



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0036710
(43) 공개일자 2015년04월07일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-7004250</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2013년07월18일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2015년02월17일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2013/065189</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2014/013019
국제공개일자 2014년01월23일</p> <p>(30) 우선권주장
61/673,216 2012년07월18일 미국(US)
(뒷면에 계속)</p> | <p>(71) 출원인
글리코토페 게엠베하
독일 베를린 로버트-로슬레 슈트라쎄 10 (우:13125)</p> <p>(72) 발명자
고레츠, 슈테펜
독일 13125 베를린 로버트-로슬레-슈트라쎄 10 글리코토페 게엠베하
다니엘치크, 안티예
독일 13125 베를린 로버트-로슬레-슈트라쎄 10 글리코토페 게엠베하</p> <p>(74) 대리인
특허법인 남앤드남</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 낮은 푸코실화를 갖는 항-HER2 항체를 이용한 신규한 치료적 처리

(57) 요약

본 발명은 항암 항체를 이용한 암 요법의 분야에 속한다. 향상된 효능을 나타내는 개선된 당화 특징, 특히, 감소된 푸코실화를 갖는 항-HER2 항체의 의학적 용도가 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

(30) 우선권주장

61/673,201 2012년07월18일 미국(US)

61/673,229 2012년07월18일 미국(US)

12197768.0 2012년12월18일

유럽특허청(EPO)(EP)

명세서

청구범위

청구항 1

HER2 양성 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)로서, 상기 암이 전이성 암인, 항-HER2 항체.

청구항 2

제 1항에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 CH2 도메인 내에 하기 당화 특징을 갖는 항-HER2 항체:

- (i) 20% 또는 그 미만의 상대량의 푸코스를 갖는 탄수화물 사슬;
- (ii) 적어도 8%의 상대량의 양분성 GlcNAc(bisecting GlcNAc)를 갖는 탄수화물 사슬;
- (iii) 적어도 65%의 상대량의 적어도 하나의 갈락토스 단위를 갖는 탄수화물 사슬; 및
- (iv) 적어도 15%의 상대량의 적어도 2개의 갈락토스 단위를 갖는 탄수화물 사슬.

청구항 3

제 2항에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 치료 전, 상기 환자가 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내의 푸코스의 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체)로 처리된 적이 있는, 항-HER2 항체.

청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 전이의 치료를 위한 것으로, 상기 전이가 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이 및 림프절 전이 중 하나 이상을 포함하는, 항-HER2 항체.

청구항 5

제 4항에 있어서, 환자가 하나 이상의 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이를 갖는 항-HER2 항체.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 전이성 유방암, 특히 침습성 유방관(mammary ductal) 암종, 바람직하게는 림프절 병발을 갖는 침습성 유방관 암종인 HER2 양성 암의 치료를 위한 항-HER2 항체.

청구항 7

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 결장암, 타액선암, 예를 들어, 이하선 암종, 폐암, 예를 들어, 비소세포폐암종, 및 기관지암으로 구성된 군으로부터 선택되는 HER2 양성 전이성 암의 치료를 위한 항-HER2 항체.

청구항 8

제 1항 내지 제 7항 중 어느 한 항에 있어서, 면역조직화학에 의해 결정시 2+ 또는 그 미만의 수준, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 수준의 HER2 과발현을 갖는 HER2 양성 전이의 치료를 위한 항-HER2 항체.

청구항 9

제 1항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 있어서, 전이, 특히 피부 궤양에 의해 야기되는 피부 병변 또는 림프절 병변의 치료를 위한 항-HER2 항체.

청구항 10

제 1항 내지 제 9항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자가,

- a) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는
- b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체),

또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;

c) 임의로 방사선요법; 및

d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,

상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)가 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생했던, 항-HER2 항체.

청구항 11

제 10항에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 환자가 적어도 5개의 상이한 항암제, 특히 화학요법제로 단일요법 또는 조합요법으로 치료된 적이 있는 항-HER2 항체.

청구항 12

제 10항 또는 제 11항에 있어서, HER2 양성 암이 적어도 하나의 화학요법제를 이용한 치료 후에 내성이 되거나 진행되었고/되었거나, 고 푸코스 트라스투주맙(trastuzumab)(Herceptin ®) 및/또는 고 푸코스 퍼투주맙(pertuzumab)(Omnitarg)을 이용한 치료 후에 내성이 되거나 진행되었던, 항-HER2 항체.

청구항 13

제 1항 내지 제 12항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 환자에 반복적으로 투여되고, 적어도 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 두번째 투여 후, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 첫번째 투여 후에 이미 치료 효과가 달성되는 항-HER2 항체.

청구항 14

제 13항에 있어서, 치료 효과가 피부 병변, 특히 궤양성 피부 병변의 감소, 종격 선병증의 감소 및/또는 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이의 감소를 포함하는 항-HER2 항체.

청구항 15

제 1항 내지 제 14항 중 어느 한 항에 있어서, 20% 또는 그 미만, 15% 또는 그 미만, 10% 또는 그 미만, 5% 또는 그 미만 또는 0%, 바람직하게는 2% 내지 20%, 3% 내지 15% 또는 5% 내지 10%의 범위 내의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체.

청구항 16

제 1항 내지 제 15항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인 내에 하기 당화 특징을 갖는 항-HER2 항체:

- (i) 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양;
- (ii) 적어도 65%의 갈락토스의 양;
- (iii) 검출 가능하지 않은 NeuGc;
- (iv) 검출 가능하지 않은 Gal α1,3-Gal; 및
- (v) 검출가능한 α2,6-커플링된 NeuAc.

청구항 17

제 1항 내지 제 16항, 특히 제 14항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 특징을 갖는 항-HER2 항체:

- (i) SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함;
- (ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함;
- (iii) SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함;

- (iv) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함;
- (v) 항체 트라스투주맙과 상호특이성(cross-specificity)을 나타냄; 및
- (vi) IgG 항체임.

청구항 18

제 1항 내지 제 17항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 단일요법이거나, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 특히 하기와 조합된 조합요법인 항-HER2 항체:

- (i) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는
- (ii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 적어도 하나의 추가 치료 항체; 및/또는
- (iv) 암 수술 및/또는 방사선요법.

청구항 19

제 1항 내지 제 18항 중 어느 한 항에 있어서, 1주, 2주, 3주 또는 4주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 1 내지 15 mg의 양, 바람직하게는 3주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 2 내지 8 mg의 양의 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여를 위한 항-HER2 항체.

청구항 20

제 1항 내지 제 19항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 환자의 FcγRIIIa 동종이형과 상관 없이 환자의 치료를 위한 것인 항-HER2 항체.

