 시험관내 HER2-양성 인간(BT474, 도 5a 및 SKBR3, 도 5b) 및 쥐과(H2N113, 도 5c) 트라스투주맙 민감성 유방 종양 세포주에서, 투카티닙은 72시간에 나노몰 범위의 GI₅₀으로 용량 의존적 세포 성장 억제를 나타냈다(도 5a 내지 5c에 도시된 데이터는 +/- SEM임).
- [0286] 도 6은 투카티닙 효과를 평가하기 위한 H2N113 트라스투주맙 민감성 HER2-양성 쥐과 종양 모델을 보여준다. 도 7은 투카티닙 효과를 평가하기 위한 Fo5 트라스투주맙 내성 HER2-양성 쥐과 종양 모델을 보여준다. 증가하는 용

량에서의 투카티닙 치료는 모델 시스템 둘 다에서 비히클과 비교하여 유의미한 용량 의존적 종양 성장 억제 및 개선된 생존율을 생성시켰다. H2N113 마우스 모델에 대한 결과는 도 8a 내지 도 8b에 도시되어 있다. Fo5 마우스 모델에 대한 결과는 도 9a 내지 도 9b에 도시되어 있다. 모델 둘 다에서, 투카티닙 치료는 종양 부피 및 생존율의 용량 의존적 개선을 생성시켰다. 도 10a 내지 도 10b에 도시된 것과 같이, 트라스투주맙 내성은 Fo5 모델에서 검증되었고, 이 시스템이 트라스투주맙 내성 설정에서 투카티닙의 사용을 위한 임상적으로 관련된 종양 모델을 나타낸다는 것을 확인시켜 준다. 투카티닙에 의한 HER2 신호전달 경로의 억제는 투카티닙으로 치료된 H2N113 세포 및 Fo5 종양에서의 포스포르-HER2 및 총 HER2에 대한 웨스턴 블롯 분석을 사용하여 확인되었다(도 11a 내지 도 11b; T = 투카티닙, V = 비히클).

[0287] 트라스투주맙 민감성 및 트라스투주맙 내성 종양 모델 둘 다의 광범위한 생체의 FACS 분석을 수행하였다. 투카티닙 치료의 14일 후 H2N113 종양은 총 CD8+의 백분율로서 증가된 CD8+ 비율 및 CD8+ 효과기 기억(CD44+CD62L-) T 세포 빈도의 빈도를 나타냈다. CD8+ 효과기 기억 T 세포는 유의미하게 더 높은 PD-1+ 및 TIM3+ 발현을 보여주었다. 도 12a 내지 도 12e는 H2N113 세포에 대한 비히클 대조군(V) 또는 투카티닙(T)에 의한 치료 후 다양한 세포 집단에 대한 효과를 보여준다. 이 세포는 또한 Ki67의 증가된 발현을 나타냈고(도 13a), 이는 비히클 치료된 대조군과 비교하여 유의미하게 더 높은 인터페론- γ 발현에 의해 입증된 증가된 세포 증식뿐만 아니라 증가된 효과기 기능을 나타낸다(도 13b). 게다가, 투카티닙 치료는 또한 CD45+CD3- 림프구의 유의미하게 증가된 CD49b+ 자연 살해 세포 집단 비율을 생성시켰다(도 14). 더욱이, 투카티닙 치료된 H2N113 종양은 CD45.2+ 림프구의 비율로서 중성구(CD11c-F4/80-CD11b+Ly6G+Ly6C+) 억제성 MHC II 저 대식세포 및 과립구성 MDSC의 유의미한 감소, 및 MHC II+ 대식세포, CD103+ 수지상 세포의 유의미한 증가를 입증하였다. 총 TIL에서의 PD-L1의 발현의 평가는 비히클(V) 치료된 TIL과 비교하여 투카티닙(T) 치료된 TIL에서의 CD45+ 세포에서의 PD-L1 발현의 증가된 강도를 보여주었다(도 15a 내지 도 15b).

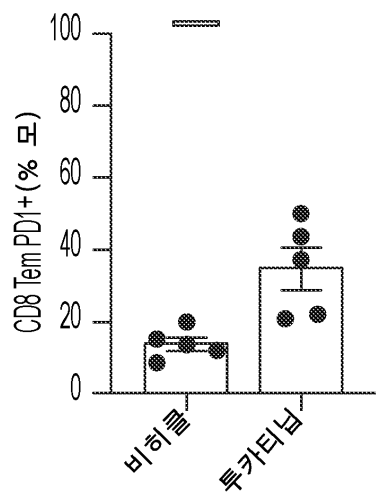
[0288] 이전의 문단의 H2N113 결과와 유사하게, 투카티닙의 10일 후 치료된 트라스투주맙 내성 Fo5 쥐와 종양에서, 생체의 FACS 분석은 CD4+ 및 CD8+ 효과기 기억 T 세포 하위집단 둘 다에서의 증가된 인터페론- γ 발현을 보여주었다(도 16a 내지 도 16b). CD8+ 효과기 기억 T 세포는 또한 증가된 글랜자임 B 및 PD-1+ 발현을 입증하였다(도 16c 내지 도 16d). 요약하면, 투카티닙은 트라스투주맙 민감성(H2N113) 및 트라스투주맙 내성(Fo5) HER2+ 쥐와 종양 모델 둘 다에서 CD8+ 및 CD4+ 효과기 세포의 빈도 및 수뿐만 아니라 효과기 기능 및 PD-1+ 면역 관문 발현 둘 다를 증가시켰다.

[0289] 생체내 종양 미세환경에 대한 투카티닙의 효과를 추가로 이해하기 위해, 투카티닙으로 치료된 Fo5 트라스투주맙 내성 종양에 대한 비바이어싱된 유전자 발현 분석이 수행되었다. 종양 분석에 대한 시점은 FACS에 의해 결정된 것과 같이 치료 후 제10일이었고, 이때에 효과기 기억 T 세포 기능이 비히클과 투카티닙 치료 그룹 사이에 상당히 상이한 것으로 관찰되었다. 면역 세포 기능(도 17 및 도 18a 내지 도 18b) 및 항원 제시(도 19 및 도 20a 내지 도 20b)와 관련된 유전자의 유의미한 상향조절이 비히클 대조군과 비교하여 투카티닙 치료된 종양에서 관찰되었다(NES = 정규화된 농후화 점수). 더욱이, 차등적 유전자 발현은 투카티닙 치료된 종양에서 관문 억제제(도 21a 내지 도 21d)에 대한 양호한 임상 반응과 연관된 유전자에서의 상향조절을 보여주었다. 이 유전자 세트는 임상 실험으로부터 검증되었고, 아테졸리주맙(도 21a) 및 펄브롤리주맙(도 21b 및 도 21c)에 대한 반응과 연관된다. 이 유전자 세트 내에, 높은 차등적 발현을 나타내는 특이적 유전자는 면역 관련된 유전자, 예컨대 *CD8A*, *CD3D*, *CD3E*; 사이토카인 생성과 관련된 유전자: *IFNG*, *GZMB*, *GZMA*, *CXCL9*, *CXCL10*, *CXCL13*, *CXCR6*, *STAT1*, *TBX21*, *IDO1*; 면역 관문과 관련된 것: *CD274*, *PDCD1LG2*, *TIGIT*; 및 T 세포 및 NK 세포독성과 관련된 유전자: *PRF1*, *NKG7*을 포함한다(도 21a 내지 도 21d). 이 데이터는 투카티닙이 트라스투주맙 내성 모델에서 향상된 항원 제시 및 사이토카인 생성 덕분에 TME의 면역원성을 증가시킬 수 있다는 것을 제시한다.

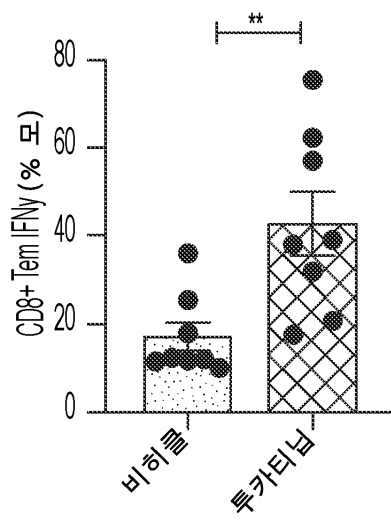
[0290] IFN- γ 발현이 PD-1/PD-L1의 발현을 증가시키므로, 생체내 면역 관문 억제와 조합된 투카티닙이 평가되었다. 트라스투주맙 민감성 H2N113 종양을 보유하는 마우스에서 투카티닙과 조합된 PD-L1 억제제가 조합 치료 그룹에서 투카티닙 단독과 비교된 유의미하게 향상된 종양 성장 억제 및 유의미하게 개선된 생존율을 나타내는 것으로 발견되었다(도 22a 내지 도 22b). 유사하게, 트라스투주맙 내성 Fo5 종양을 갖는 마우스에서, 항-PD-1 억제제와 조합된 투카티닙은 또한 투카티닙 치료 단독보다 유의미하게 향상된 항-종양 효과 및 유의미하게 더 양호한 생존율을 갖는 것으로 발견되었다(도 23a 내지 도 23b). Fo5 모델에서의 투카티닙 및 트라스투주맙의 조합이 또한 조사되었고, 투카티닙이 트라스투주맙에 대한 종양의 초기 내성을 극복하고 강력한 항-종양 효능 및 유의미하게 개선된 생존율을 생성시킨다는 것을 입증하였다(도 24a 내지 도 24b). 이 데이터는 PD-1 또는 PD-L1 관문 억제제 및 투카티닙의 조합이 HER2-양성 유방암을 갖는 환자에 대한 개선된 결과를 생성시킬 수 있다는 것을 제시한다. 임상적으로, 이것은 특히 트라스투주맙 내성 HER2-양성 질환을 갖는 것에 대해 관련된다.