발명의 설명

기술 분야

발명의 분야

본 발명은 개선된 당화 특징을 갖는 항-HER2 항체의 신규한 의학적 용도에 관한 것이다. 상기 항-HER2 항체는 일반적인 치료 항체 및 화학요법제를 이용한 요법에 실패하였거나 덜 효과적인 경우에 치료 효능을 나타냄으로써, 신규한 환자 그룹 및 통상적인 항-HER2 항체 요법으로 성공적으로 치료될 수 없었던 특정 환자를 성공적으로 치료하는 것을 가능케 한다. 특히, 본 발명은 전이성 암으로 고통받는 강하게 이전 치료된 환자를 포함하는 이전 치료된 환자에 대해 신규한 항전이 치료뿐만 아니라 신규한 치료를 제공하며, 상기 암 또는 전이는 이전 치료에도 불구하고 재발된 것이다. 또한, 본 발명은 HER2의 낮은 과발현만을 나타내는 HER2 양성 질병, 특히 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 1+ 또는 2+의 HER2 발현을 갖는 HER2 양성 암의 치료에서 개선된 당화 특징을 갖는 항-HER2 항체의 신규한 의학적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

발명의 배경

항체는 의학 및 연구 분야에서 널리 사용되는 작용제이다. 의학에서, 이들은 많은 다양한 분야, 특히 다양한 질병, 특히 신생물 질병, 예를 들어, 암의 치료 및 예방에서 치료제로서 실용성을 갖는다. 그러나, 암 환자의 항체 요법에 의해 수득되는 치료 결과는 매우 가변적이다. 항암 항체를 이용한 요법의 유의한 백분율은 질병의 완화를 나타내지 않거나 완화를 매우 적게 나타내고, 때때로 특정 환자 그룹으로 제한된다.

예시적인 확립된 항암 항체는 인간 표피 성장인자 수용체 2(HER2)에 대한 항체이다. 인간 표피 성장인자 수용체 2(HER2) 단백질은 HER-2/neu 유전자를 과발현하는 암에 대한 항체 요법을 위한 독특하고 유용한 표적인 것으로 생각된다. HER2는 유방암, 결장암, 진행된 식도 샘암종, 위 샘암종 또는 위식도 접합부 샘암종을 포함하 이에 제한되지는 않는 여러 암에서 과발현된다. 예를 들어, HER2는 인간 유방암의 20 내지 30%에서 과발현되며, 결절-양성 및 결절-음성 질병을 갖는 여성에서 불량한 임상적 예후와 관련이 있다. HER2의 과발현은 또한 더욱 공격적인 종양과 관련된다. HER2 양성 종양, 예를 들어, 특히 유방암을 치료하기 위해, 항-HER2 항체의 사용이 요법의 확립된 형태이다. 재조합 인간화 항-HER2 모노클로날 항체 트라스투주맙

(trastuzumab)(Herceptin®)은 1998년에 미국에서 임상 용도에 대해 승인되었고, 전이성 유방암을 포함하는 유방암 및 전이성 위암의 치료에 대해 승인되어 있다. 트라스투주맙은 단일요법 및 조합요법으로 사용된다. 트라스투주맙은 CHO 세포(햄스터 세포)에서 발현되고, 따라서 고도로 푸코실화된다. 단일 작용제(단일요법)로 제공된 항체에 대한 반응률은 15-26% 범위이다.

[0006]

또 다른 항-HER2 항체는 HER 이합체화 억제제(HDI)로 공지된 항체의 신규한 부류에서 처음이고, 다른 HER 수용체와 활성 이중이합체(예를 들어, EGFR/HER1, HER3 및 HER4)를 형성하는 HER2의 능력을 억제하는 기능을 하고, HER2 발현 수준과 관계 없이 활성인 항체 퍼투주맙(재조합 인간 모노클로날 항체 2C4로도 공지됨; OMNITARG®)이다. 종양 세포에서의 HER2/HER3 이중이합체의 형성의 퍼투주맙 차단은 중요한 세포 신호전달을 억제하여, 종양 증식 및 생존을 감소시키는 것이 입증되었다. 퍼투주맙은 임상에서 단일 작용제로 시험되었다. I기 연구에서, 표준 요법 동안 또는 표준 요법 후에 진행된, 불치의 국소적으로 진행된 재발성 또는 전이성 고형 종양을 갖는 환자가 3주마다 정맥내로 제공되는 퍼투주맙으로 치료되었다. 종양 회귀가 반응에 대해 평가가능한 20명의 환자 중 3명에서 달성되었다. 2명의 환자는 확인된 부분적 반응을 가졌다. 2.5개월 초과 동안 지속되는 안정적 질병이 21명의 환자 중 6명에서 관찰되었다. 이들 결과는 심지어 부분적 반응 또는 질병의 안정화를 달성하는 것에 대한 어려움을 강조한다. 매우 종종, 종양 회귀 또는 질병의 안정화와 같은 이로인한 효과가 질병이 종국적으로 진행하기 전 수개월 동안만 관찰된다.

[0007]

비푸코실화된 항체(afucosylated antibody)는 향상된 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 갖는 것으로 밝혀졌고, 따라서 바이오베터(biobetter) 항체의 개발 기회를 제공한다. 증거는 일차 n-아세틸글루코사민으로부터의 푸코스의 부재가 Fc γ RIIIa 수용체에 대한 IgG1 항체 결합의 증가된 친화성, 및 결과로서 발생하는 자연살세포(NK)에 의해 매개되는 증가된 ADCC 효능을 발생시키는 것을 암시한다. 이는 푸코스 잔기의 첨가에 있어서 불완전한 돌연변이 CHO 세포, 특히 α (1-6) 푸코실트랜스퍼라제 효소가 덜 아아웃된 CHO 세포에서 생성된 푸코실화되지 않은 단백당형을 이용한 연구에서 확인된다. Fc γ RI 또는 보체의 C1 성분에 대한 푸코실화되지 않은 IgG1 단백당형의 친화성은 영향을 받지 않는 것으로 보고되었고, Fc γ RIIa 및 Fc γ RIIb에 대한 친화성에서의 작은 증가가 보고되었으나, 활성/억제 비가 유지됨에 따라, 기능적으로 유의하지 않은 것으로 결론내려졌다. 비푸코실화된 IgG-Fc에 대해 관찰된 향상된 ADCC는 부분적으로 Fc γ RIIIa에 대한 정상 혈청 IgG의 경쟁을 극복하는 증가된 친화성으로부터 발생한다. 개선된 ADCC가 또한 비푸코실화된 트라스투주맙에 대해 제공되었다. Fc γ RIIIa 수용체는 다형체이고, Fc γ RIIIa-158V(발린) 형태가 Fc γ RIIIa-158F(페닐알라닌) 형태보다 IgG1에 대해 더 높은 친화성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 푸코실화된 IgG1 항체가 동형접합 Fc γ RIIIa-158F 또는 이형접합 Fc γ RIIIa-158V/Fc γ RIIIa-158F 세포를 통하는 것보다 동형접합 Fc γ RIIIa-158V를 갖는 세포를 통해 ADCC를 매개하는 것이 더욱 효과적인 것이 시험관내에서 입증되었다. 따라서, ADCC 효능에서의 유사한 차이가 발현된 Fc γ RIIIa의 다형체에 따라 생체내에서 부속될 수 있음이 예견되었다. F/F 동형접합 또는 V/F 이형접합인 약한-반응 환자의 각각의 하위집단을 치료하기 위한 비푸코실화된 항체의 사용이 종래, 예를 들어, US 2006/0182741호에 제안되어 있다. 비푸코실화된 항체 및 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체가 또한 EP 1 500 400호 및 WO 2008/028686호에 기재되어 있다. 푸코실화되지 않은 항-HER2 항체에 대한 시험관내 결과는 문헌[Suzuki et al., Clinical Cancer Research 2007; 13:1875-1882; Juntilla et al., Cancer Research 2010; 70:4481-4489 and Zhang et al., mAbs 3:3, 289-298, 2011]에 기재되어 있다. 상기 문헌에서, 감소된 푸코실화를 갖는 항-HER2 항체는 CHO 세포에서의 생성으로 인해 Fc 영역에서 높은 푸코실화를 갖는 항체 트라스투주맙(Herceptin®)과 비교되었다. 결과는 감소된 푸코스 함량을 갖는 항-HER2 항체가 우수한 ADCC 활성을 나타내는 것을 입증한다. 그러나, 상기 항체의 임상 적용에서의 상기 결과의 치료적 관련성은 아직 입증되지 않았다.

[0008]

트라스투주맙과 같은 항-HER2 항체가 갖는 일반적 문제는 이들이 HER2를 과발현하는 종양에서만 활성이라는 점이다. 따라서, 단지 작은 집단의 환자가 각각의 치료에 대해 적격이다. 임상적 타르스투주맙 시험은 수준 0 내지 1+ HER2 발현(IHC에 의해 결정됨)을 갖는 환자가 일정하게 약물로부터 이익을 얻지 못하고, 수준 2+ 발현을 갖는 단지 소수의 환자가 약물로부터 이익을 얻는 것으로 나타났다. 수준 3+ 발현을 갖는 더 많은 환자가 이익을 얻는다. 그러나, 수준 3+를 갖는 환자 그룹에서도, 많은 양의 환자는 무반응자이거나 반응이 적었다. 트라스투주맙은 HER2 수용체에 대해 큰 친화성을 나타내고, 고용량이 투여(이의 낮은 독성으로 인함)될 수 있으나, HER2+ 환자의 적어도 70%가 치료에 반응하지 않는 것이 발견되었다. 심지어 항-종양 활성이 없거나 단지 감소된 항-종양 활성이 환자의 적어도 80%, 특히 F/F 및 F/V 수용체 동종이형의 환자에 대해 보고된다. 사실, 내성은 정기적으로 발생하고, 질병이 진행된다. 많은 경우에서, 질병 진행까지의 시간은 있다 하더라도 단지 수개월 동안 지연된다.

[0009]

통상적인 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맙을 이용한 치료가 실패하였고, 각각 항-HER2 항체 치료에도 불

구하고 질병이 진행되는 HER2 양성 암으로 고통받는 환자는 종종 제한된 치료 선택을 갖는다. 환자가 질병의 진행을 또한 예방할 수 없는 이전 또는 동시 화학요법 치료를 받은 경우가 특히 그런 경우이다. 상기 이전 또는 동시 화학요법 치료는 종종 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맙이 실패한 환자 그룹에서 조우되는데, 이는 트라스투주맙이 적어도 2개의 화학치료 요법을 이미 받은(이에 따라 이전 치료된) 환자의 치료에 대해 단일 요법으로서 전이성 유방암, 및 파클리탁셀(paclitaxel) 또는 도세탁셀(docetaxel)과 같은 화학요법제와의 조합 요법으로서 다른 적응증에 대해 제공되기 때문이다. 질병이 진행되는 경우, 화학요법제 및/또는 항-HER2 항체를 이용한 다수의 치료에도 불구하고, 환자의 생존 예후는 낮다. 여기서, 치료의 수가 증가하고, 질병이 진행함에 따라 환자의 전반적 건강 상태가 감소하는 것이 또한 명심되어야 한다. 강하게 이전 치료된 환자는 종종 불량한 활동도(ECOG)를 가지며, 이에 따라 추가의 공격적 치료, 예를 들어, 추가 방사선요법으로부터 제외된다. 원발성 암이 전이되고, 치료에도 불구하고 지속적으로 전이되는 경우 생존 예후는 특히 낮다.

[0010]

전이 또는 전이성 질병은 한 기관 또는 부분으로부터 또 다른 인접하지 않은 기관 또는 부분으로의 질병의 확산이다. 암은 조직 내의 단일 세포가 점진적으로 유전적으로 손상되어 악성 표현형을 갖는 암 줄기 세포를 발생시킨 후에 발생한다. 이들 암 줄기 세포는 상기 위치에서 암세포의 전체 수를 증가시키는 것에 도움이 되는 조절되지 않는 비정상적 유사분열을 겪을 수 있다. 발생 측면에서의 암세포의 영역이 임상적으로 검출가능해지는 경우, 이는 원발성 종양으로 언급된다. 일부 암세포는 또한 주위 정상 조직 및 국소 영역으로 침투하고 침윤하는 능력을 획득하여, 새로운 종양을 형성시킨다. 조직 내의 인접 측면에서 새로이 형성된 "딸" 종양은 국소 전이로 언급된다. 일부 암세포는 림프관 및/또는 혈관의 벽을 침투하는 능력을 획득하고, 이후 이들은 신체 내의 다른 측면 및 조직으로 혈류를 통해 순환(순환 종양 세포)할 수 있다. 이러한 과정은 림프 또는 혈행성 확산으로 공지되어 있다. 종양 세포가 또 다른 측면에서 자리잡은 후, 이들은 혈관 또는 벽을 재침투하고, 지속적으로 증식하고, 종국에는 또 다른 임상적으로 검출가능한 종양을 형성시킨다. 이러한 새로운 종양은 전이성(또는 속발성) 종양으로 공지되어 있다. 전이는 악성종양의 하나의 특징이다. 다른 신생물에서의 대부분의 종양은 정도는 다양하나 전이할 수 있다. 정양 세포가 전이되는 경우, 새로운 종양은 속발성 또는 전이성 종양으로 언급되고, 이의 세포는 본래의 종양의 세포와 유사하다. 이는, 예를 들어, 유방암이 폐로 전이되는 경우, 속발성 종양이 비정상적 폐 세포로 구성되는 것이 아니라, 비정상적 유방 세포로 구성되는 것을 의미한다.

[0011]

전이성 종양은 암의 후기 단계에서 매우 흔하다. 전이의 확산은 혈액 또는 림프관 또는 둘 모두의 경로를 통해 발생할 수 있다. 전이가 림프 확산에 의해 발생하는 경우, 림프계의 침습 후 지역적 림프절 및 궁극적으로는 신체의 다른 부분으로의 종양 세포의 수송이 발생한다. 이는 암종에 대한 전이의 가장 흔한 경로이다. 암세포는 원발성 종양 근처의 림프절(지역적 림프절)로 확산될 수 있다. 이는 결절 병발(nodal involvement), 양성 결절 또는 지역적 질병으로 언급된다. 이는 종양을 시험하거나 제거하기 위해 수술을 수행하는 경우에 종양 부위 근처의 적어도 림프절에 대한 생검에 의해 시험하기 위한 흔한 의학적 실시이다. 원발성 종양 근처의 영역적 림프절로의 국소화된 확산은 보통은 전이로서 포함되지 않으나, 이는 나쁜 예후의 징후이다. 림프를 통한 수송은 암종의 최초 파종에 대한 가장 흔한 경로이다.