도면

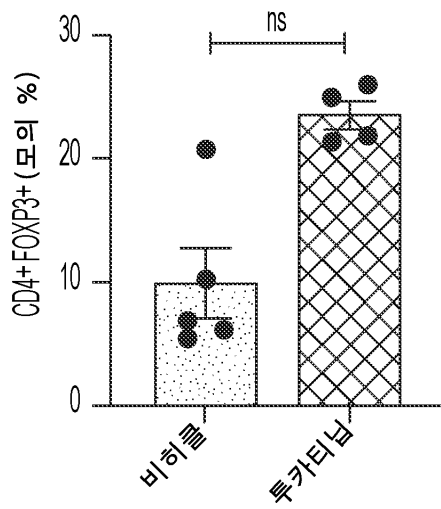
도면1a



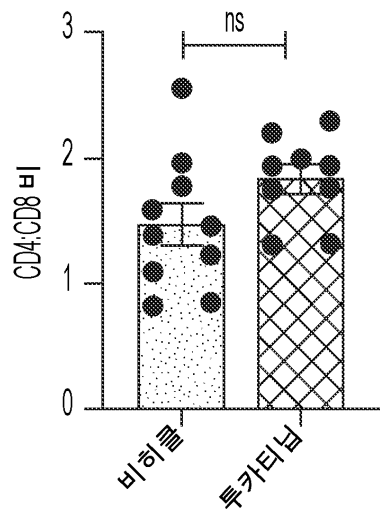
도면1b



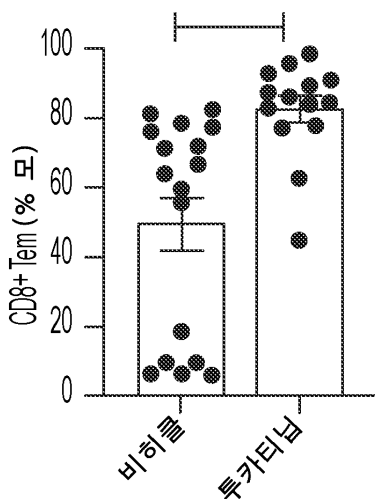
도면1c



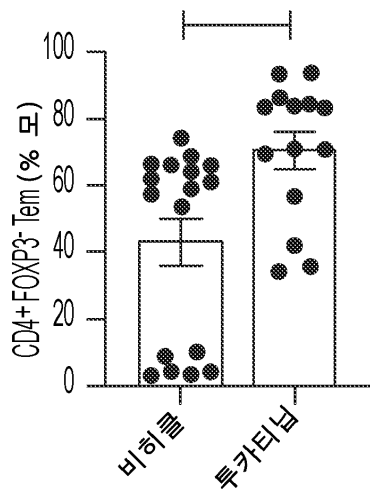
도면1d



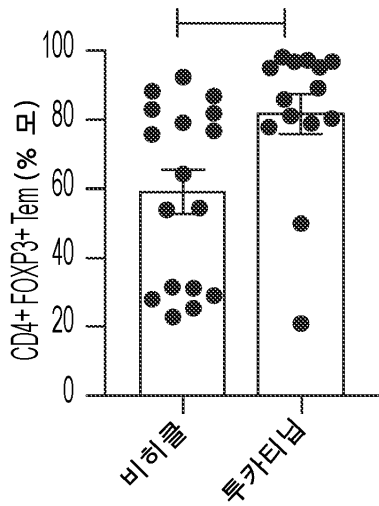
도면2a



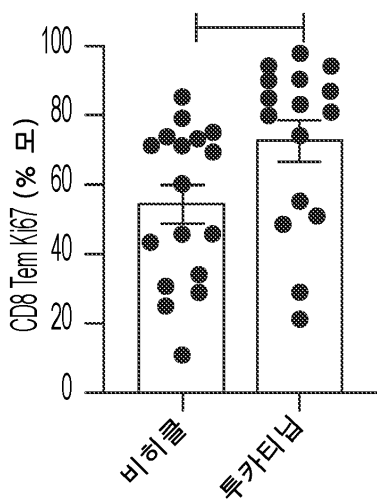
도면2b



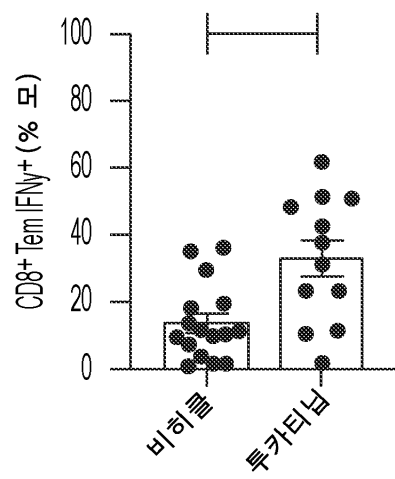
도면2c



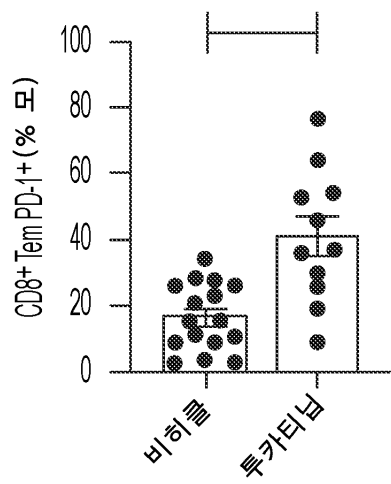
도면2d



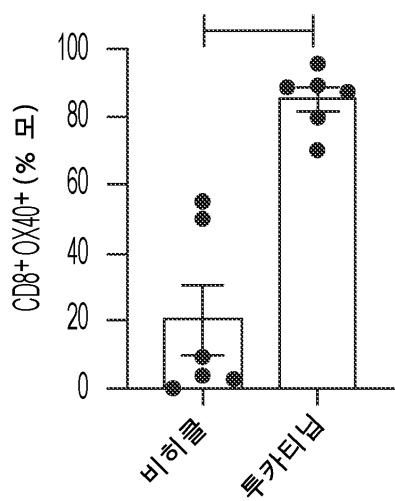
도면2e



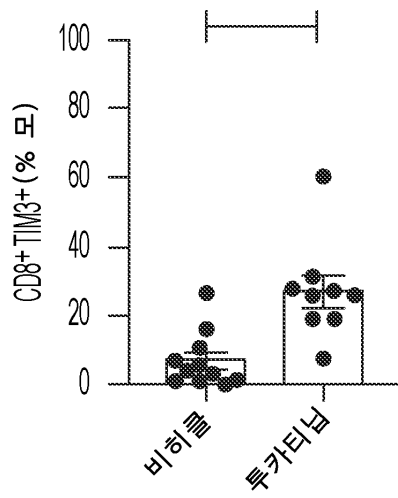
도면2f



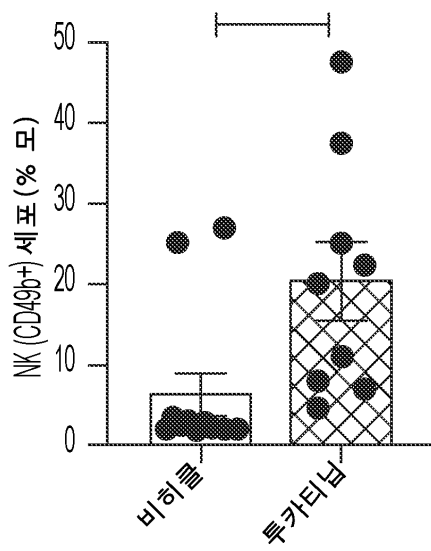
도면2g



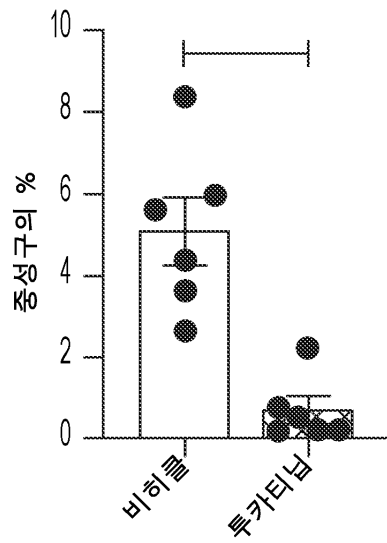
도면2h



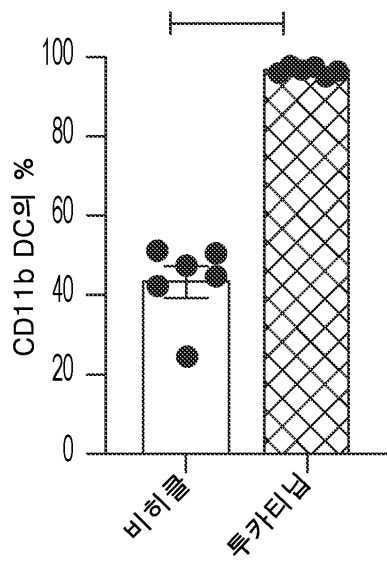
도면2i



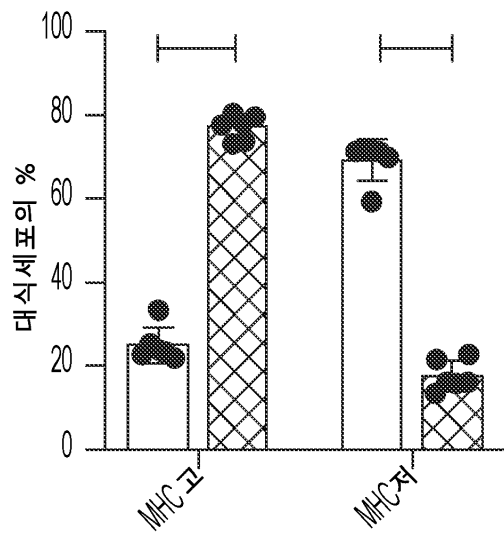
도면2j



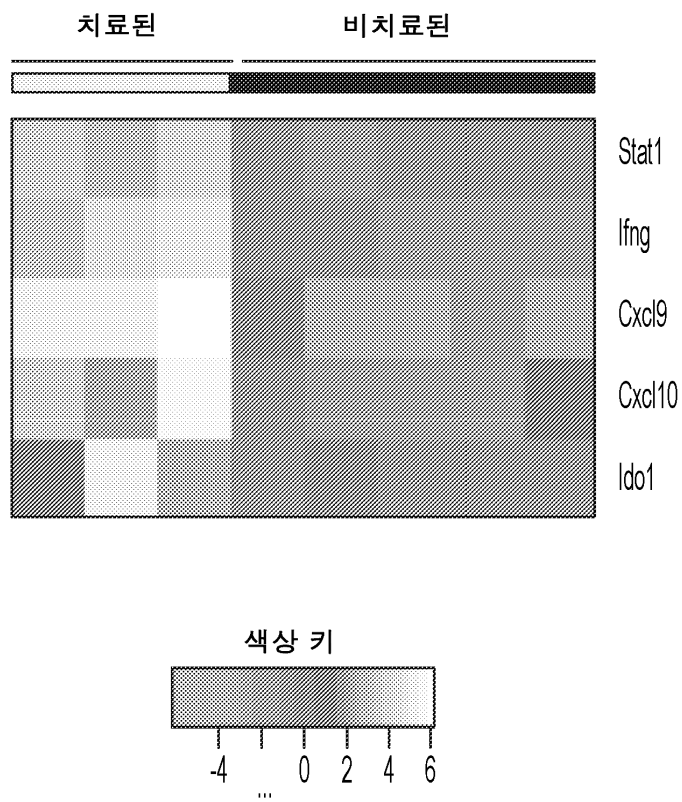
도면2k



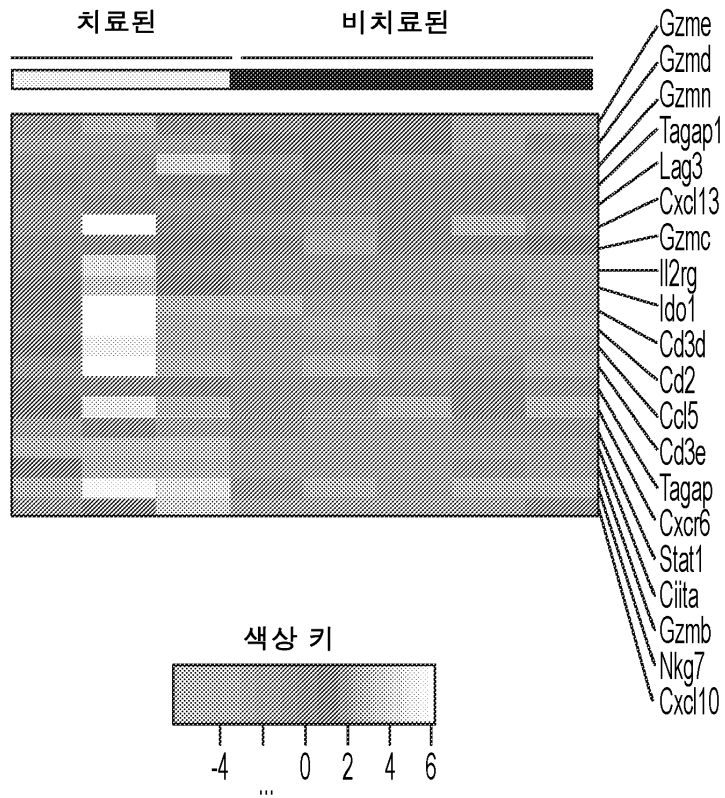
도면21



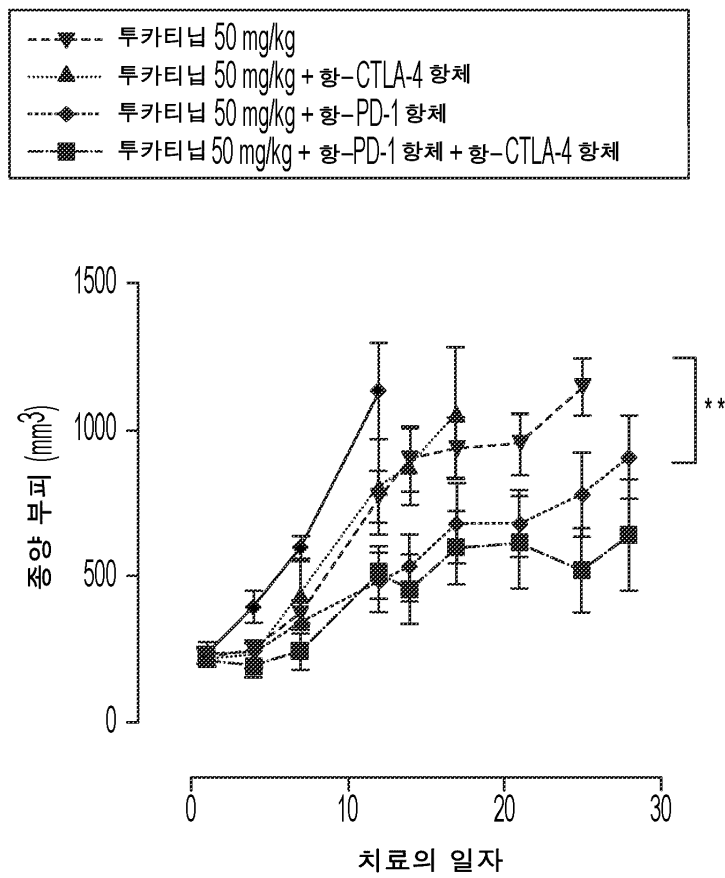
도면3a



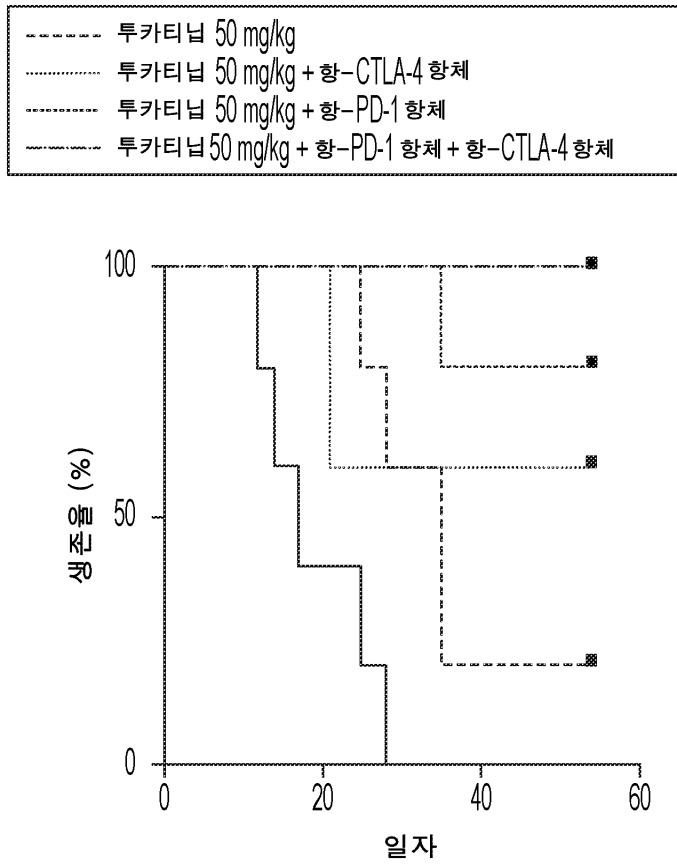
도면3b



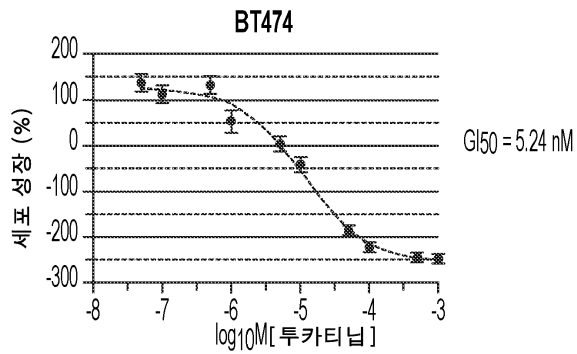
도면4a



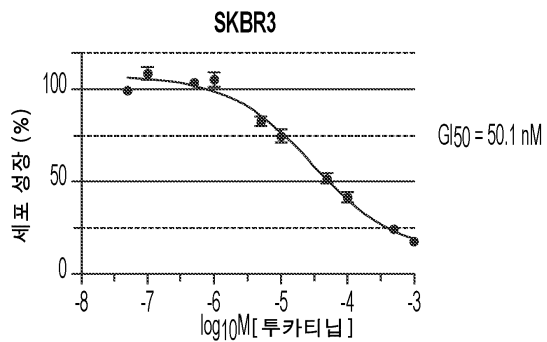
도면4b



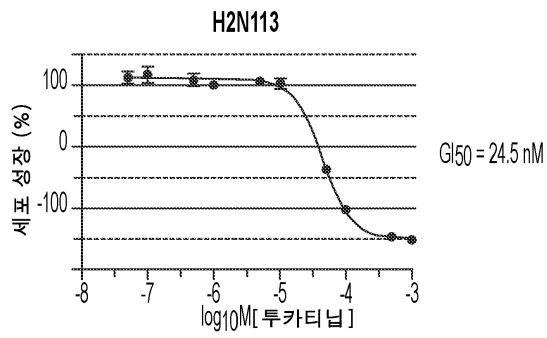
도면5a



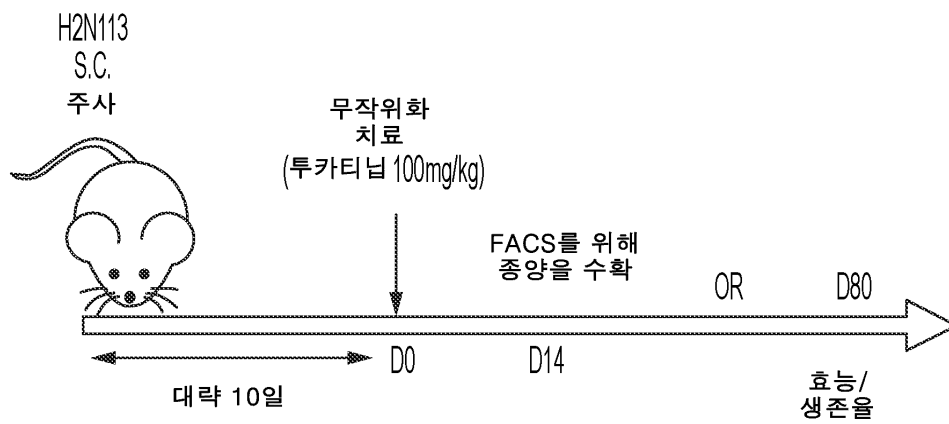
도면5b



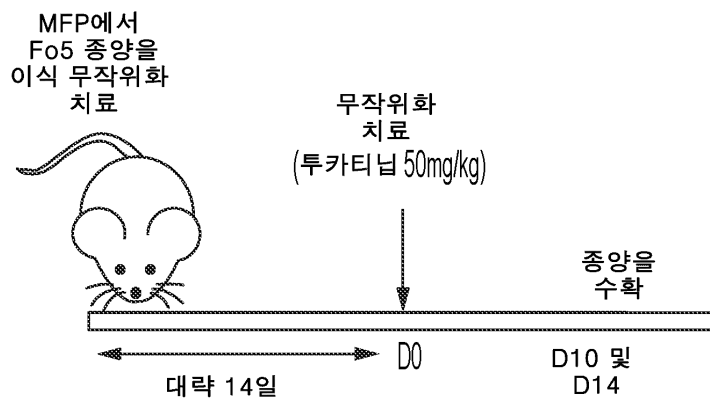
도면5c



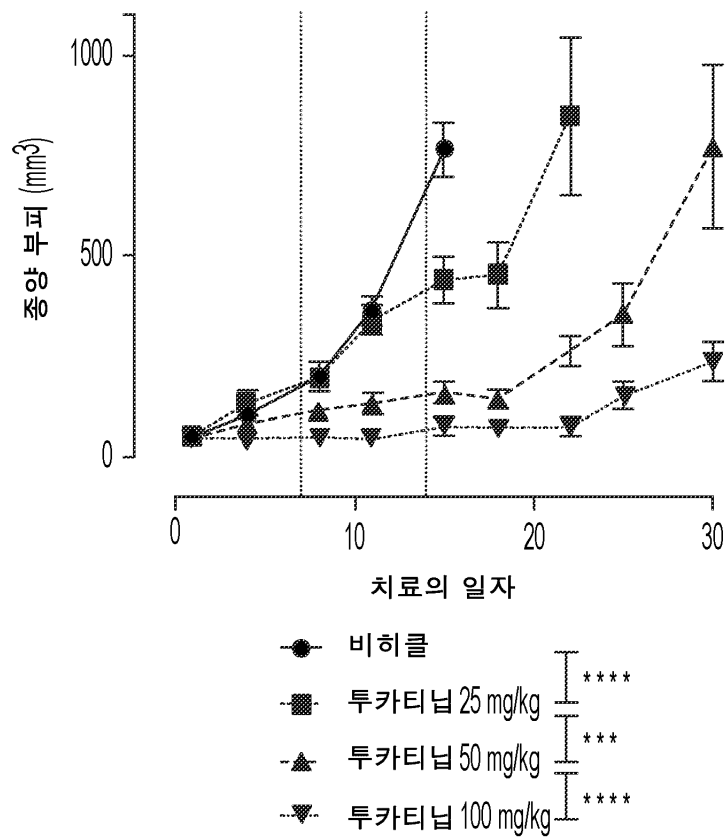
도면6



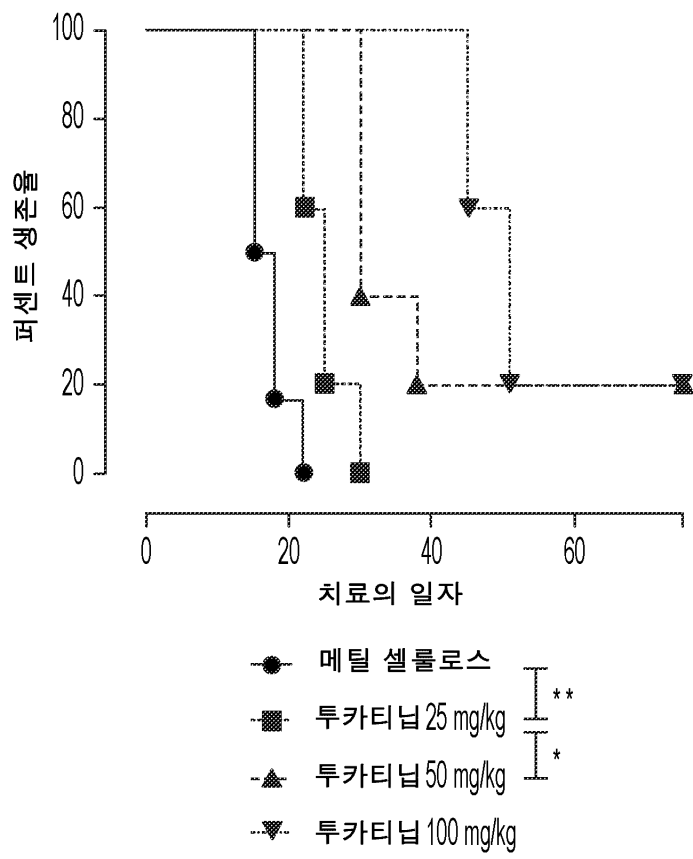
도면7



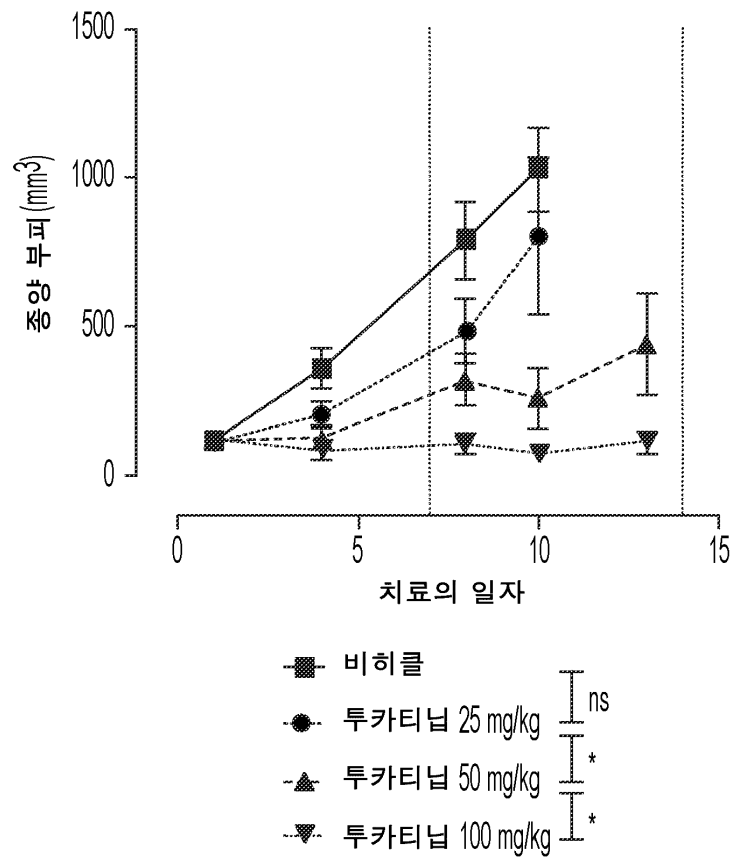
도면 8a



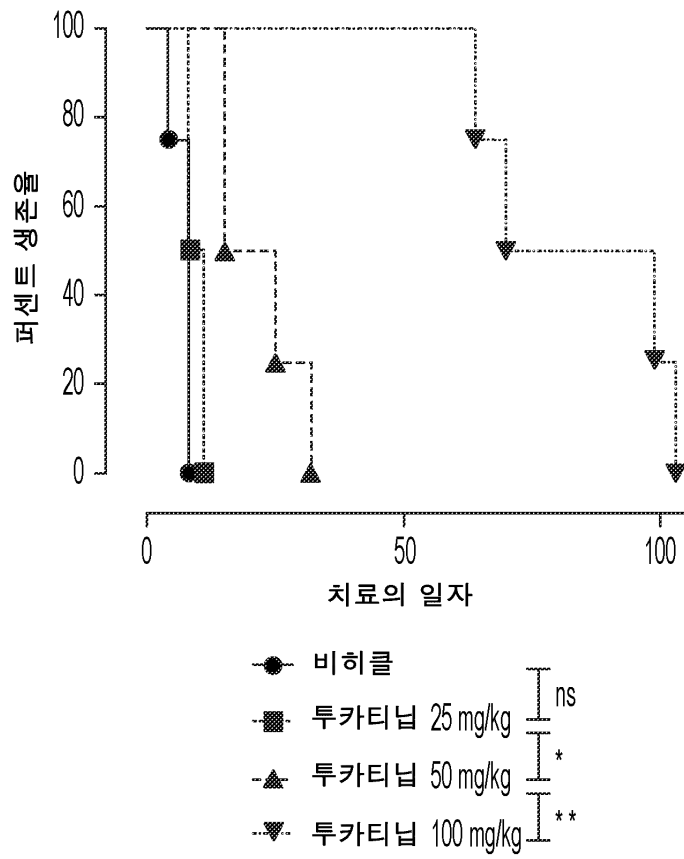
도면8b



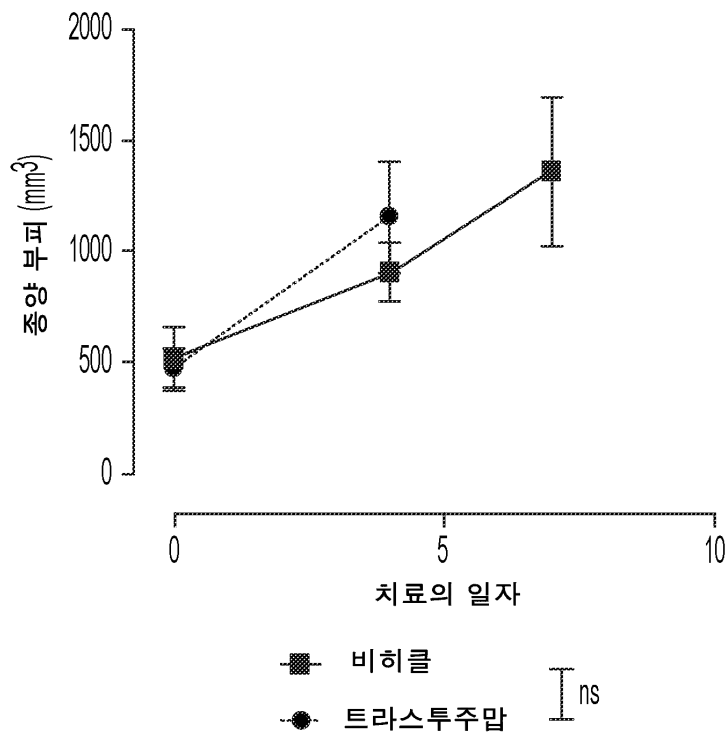
도면9a



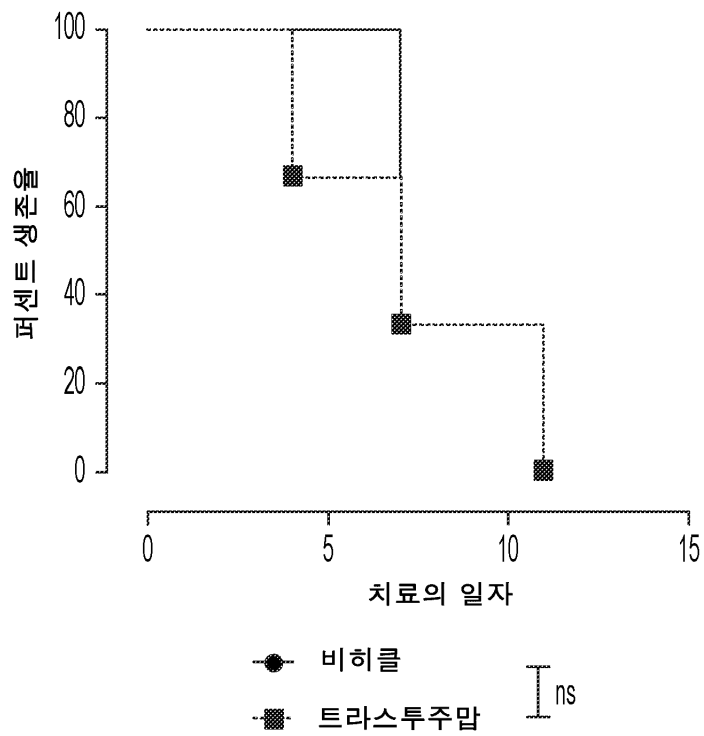