[0012]

전이가 발생하는 가장 흔한 장소는 폐, 간, 뇌 및 뼈이다. 그러나, 또한 피부 전이가 발견되며, 종종 특정 암 유형, 예를 들어, 유방암에서 발생한다. 피부 전이(cutaneous metastases)(또는 피부(skin) 전이 - 상기 용어는 본원에서 유사어로서 사용됨)는 내부 암으로부터 발생하는 피부 내의 암세포의 성장을 나타낸다. 대부분의 경우에서, 피부 전이는 원발성 내부 악성종양(예를 들어, 유방암 또는 폐암)의 최초 진단 후 및 질병의 과정에서 후기에서 발생한다. 피부 전이는 암성 세포가 원발성 종양으로부터 떨어져 나가고, 혈액 순환 또는 림프계를 통해 피부로 나아가는 경우에 발생한다. 대부분의 악성 종양은 피부 전이를 발생시킬 수 있으나, 약간 또는 그 이상으로 다른 종양보다 그렇게 하는 것이 가능하다. 여성에서의 피부 전이의 가장 흔한 공급원은 유방(69%), 결장(9%), 흑색종(5%), 난소(4%) 및 폐(4%)이다. 대부분의 피부 전이는 원발성 종양 근처의 신체 영역에서 발생한다. 이들은 파괴되고, 궤양을 발생시키고, 이에 따라 피부를 침입한다. 궤양 발생 종양은 일반적으로 2가지 방식으로 발달할 수 있다. 이는 원발성 종양의 일부 또는 속발성 종양, 즉, 전이로서 발달할 수 있다. 상기 기재된 바와 같이, 종양이 혈액 및 림프계로 확산되는 경우, 이는 피부로 이동할 수 있고, 궤양 형성 종양으로 발달할 수 있다. 이는 드물고, 보통 암의 진행된 단계에서만 발생한다. 일부 사람에게 대해, 궤양 형성 종양은 이들의 암의 가장 혼란스러운 형태이며, 이는 궤양 형성 종양이, 예를 들어, 안면 또는 복부 상에서와 같이 다른 사람에게 보이는 경우에 환자가 자신에 관해 느끼는 방식에 크게 영향을 미칠 수 있다. 또한, 궤양 형성 종양은 또한 불쾌한 냄새가 날 수 있다. 유방암에서, 피부 전이의 가장 흔한 측면은 흉부 및 복부이다. 피부 전이를 치료하기 위해, 기초 원발성 종양은 치료되는 것을 필요로 한다. 그러나, 피부 전이가 발생한 대부분의 경우, 원발성 암은 퍼져 있을 수 있고, 치료 불가능할 수 있다. 이러한 경우, 완화 의료만이

제공될 수 있다.

[0013] 전이로 고통받는 환자의 치료 및 생존은 일반적으로 암이 국소적인지 또는 다른 위치로 확산되어 있는지 아닌지의 여부에 의해 결정된다. 암이 다른 조직 및 기관으로 확산된 경우, 이는 환자의 생존 가능성을 감소시킬 수 있다. 치료의 선택은 일반적으로 원발성 암의 유형, 전이의 크기 및 위치, 환자의 연령 및 전반적 건강, 및 이전에 사용된 치료 유형에 좌우된다. 상기 기재된 바와 같이, 사망률은 피부 전이, 특히 진행된 궤양성 피부 전이를 갖는 환자에서 특히 높다. 피부 전이의 출현은 퍼져 있는 전이성 질병의 신호이며, 이는 환자에 대해 불량한 예후를 발생시킨다.

[0014] 임상 종양전문의는 암 치료의 실패가 일반적으로 수술을 이용하여 처리되는 원발성 종양의 성장에 의해 반드시 야기되지는 않고, 오히려 다양한 기관으로의 전이적 확산에 의해 야기된다는데 동의한다. 따라서, 전이의 예방, 전이 성장의 억제 및 전이의 추가 확산의 예방을 포함하는 전이의 효과적인 치료가 중요하다. 다양한 항암 약물에 의한 원발성 종양의 회귀가 항상 항-전이 활성 자체를 나타내는 것이 아님이 공지되어 있다. 반대로, 향상된 전이는 여러 항암 약물에 반응하여 관찰되고 있다. 또한, 화학요법제뿐만 아니라 치료 항체는 전이의 위치에 또한 좌우되는 항-전이 활성의 다양한 정도를 나타낸다.

[0015] 항-HER2 항체를 이용한 요법이 원발성 뿐만 아니라 전이를 치료하는데 도움이 될 수 있는 것이 공지되어 있다. 그러나, 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맙이 다양한 유형의 전이에 대해 다소 분기된 효과를 나타내는 것이 종래 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Sawaki et al. (Tumori, 20:40-43, 2004: Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent and heavily pre-treated patients with HER-2/NEU-overexpressing metastatic breast cancer)]에서 다양한 유형의 전이가 트라스투주맙 요법에 반응한 방식이 분석되었다. 환자는 HER2 유전자 생성물을 과발현하는 것이 확인되었다. 상기 사와키(Sawaki)의 문헌에는 환자의 11.5%가 트라스투주맙 치료에 완전히 반응하였고, 11.5%가 부분적으로 반응하였고, 11.5%가 변화가 없었고, 환자의 65%가 진행성 질병을 나타낸 임상 연구의 결과가 기재되어 있다. 질병 진행까지의 시간은 3.1개월(중간)이었고, 중간 반응 기간은 6.4개월이었다. 분석되는 환자는 통상적인 화학요법에 의해 미리 처리되었고, 상기 요법에 대해 난치성이었다. 환자 대부분은 다수의 화학치료 요법을 받았고, 이에 따라 분석된 연구 집단은 일반적으로 매우 불량한 예후를 가졌다. 상기 논의된 바와 같이, 환자가 더욱 비성공적인 치료를 받는 경우, 그의 예후는 더 나빠진다. 사와키(Sawaki)는 효과가 충분한 효능이 결핍된 것으로 간주되는 것으로 결론내림에도 불구하고, 사와키는 화학요법 후에 진행된 HER2를 과발현하는 전이성 유방암을 갖는 여성에서 단일 작용제로서 활성이 있는 것으로 결론내렸다. 또한, 사와키는 관찰된 반응률이 또한 전이 부위에 의해 매우 상이한 것을 보고하였다. 사와키는 상기 연구에서 수득된 결과가 트라스투주맙이 내장 전이, 특히 간 전이 및 폐 전이 및 뇌 전이에 대해 단일 작용제로서 효과적이지 않는 것을 암시하는 것으로 결론내렸다. 50%의 반응률이 피부 전이에서 관찰되었고, 43%가 림프절에서 관찰되었고, 10%가 골 전이에서 관찰되었으나, 폐 및 간 전이에 대해서는 반응이 없었다. 그러나, 전체 낮은 반응률을 고려하는 경우, 이는 트라스투주맙이 많은 수의 환자, 특히 특정 전이, 예를 들어, 폐 또는 간 전이로 고통받는 환자에서 효과적이지 않음을 강조한다.

[0016] 문헌[Rossi et al. (Anticancer research 24: 317-320 (2004))]에는 전이성 유방암으로 고통받는 강하게 이전 치료된 환자에서 발생하는 골수 전이가 트라스투주맙으로 효과적으로 치료될 수 있는 경우가 보고되어 있다. 상기 환자는 혈액 세포 수의 완전한 회복을 달성하였으나, 폐 전이의 진행으로 인해 결국에는 사망하였다. 로시(Rossi)의 문헌에는 전이성 유방암의 진단 후 중간 생존 기간이 18 내지 24개월인 것으로 보고되어 있으나, 이는 질병의 전이 부위에 따라 매우 다양한 것으로 지적되어 있다. 중간 생존 기간은 뼈 질병만을 갖는 환자(18 내지 30개월)에 비해 내장 질병(6 내지 13개월)을 갖는 환자에 대해 전통적으로 더 낮다.

[0017] 문헌[Gori et al. (The Oncologist 2007; 12:766-773: Central nervous system metastases in HER-2-positive metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab: incidence, survival, and risk factors)]에는 CNS 전이를 갖는 환자의 결과를 규명하고, 재발에 대한 위험 요인을 확인하기 위해 HER2-양성 전이성 유방암 환자에서 CNS 전이의 발병율을 평가하기 위한 관찰 연구가 기재되어 있다. 고리(Gori)의 문헌에는 내장 전이가 재발의 우세 부위이고, 이는 CNS 전이에 대한 유의하게 높은 위험과 관련되어 있음이 보고되어 있다. 이는 내장 전이의 효과적인 치료의 중요성을 강조한다.

[0018] 상기에 비추어, HER2 양성 신생물 질병, 특히 전이성 HER2 양성 암의 개선된 치료가 매우 요구되는 것이 명백하다. 또한, 항-HER2 항체 및/또는 화학요법제를 이용한 이전 치료에도 불구하고 질병이 진행된 환자에 대한 효과적인 치료 스킴을 제공하는 것이 매우 요구되며, 특히 강하게 이전 치료된 환자에 대한 치료 선택을 제공하는 것이 요구된다. 특히, HER2 양성 전이, 특히 피부 전이, 림프절 전이 및 내장 전이, 예를 들어, 폐 및 간

전이의 치료를 위해 효과적인 선택을 제공하는 것이 매우 요구된다. 또한, 낮거나 중간 정도의 HER2의 발현, 특히 IHC에 의해 결정시 HER2 1+ 또는 HER2 2+ 만을 나타내는 HER2 양성 암에 대한 개선된 치료를 제공하는 것이 요구된다.

발명의 내용

발명의 개요

Fc 영역 내에 감소된(부재 포함) 푸코실화를 갖는 본 발명에 따른 항-HER2 항체는 본원에 보고된 임상 시험에서 HER2 양성 신생물 질병, 특히 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 현저하고 예기치 않은 치료 효능을 나타낸다. 본원에 기재된 항-HER2 항체는 원발성 암 및 전이에 대해 치료적으로 활성이다. 이들은 또한 통상적인 암 치료에 대해 내성이거나 난치성인 원발성 암 및 전이에 대해 치료적으로 효과적인 것으로 밝혀졌다. 또한, Fc 영역 내에 감소된(부재 포함) 푸코실화를 갖는 본 발명에 따른 항-HER2 항체는 낮거나 중간 정도의 HER2 발현(예를 들어, IHC에 의해 결정시 1+ 또는 2+)만을 나타내는 HER2 양성 암에 대해 우수한 치료 효능을 나타낸다. 특히, 상기 항-HER2 항체는 통상적인 암 치료에 대해 내성이거나 난치성인 전이 및 원발성 종양에 대해 효과적이다. 특히, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 높은 푸코실화를 갖는 통상적인 항-HER2 항체를 이용한 치료에 대해 내성이거나 내성이 되고/되거나 하나 이상의 화학요법제를 이용한 치료에 대해 내성이거나 내성이 되는 원발성 암 및 전이에 대해 높은 치료 효능을 나타내었다. 본원에 보고된 발견을 기초로 하여, 본 발명은 통상적인 요법, 특히 통상적인 항-HER2 항체를 포함한 조합요법을 포함하는 통상적인 항-HER2 항체 요법으로 치료될 수 없거나 더 이상 치료될 수 없는 특정 환자 그룹을 치료하는 것을 가능케 하는 신규한 의학적 치료 스케줄을 제공한다. 특히, 본 발명은 강하게 이전 치료된 환자, 즉, 이전의 항암 치료를 다중으로 받았으나, 상기 이전 치료가 실패하고, 상기 환자가 널리 퍼진 전이를 갖는 환자에게 성공적인 치료 스케줄을 제공한다. 본 출원에 제공된 데이터는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 단일요법으로 투여되는 경우에도 상기 환자가 본 발명의 교시내용에 따라 성공적으로 치료될 수 있음을 입증한다. 치료 성공이 폐양성 피부 전이, 림프절 전이 및 내장 전이, 특히 폐 및 간 전이를 포함하는 다수의 다양한 전이에서 관찰되었다. 입증된 강한 항-전이 효능은 중요한 임상적 성공인데, 이는 전이를 갖는 강하게 이전 치료된 환자의 상기 특정한 환자 하위그룹의 치료가 특히 어렵고, 이에 따라 상기 환자 그룹이 매우 불량한 생존 예후를 갖기 때문이다. 본 발명은 단일요법 환경에서도 상기 환자에 대한 성공적인 신규한 치료를 제공한다. 또한, 본원에 제공된 데이터에 의해 입증되는 바와 같이, 본 발명에 따른 항-HER2 항체의 적은 투여량을 투여하는 경우에도 치료 성공이 달성된다. 또한, 치료 효과가 매우 신속히 관찰되었고, 이에 의해 상기 환자 그룹에서 본 발명에 따른 항-HER2 항체의 현저한 치료 효능이 입증되었다. 예를 들어, 화학요법제 및 통상적인 항-HER2 항체를 이용한 이전의 다수의 치료가 실패하고, 질병이 진행된, 전이성 유방암 및 큰 폐양형성 피부 전이로 고통받는 강하게 이전 치료된 환자에서, 본 발명에 따른 항-HER2 항체의 첫번째 투여(단일요법) 8일 후에 이미 폐양성 피부 전이가 치유되기 시작하였고, 궁극적으로 완전히 회복될 수 있었다. 또한, 화학요법제 및 통상적인 항암 항체를 이용한 치료가 실패하고, 질병이 진행된, 전이성 결장암으로 고통받고 폐 및 간 전이를 갖는 강하게 이전 치료된 환자에서 또한, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 단일요법 환경으로 투여되는 경우에 표적 병변의 유의한 감소(44%)가 관찰되었다.

또한, 본원에 제공된 데이터는 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 유리하게는 HER2 양성 암 및 특히 1+ 또는 2+의 낮은 HER2 과발현(면역조직화학에 의해 결정시)을 나타내는 전이성 암의 치료, 및 또한 다수의 다른 항암제를 이용한 치료가 실패한 이전 치료된 환자의 치료에 사용될 수 있음을 또한 입증한다. 또한, 수행된 임상 연구에서, 본 발명에 따른 항-HER2 항체는 잘 용인되며, 관찰되는 부작용이 통상적인 항체 요법에 비해 감소된 것으로 밝혀졌다. 이는 공격적 요법, 예를 들어, 추가 화학요법을 종종 배제시키는 강하게 이전 치료된 환자의 건강 조건을 고려하면 중요한 장점이다.