도면9b



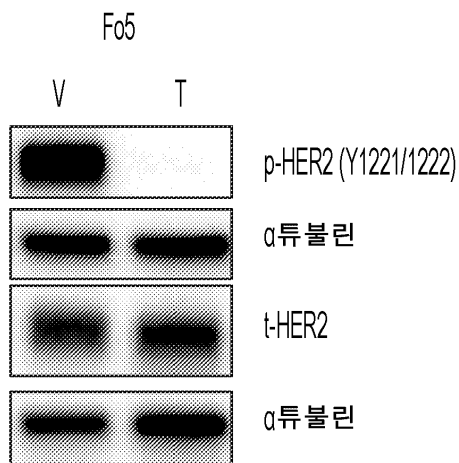
도면10a



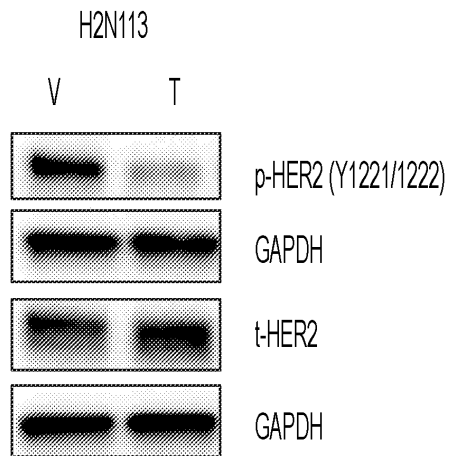
도면 10b



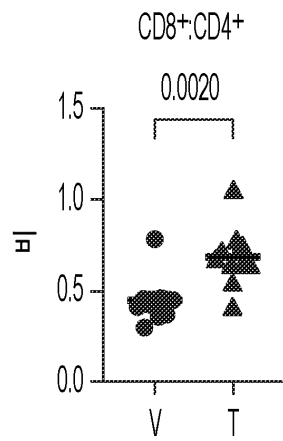
도면11a



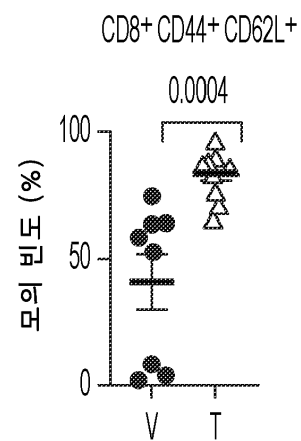
도면11b



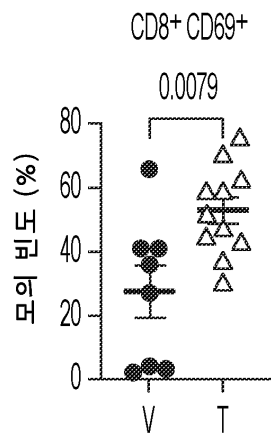
도면12a



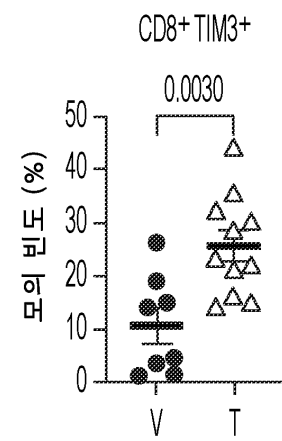
도면12b



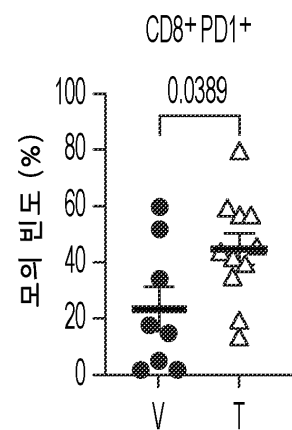
도면12c



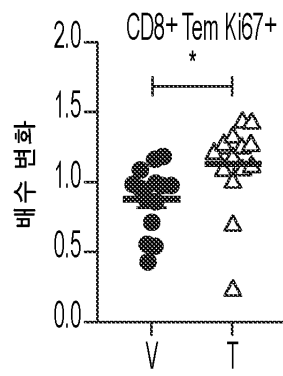
도면12d



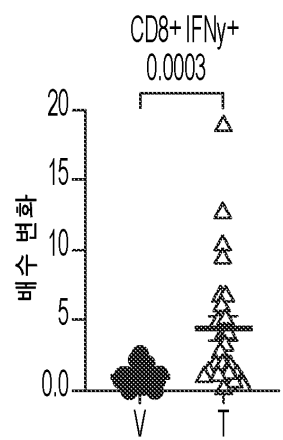
도면12e



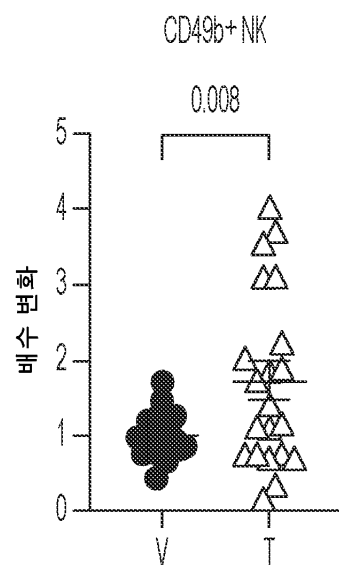
도면13a



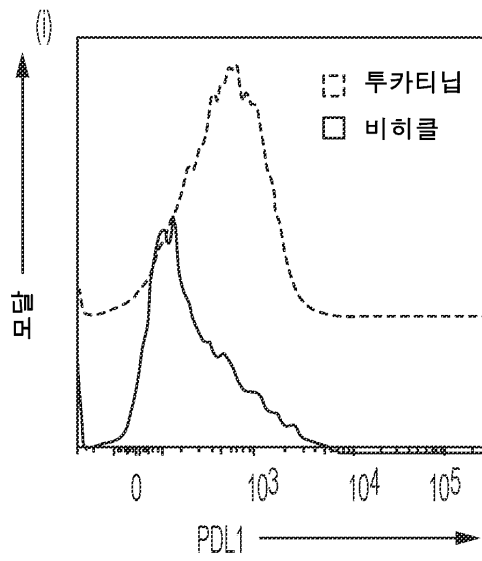
도면13b



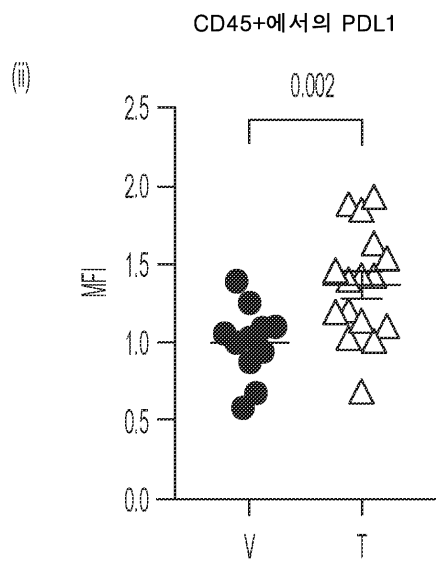
도면14



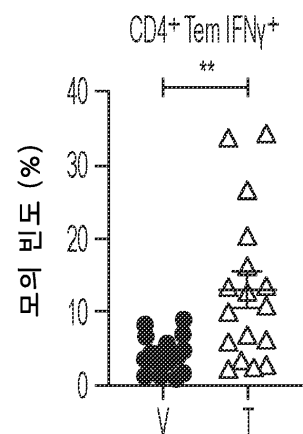
도면15a



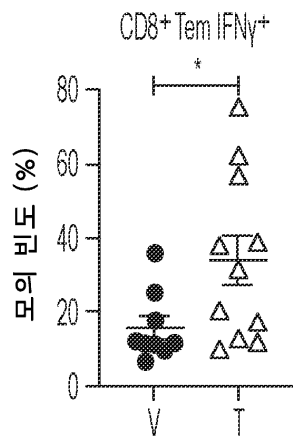
도면15b



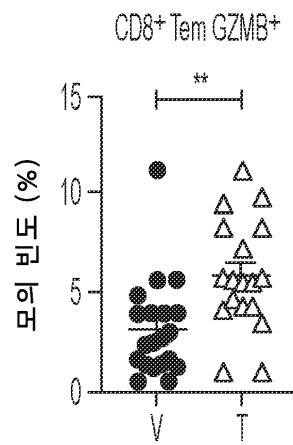
도면16a



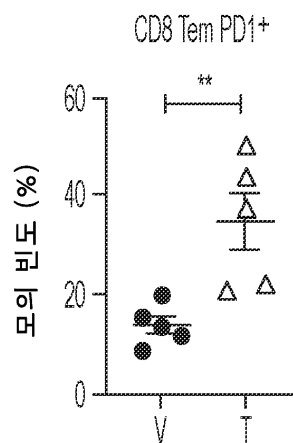
도면16b



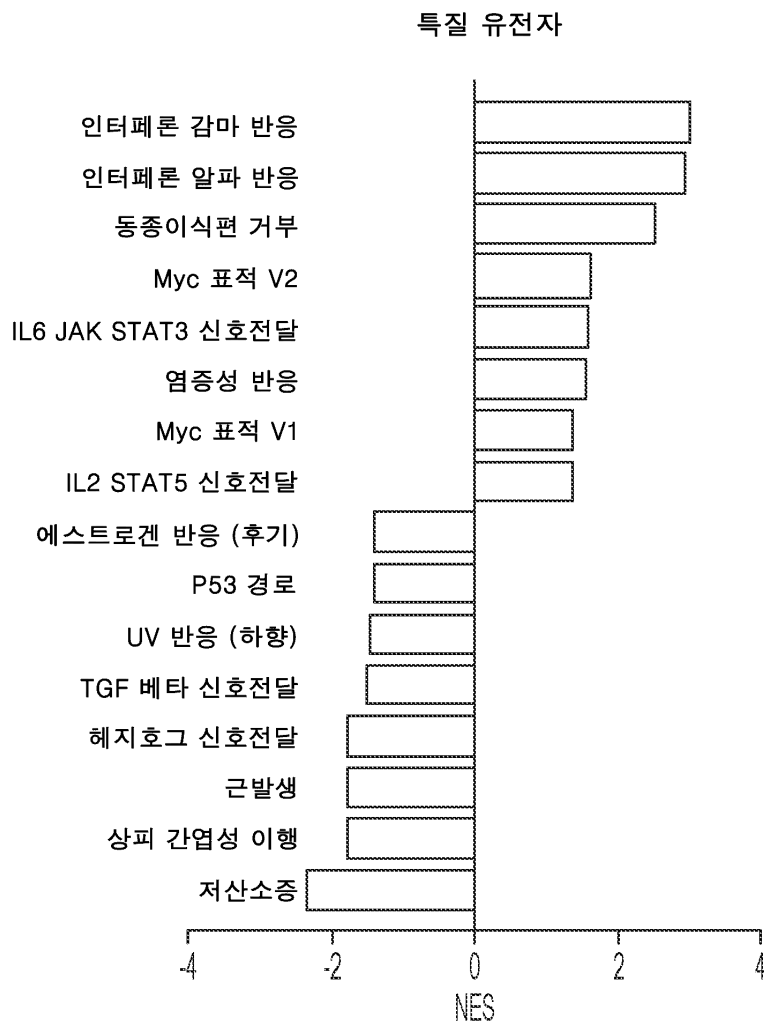
도면16c



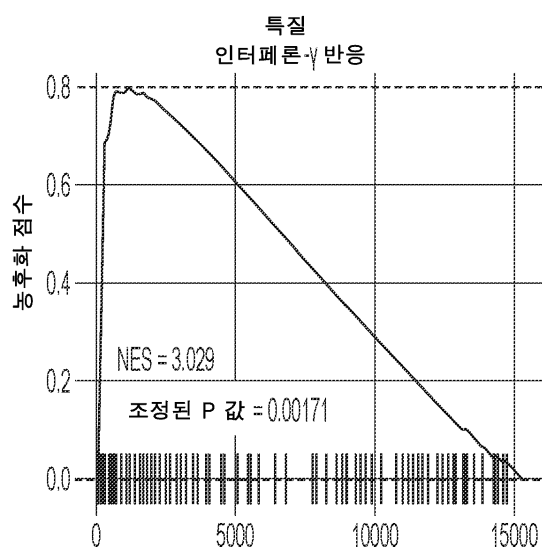
도면16d



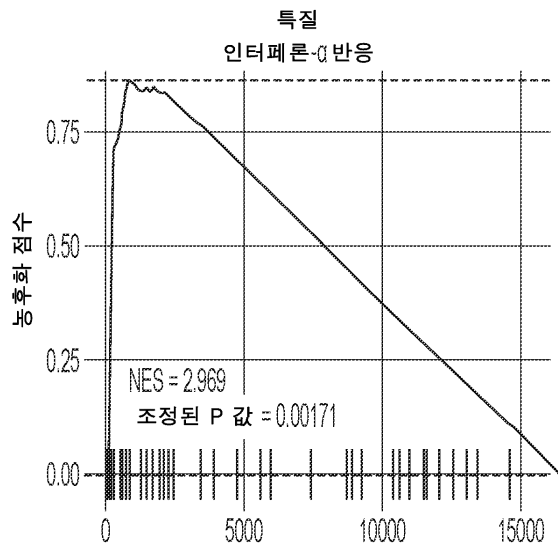
도면17



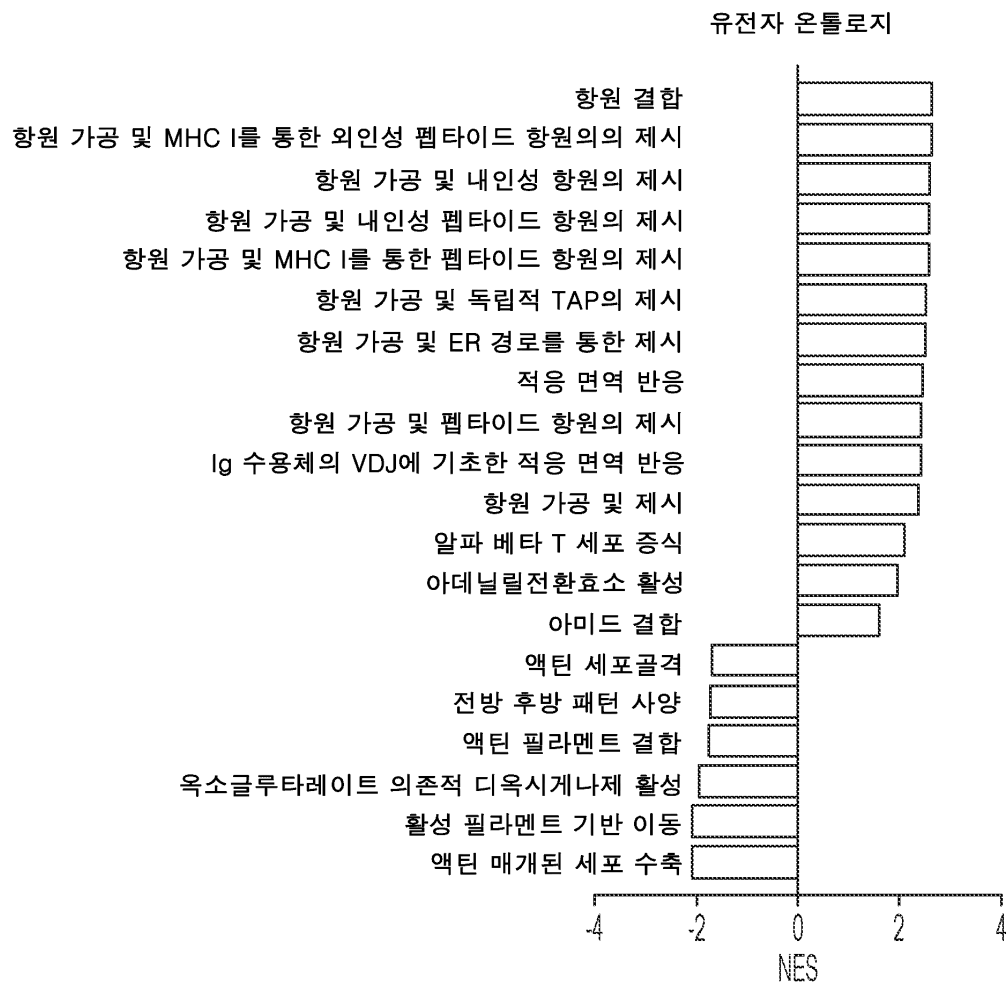
도면18a



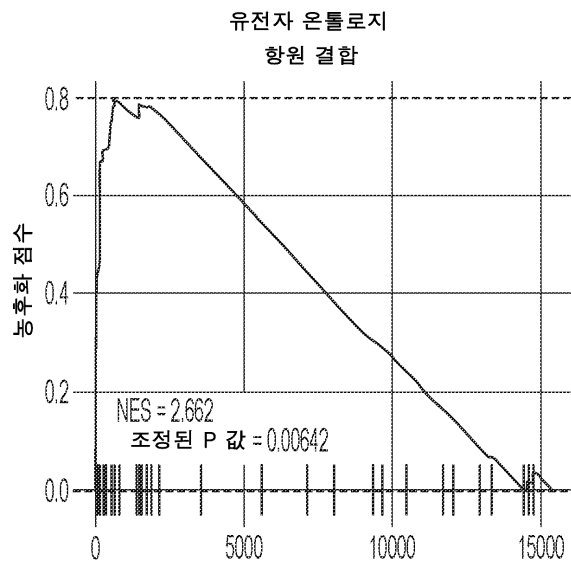
도면18b



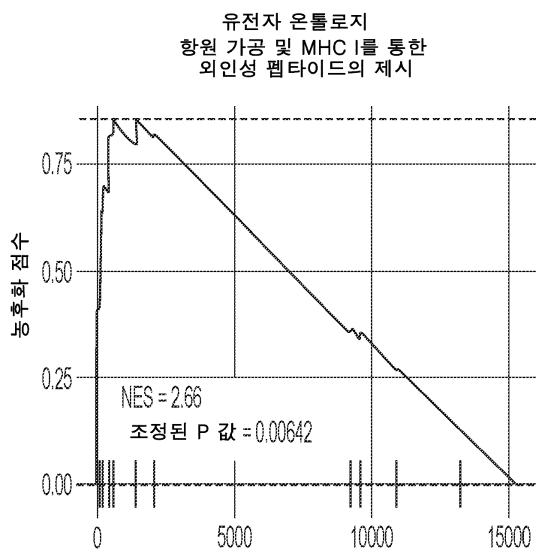
도면19



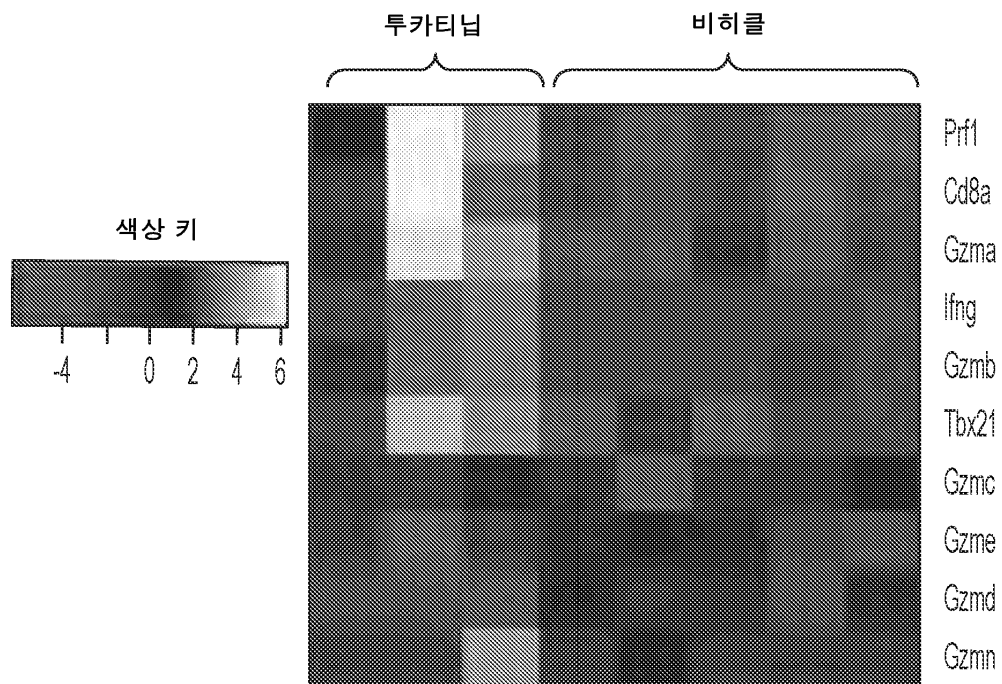
도면20a



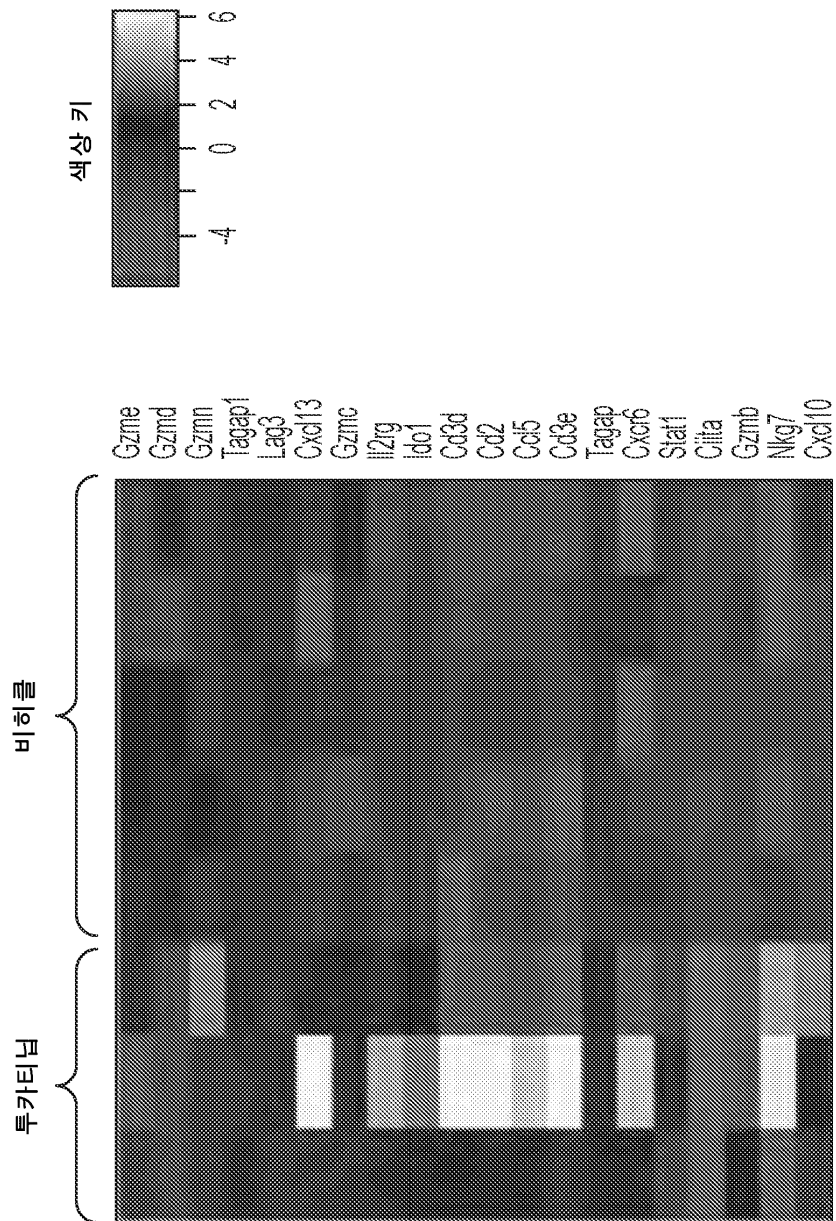
도면20b



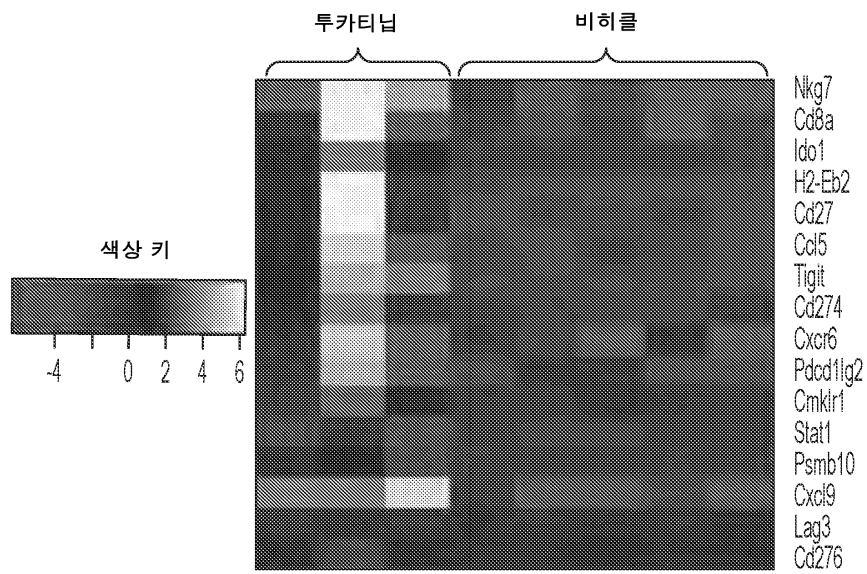
도면21a



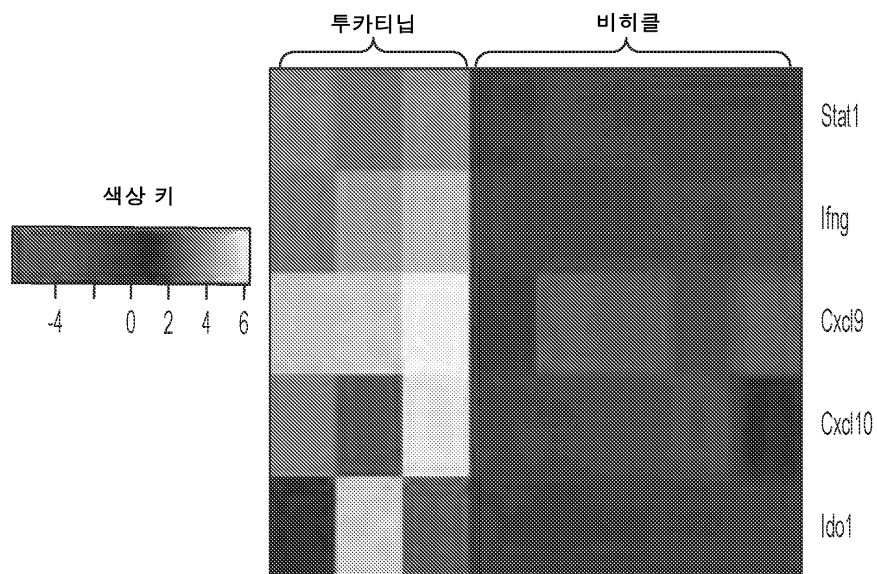
도면21b



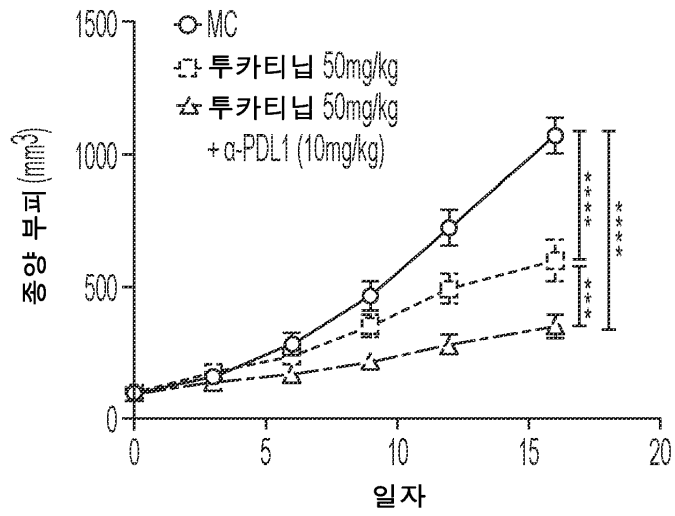
도면21c



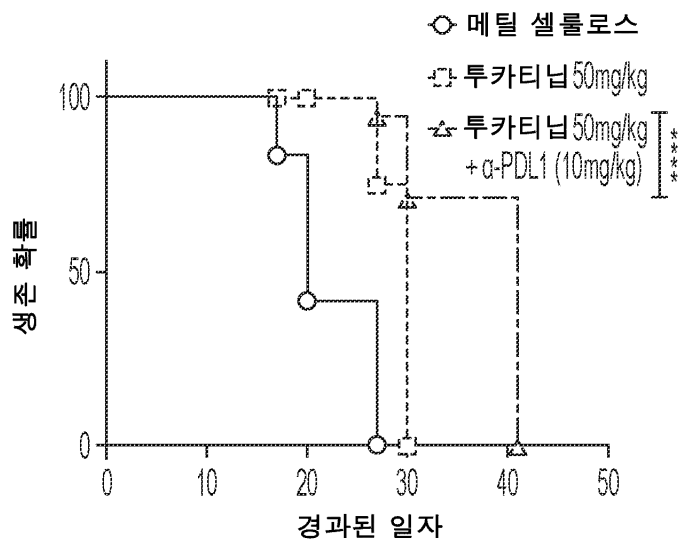