또한, 본 출원에 제공된 데이터는 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맙으로 이제까지 성공적으로 치료될 수 없었던 환자, 예를 들어, 내장 전이, 예를 들어, 간 및 폐 전이로 고통받는 환자에서 치료 효과를 나타낸다.

상기 발견을 기초로 하여, 본 발명은 첫번째 양태에서 HER2 양성 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 50%, 바람직하게는 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 상기 암은 전이성 암이다.

두번째 양태에서, 본 발명은 HER2 양성 신생물 질병, 특히 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만,

바람직하게는 40% 또는 그 미만, 바람직하게는 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,

a) 적어도 하나의 화학요법제;

b) 60% 또는 그 초과, 특히 70% 또는 그 초과의 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체), 또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;

c) 임의로 방사선요법; 및

d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,

상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다. 상기 암은 전이성 암 및/또는 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 예를 들어, 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는 암일 수 있다.

세번째 양태에서, 본 발명은 HER2 양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만, 바람직하게는 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 내지 0% 또는 10% 내지 3%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 상기 HER2 양성 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 전이성 암의 치료에 특히 유용하다. 또한, 상기 발견을 기초로 하여, 본 발명은 HER2 양성 전이성 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 50%, 바람직하게는 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 내지 0% 또는 10% 내지 3%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 상기 HER2 양성 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는다.

상기 논의된 바와 같이, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 전이에 대해 특히 효과적이다. 또한, 이들은 이전 치료된 및 또한 강하게 이전 치료된 환자 및 특히 전이, 특히 내장 전이, 림프절 전이 및 케양성 피부 전이로 고통받는 환자의 치료에 특히 효과적이다. 치료 효과는 단일요법으로서 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 투여하는 경우에도 관찰되었다. 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 매우 효과적인 것을 입증하였고, 신규한 효과적인 치료 스케줄이 본 발명에 의해 제공된다. 본 발명에 따른 적게 푸코실화된 항-HER2 항체의 치료 효능의 개선 정도 및 이로부터 발생하는 치료 선택은 탈푸코실화(defucosylation)시의 증가된 ADCC 활성을 입증한 현존하는 시험관내 데이터에 비추어서도 예기치 않은 것이었다. 특히, 통상적인 고도로 푸코실화된 항-HER2 항체로 정식으로 치료될 수 없는 전이로 고통받는 환자를 효과적으로 치료할 가능성은 놀라운 것이었는데, 이는 이것이 단순히 이미 존재하는 치료 효과의 개선이 아니라, 비효과적인 치료제(고 푸코스 항-HER2 항체)의 고도로 활성인 치료제(감소된 푸코스 항-HER2 항체)로의 전환을 나타내기 때문이다. 본원에 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 낮은 투여량에서도 매우 효과적이고, 전이, 예를 들어, 케양성 피부 전이, 내장 전이, 예를 들어, 폐 전이 및/또는 간 전이 및 림프절 전이를 치료할 수 있다. 또한, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 수준 2+ 또는 그 미만 및 심지어 수준 1+의 HER2의 낮은 과발현(면역조직화학에 의해 결정시)만을 갖는 HER2 양성 암에 대해서도 효과적이었다. 달성된 치료 효과는 감소된 푸코스 항체가 단일요법으로 투여되는 경우에도 매우 신속히 관찰된다. 따라서, 본 발명은 현존하는 암 요법에 대해 중요한 기여를 한다.

상기 및 이후의 개시로부터 명백해지는 바와 같이, 본 발명의 다양한 양태는 조합될 수 있다. 예를 들어, 실시예에 제시되는 바와 같이, 본 발명의 항-HER2 항체는 통상적인 암 치료에 내성이거나 난치성인 전이 및 원발성 종양을 치료하는데 사용될 수 있다. 전이성 암 및 특히 존재하는 다수의 전이로 고통받는 상기 이전 치료되고 또한 강하게 이전 치료된 환자를 성공적으로 치료할 가능성이 본 발명에 의해 이루어지는 중요한 기여이다. 또한, 본 발명의 항-HER2 항체가 수준 2+ 또는 그 미만의 HER2의 낮은 과발현을 갖는 HER2 양성 암에 대해 효과적인 것이 장점이다. 따라서, 환자가 낮은 HER2 발현 암을 갖더라도 이러한 환자에 대해 치료 선택이 제공된다.

네번째 양태에서, 본 발명은 50% 또는 그 미만, 바람직하게는 30% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 신생물 질병을 치료하기에 충분한 양으로 HER2-양성 신생물 질병으로 고통받는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, HER2-양성 신생물 질병으로 고통받는 환자의 치료 방법에 관한 것이다. 본 발명의 다른 양태의 특징 및 구체예는 또한 마찬가지로

본 발명의 치료 방법에 적용된다. 특히, HER2-양성 신생물 질병은 본원에 기재된 바와 같이 전이성 암일 수 있고/있거나, 환자는 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 이전 암 치료를 받을 수 있고/있거나, HER2-양성 신생물 질병은 본원에 기재된 바와 같이 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 발현을 갖는 HER2 양성 암일 수 있다.

[0034] 본 발명의 다른 목적, 특징, 장점 및 양태는 하기 설명 및 첨부된 청구항으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 그러나, 본 출원의 바람직한 구체예를 나타내는 하기 설명, 첨부된 청구항, 및 특정 예는 단지 예시로 제공되는 것이 이해되어야 한다. 개시된 본 발명의 사상 및 범위 내의 다양한 변화 및 변형은 하기를 읽음으로써 당업자에게 용이하게 명백해질 것이다.

[0035] 정의

[0036] 본원에서 사용되는 하기 표현은 일반적으로 이들 표현이 사용되는 문맥이 달리 나타내는 정도는 제외하고는 바람직하게는 하기 기재되는 바와 같은 의미를 갖는 것으로 의도된다.

[0037] 본원에서 사용되는 표현 "-들을 포함하다"는 이의 문자상의 의미 외에도 표현 "-로 본질적으로 구성되다" 및 "-로 구성되다"를 포함하고 특별히 이를 나타낸다. 따라서, 표현 "-들을 포함하다"는 특별히 나열된 구성요소를 "포함하는" 주체가 추가 구성요소를 포함하지 않는 구체예 뿐만 아니라 특별히 나열된 구성요소를 "포함하는" 주체가 추가 구성요소를 포함할 수 있고/있거나 추가 구성요소를 확실히 포함하는 구체예를 나타낸다. 마찬가지로, 표현 "-들을 갖다"는 표현 "-로 본질적으로 구성되다" 및 "-로 구성되다"를 또한 포함하고 특별히 나타내는 표현 "-들을 포함하다"인 것으로 이해되어야 한다.

[0038] 용어 "항체"는 특히 이황화결합에 의해 연결된 적어도 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함하는 단백질을 나타낸다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개 또는 IgM-타입 또는 IgE-타입의 항체의 경우 4개의 중쇄 불변 도메인(CH1, CH2, CH3 및 CH4)을 포함하며, 여기서 첫번째 불변 도메인 CH1은 가변 영역에 인접하고, 힌지 영역에 의해 두번째 불변 도메인 CH2에 연결될 수 있다. 경쇄 불변 영역은 단지 하나의 불변 도메인으로 구성된다. 가변 영역은 프레임워크 영역(FR)로 언급되는 더욱 보존된 영역에 산재된 상보성 결정 영역(CDR)로 언급되는 과가변성의 영역으로 추가로 나뉘어질 수 있으며, 각각의 가변 영역은 3개의 CDR 및 4개의 FR을 포함한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 효과기 세포) 및 전형적 보체계의 첫번째 구성성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 요소로의 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는, 예를 들어, 인간화, 인간 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 ADCC를 유도할 수 있다.