도면21d



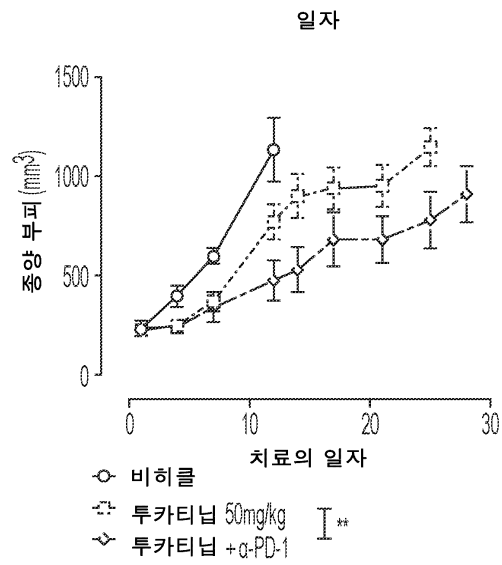
도면22a



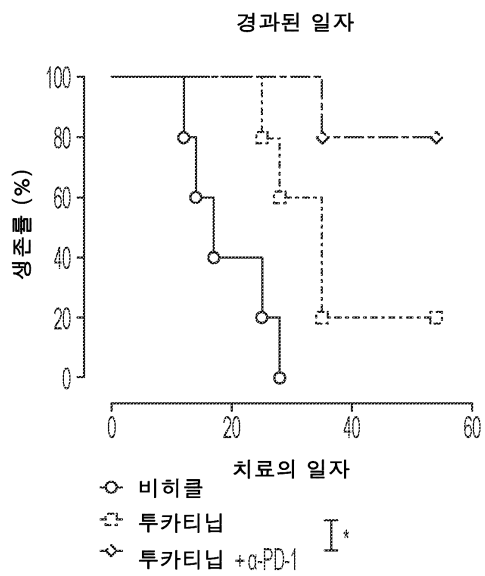
도면22b



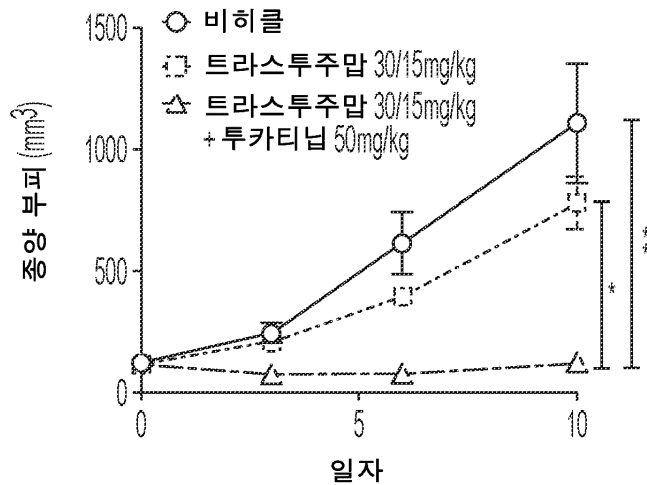
도면23a



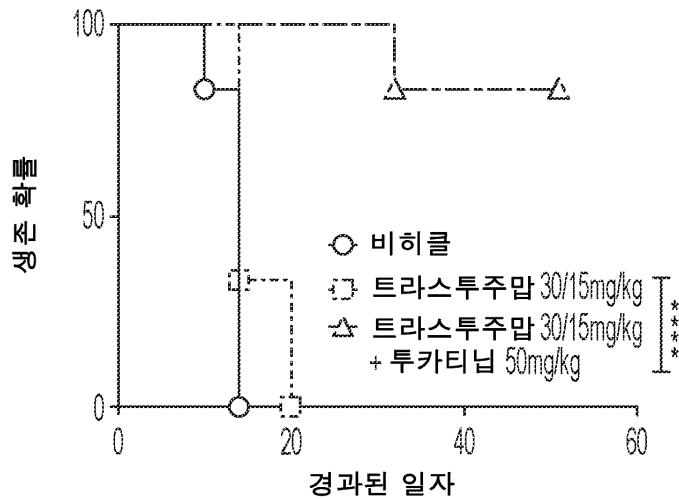
도면23b



도면24a



도면24b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> SEAGEN INC.

<120> METHODS OF TREATING CANCER WITH A COMBINATION OF TUCATINIB AND
AN ANTI-PD-1/ANTI-PD-L1 ANTIBODY

<130> 76168-20057.40

<140> PCT/US2021/059534

<141> 2021-11-16

<150> US 63/114,797

<151> 2020-11-17

<160> 1

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 1255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Glu Leu Ala Ala Leu Cys Arg Trp Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu

1 5 10 15

Pro Pro Gly Ala Ala Ser Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys

20 25 30

Leu Arg Leu Pro Ala Ser Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His

35 40 45

Leu Tyr Gln Gly Cys Gln Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr

50 55 60

Leu Pro Thr Asn Ala Ser Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val

65 70 75 80

Gln Gly Tyr Val Leu Ile Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu

85 90 95

Gln Arg Leu Arg Ile Val Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr

100 105 110

Ala Leu Ala Val Leu Asp Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro

115 120 125

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

130 135 140

Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln

145 150 155 160

Leu Cys Tyr Gln Asp Thr Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn

165 170 175

Asn Gln Leu Ala Leu Thr Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys

180 185 190

His Pro Cys Ser Pro Met Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val

260 265 270

Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg

275 280 285

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

290 295 300

Ser Thr Asp Val Gly Ser Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln

305 310 315 320

Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys

325 330 335

Pro Cys Ala Arg Val Cys Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu

340 345 350

Val Arg Ala Val Thr Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys

355 360 365

Lys Ile Phe Gly Ser Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp

370 375 380

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

385 390 395 400

Glu Thr Leu Glu Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro

405 410 415

Asp Ser Leu Pro Asp Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg

420 425 430

Gly Arg Ile Leu His Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu

435 440 445

Gly Ile Ser Trp Leu Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly

450 455 460
 Leu Ala Leu Ile His His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val

 465 470 475 480
 Pro Trp Asp Gln Leu Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr

 485 490 495
 Ala Asn Arg Pro Glu Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His

 500 505 510
 Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys

 515 520 525
 Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys

 530 535 540
 Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys
 545 550 555 560
 Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys

 565 570 575
 Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp

 580 585 590
 Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu

 595 600 605
 Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln
 610 615 620
 Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys
 625 630 635 640
 Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser

 645 650 655
 Ala Val Val Gly Ile Leu Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly

 660 665 670
 Ile Leu Ile Lys Arg Arg Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg

 675 680 685
 Arg Leu Leu Gln Glu Thr Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly

 690 695 700

Ala Met Pro Asn Gln Ala Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu
705 710 715 720
Arg Lys Val Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys
725 730 735