[0039] 특히, 항체는 임의의 서브클래스, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2를 포함하는 임의의 아이소형(isotype), 예를 들어, IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM일 수 있다. 바람직하게는, 항체는 IgG 항체이고, 더욱 바람직하게는 IgG1-항체 또는 IgG2-항체, 특히 IgG1-항체이다. 중쇄 불변 영역은 임의의 타입, 예를 들어, γ -타입, δ -타입, α -타입, μ -타입 또는 ϵ -타입 중쇄일 수 있다. 또한, 경쇄 불변 영역은 또한 임의의 타입, 예를 들어, κ -타입 또는 λ -타입 경쇄일 수 있다. 바람직하게는, 항체의 경쇄는 κ -사슬이다. 바람직하게는, 항체는 IgG 항체의 경우에서 2개의 전장 중쇄 및 2개의 전장 경쇄를 포함하는 전장 항체이다.

[0040] 항체의 항원-결합 부분은 보통 전장 또는 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유한 항체의 하나 이상의 단편을 나타낸다. 항체의 항원 결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 항체의 결합 단편의 예는 V_L , V_H , C_L 및 CH1 도메인으로 구성되는 일가 단편인 Fab 단편; 힌지 영역에서 이황화 브릿지에 의해 연결된, 각각 동일한 항원에 결합하는 2개의 Fab 단편을 포함하는 이가 단편인 F(ab)₂ 단편; V_H 및 CH1 도메인으로 구성되는 Fd 단편; 항체의 단일 아암(arm)의 V_L 및 V_H 도메인으로 구성되는 Fv 단편; V_H 도메인으로 구성되는 dAb 단편(Ward *et al.*, 1989 Nature 341:544-546); 및 분리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 항체의 "Fab 부분"은 특히 중쇄 및 경쇄 가변 영역(VH 및 VL) 및 첫번째 중쇄 및 경쇄 불변 영역(CH1 및 CL)을 포함하는 항체의 부분을 나타낸다. 항체가 상기 영역 모두를 포함하지 않는 경우에서, 용어 "Fab 부분"은 단지 항체에 존재하는 영역 VH, VL, CH1 및 CL의 것을 나타낸다. 바람직하게는, "Fab 부분"은 항체의 항원 결합 활성을 함유하는, 과파인으로 자연 항체를 분해시킴으로써 수득된 단편에 해당하는 항체의 부분을 나타낸다. 특히, 항체의 Fab 부분은 항원 결합 부위 또는 이의 항원 결합 능력을 포함한다. 바람직하게는, Fab 부분은 항체의 적어도 VH 영역을 포함한다.

[0041] 항체의 "Fc 부분"은 특히 중쇄 불변 영역 2, 3 및 적용가능한 경우 4(CH2, CH3 및 CH4)을 포함하는 항체의 부분

을 나타낸다. 항체가 상기 영역 모두를 포함하지 않는 경우에서, 용어 "Fc 부분"은 단지 항체에 존재하는 영역 CH2, CH3 및 CH4의 것을 나타낸다. 바람직하게는, Fc 부분은 적어도 항체의 CH2 영역을 포함한다. 바람직하게는, "Fc 부분"은 항체의 항원 결합 활성을 함유하지 않는, 파파인으로 자연 항체를 분해시킴으로써 수득된 단편에 해당하는 항체의 부분을 나타낸다. 특히, 항체의 Fc 부분은 Fc 수용체에 결합할 수 있고, 이에 따라, 예를 들어, Fc 수용체 결합 부위 또는 Fc 수용체 결합 능력을 포함한다. "Fc 부분"은 ADCC를 유도할 수 있다.

[0042]

중쇄 및 경쇄, 특히 이의 가변 영역의 아미노산 위치를 나타내기 위해, 케이뱃(Kabat) 넘버링 시스템이 본원에서 사용된다(Kabat, E.A. et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th edition, NIH Publication No. 91-3242). 상기 시스템에 따르면, 중쇄 가변 영역은 위치 35A, 35B, 52A 내지 52C, 82A 내지 82C 및 100A 내지 100K를 포함하는 위치 0 내지 위치 113의 아미노산 위치를 포함한다. 중쇄 가변 영역의 CDR은 케이뱃 넘버링에 따라 위치 31 내지 35B(CDR1), 50 내지 65(CDR2) 및 95 내지 102(CDR3)에 위치된다. 나머지 아미노산 위치는 프레임워크 영역 FR1 내지 FR4를 형성한다. 경쇄 가변 영역은 위치 27A 내지 27F, 95A 내지 95F 및 106A를 포함하는 위치 0 내지 109를 포함한다. CDR은 위치 24 내지 34(CDR1), 50 내지 56(CDR2) 및 89 내지 97(CDR3)에 위치된다. 항체의 특정 유전자의 최초 형성에 따르면, 상기 위치 모두가 제공된 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역에 존재해야 되는 것은 아니다. 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 내의 아미노산 위치가 본원에 언급되는 경우에서, 달리 나타내지 않는 한, 이는 케이뱃 넘버링에 따른 위치로 언급된다.

[0043]

본 발명에 따르면, 용어 "키메라 항체"는 특히 불변 영역이 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래되고, 적어도 하나 및 바람직하게는 둘 모두의 가변 영역이 비-인간 항체, 예를 들어, 설치류 항체, 예를 들어, 마우스 항체로부터 유래되는 항체를 나타낸다.

[0044]