Gly Ile Trp Ile Pro Asp Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile
740 745 750
Lys Val Leu Arg Glu Asn Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu
755 760 765
Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg
770 775 780
Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu
785 790 795 800
Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg
805 810 815
Leu Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly
820 825 830
Met Ser Tyr Leu Glu Asp Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala
835 840 845
Arg Asn Val Leu Val Lys Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe
850 855 860
Gly Leu Ala Arg Leu Leu Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp
865 870 875 880
Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg
885 890 895
Arg Arg Phe Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val
900 905 910
Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala
915 920 925
Arg Glu Ile Pro Asp Leu Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro
930 935 940
Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met

945 950 955 960
 Ile Asp Ser Glu Cys Arg Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe
 965 970 975
 Ser Arg Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu

 980 985 990
 Asp Leu Gly Pro Ala Ser Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu
 995 1000 1005
 Leu Glu Asp Asp Asp Met Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr Leu
 1010 1015 1020
 Val Pro Gln Gln Gly Phe Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly Ala Gly
 1025 1030 1035 1040
 Gly Met Val His His Arg His Arg Ser Ser Ser Thr Arg Ser Gly Gly

 1045 1050 1055
 Gly Asp Leu Thr Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu Glu Ala Pro Arg
 1060 1065 1070
 Ser Pro Leu Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser Asp Val Phe Asp Gly
 1075 1080 1085
 Asp Leu Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu Gln Ser Leu Pro Thr His
 1090 1095 1100
 Asp Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu

 1105 1110 1115 1120
 Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro Gln
 1125 1130 1135
 Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro Ser Pro
 1140 1145 1150
 Arg Glu Gly Pro Leu Pro Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala Thr Leu Glu
 1155 1160 1165
 Arg Pro Lys Thr Leu Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val Val Lys Asp Val

 1170 1175 1180
 Phe Ala Phe Gly Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Thr Pro Gln
 1185 1190 1195 1200

Gly Gly Ala Ala Pro Gln Pro His Pro Pro Pro Ala Phe Ser Pro Ala		
1205	1210	1215
Phe Asp Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala		
1220	1225	1230
Pro Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr		
1235	1240	1245
Leu Gly Leu Asp Val Pro Val		
1250	1255	