본 발명에 따르면, 용어 "인간화된 항체"는 특히 적어도 하나의 CDR이 비-인간 항체로부터 유래되고, 불변 영역 및 가변 영역의 적어도 하나의 프레임워크 영역이 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래되는 항체를 나타낸다. 바람직하게는, 중쇄 가변 영역의 모든 CDR, 또는 더욱 바람직하게는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 모든 CDR은 비-인간 항체로부터 유래된다. 또한, 바람직하게는 중쇄 가변 영역의 모든 프레임워크 영역, 또는 더욱 바람직하게는 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 모든 프레임워크 영역은 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래된다. CDR은 바람직하게는 동일한 비-인간 항체로부터 유래된다. 하나의 가변 영역의 처음 3개 또는 모든 프레임워크 영역은 바람직하게는 동일한 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래되나, 중쇄 가변 영역의 프레임워크 영역은 경쇄 가변 영역의 프레임워크 영역과 동일한 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래되지 않아야 한다. 특히 바람직한 구체예에서, 인간화된 항체는 하나 이상의 CDR이 유래되는 비-인간 항체와 동일한 항원, 특히 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 바람직하게는, 비-인간 항체로부터 유래되는 인간화 항체의 CDR은 비-인간 항체의 CDR과 동일하다. 또한, 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래되는 인간화 항체의 프레임워크 영역은 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열의 프레임워크 영역과 동일할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 인간화 항체의 프레임워크 영역은 이들이 유래되는 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열의 프레임워크 영역과 비교하여 하나 이상의 아미노산 치환을 가질 수 있다. 치환된 아미노산 잔기는 바람직하게는 CDR 중 하나 이상의 유래되는 비-인간 항체의 상응하는 아미노산 잔기(특히, 케이뱃 넘버링에 따라 동일 위치에 존재하는 상응하는 아미노산 잔기)에 의해 대체된다. 특히, 인간화 항체의 가변 영역(중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역)의 프레임워크 영역은 바람직하게는 30개 이하의 아미노산 치환, 바람직하게는 25개 이하, 20개 이하, 15개 이하, 12개 이하, 10개 이하 또는 8개 이하의 아미노산 치환을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 인간화 항체의 중쇄 가변 영역의 모든 프레임워크 영역은 모두 합쳐 이들이 유래되는 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열의 중쇄 가변 영역의 프레임워크 영역과 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 적어도 90%의 상동성 또는 동일성을 공유한다. 또한, 인간화 항체의 경쇄 가변 영역의 모든 프레임워크 영역은 모두 합쳐 이들이 유래되는 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열의 경쇄 가변 영역의 프레임워크 영역과 바람직하게는 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 적어도 90%의 상동성 또는 동일성을 공유한다. 인간화 항체의 불변 영역은 임의의 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래될 수 있다. 특히, 중쇄 불변 영역은 임의의 타입, 예를 들어, γ -타입, δ -타입, α -타입, μ -타입 또는 ϵ -타입 중쇄일 수 있다. 인간화 항체는 따라서 임의의 서브클래스, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 또는 IgA2를 포함하는 임의의 아이소형, 예를 들어, IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM일 수 있다. 바람직하게는, 인간화 항체는 IgG1-항체 또는 IgG2-항체, 더욱 바람직하게는 IgG1-항체이다. 또한, 경쇄 불변 영역은 또한 임의의 유형, 예를 들어, κ -타입 또는 λ -타입 경쇄일 수 있다. 바람직하게는, 인간화 항체의 경쇄는 κ -사슬이다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체로서의 인간화 항-HER2 항체의 사용이 바람직하다.

[0045]

본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 모두가 인간 기원의 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 항체를 포함하는 것으로 의도된다. 또한, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우, 불변 영역은 또한 상기 인간 서열, 예를 들어, 인간 점라인 서열, 또는, 예를 들어, 문헌[Knappik, *et al.* (2000. J Mol Biol 296, 57-86)]에 기재된 바와 같은 인간 프레임워크 서열 분석으로부터 유래된 컨센서스 프레임워크 서열을 함유하는 항체의 돌연변이된 형태로부터 유래된다. 본 발명의 인간 항체는 인간 서열에 의해 인코딩되지 않는 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관내에서의 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발 또는 생체내에서의 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 중, 예를 들어, 마우스의 점라인으로부터 유래된 CDR이 인간 프레임워크 서열로 이식된 항체를 포함하는 것을 의도치 않는다. 특히, 인간 항체는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 모두가 인간 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 단일 결합 특이성을 나타내는 인간 모노클로날 항체일 수 있다. 바람직하게는, 이는 재조합 항체이고, 재조합 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나, 분리된다. 상기 재조합 인간 항체는 프레임워크 및 CDR 영역이 인간 점라인 번역글로불린 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는다. 그러나, 특정 구체예에서, 상기 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이유발에 적용될 수 있고, 이에 따라 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은 인간 점라인 V_H 및 V_L 서열로부터 유래되고 이와 관련되면서 생체내에서 인간 항체 점라인 레퍼토리 내에 자연적으로 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

[0046]

또한, 본 발명에 따른 항체는 프레임워크 또는 Fc 조작에 적용될 수 있다. 상기 조작된 항체는, 예를 들어, 항체의 특성을 개선시키기 위해 V_H 및/또는 V_L 내의 프레임워크 잔기에 대해 변형이 이루어진 항체를 포함한다. 통상적으로, 상기 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 이루어진다. 예를 들어, 한 접근법은 하나 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 점라인 서열로 "역돌연변이"시키는 것이다. 더욱 특히, 체세포 돌연변이를 겪은 항체는 항체가 유래되는 점라인 서열과 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 상기 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래되는 점라인 서열과 비교함으로써 확인될 수 있다. 프레임워크 영역 서열을 이의 점라인 형태로 복귀시키기 위해, 체세포 돌연변이는, 예를 들어, 부위-특이적 돌연변이유발 또는 PCR-매개 돌연변이유발에 의해 점라인 서열로 "역돌연변이"될 수 있다. 상기 "역돌연변이"된 항체가 또한 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어지는 변형에 더하여 또는 대안적으로, 본 발명의 항체는 통상적으로 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 예를 들어, 혈청 반감기, 보체 결합, Fc 수용체 결합, 및/또는 항원-의존성 세포 세포독성을 변경시키기 위해 Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작될 수 있다. 예를 들어, Fc 영역은 항체의 효과기 기능을 변경시키기 위해 적어도 하나의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체시킴으로써 변경될 수 있다. 예를 들어, 항체가 효과기 리간드에 대해 변경된 친화성을 갖지만, 모 항체의 항원-결합 능력을 보유하도록, 하나 이상의 아미노산이 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 친화성이 변경되는 효과기 리간드는, 예를 들어, Fc 수용체 또는 보체의 C1 구성성분일 수 있다. 한 구체예에서, 기재된 항체의 Fc 영역은 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/시키거나, 하나 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 Fc γ 수용체에 대한 항체의 친화성을 증가시키기 위해 변형된다. 상기 접근법은, 예를 들어, W000/42072호에 추가로 기재되어 있다. 또한, Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII 및 FcRn에 대한 인간 IgG1 상의 결합 부위가 맵핑되었고, 개선된 결합을 갖는 변이체가 기재되었다(Shields, R.L. *et al.*, 2001 J. Biol. Chem. 276:6591-6604 참조).

[0047]

표적 아미노산 서열은 표적 아미노산 서열이 참조 아미노산 서열의 상응하는 부분과 전장에 걸쳐 적어도 75%, 더욱 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95% 또는 적어도 97%의 상동성 또는 동일성을 공유하는 경우 참조 아미노산 서열로부터 "유래"되거나, 참조 아미노산 서열과 "상응"한다. 예를 들어, 인간화 항체의 프레임워크 영역이 특정 인간 항체의 가변 영역으로부터 유래되거나 이와 상응하는 경우, 인간화 항체의 프레임워크 영역의 아미노산은 인간 항체의 상응하는 프레임워크 영역과 전장에 걸쳐 적어도 75%, 더욱 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95% 또는 적어도 97%의 상동성 또는 동일성을 공유한다. "상응하는 부분" 또는 "상응하는 프레임워크 영역"은, 예를 들어, 표적 항체의 중쇄 가변 영역의 프레임워크 영역 1(FRH1)이 참조 항체의 중쇄 가변 영역의 프레임워크 영역 1에 상응하는 것을 의미한다. 예를 들어, FRH2, FRH3, FRH4, FRL1, FRL2, FRL3 및 FRL4에 대해서도 동일하다. 특정 구체예에서, 참조 아미노산 서열로부터 "유래"되거나 이와 "상응"하는 표적 아미노산 서열은 이의 전장에 걸쳐 참조 아미노산 서열의 상응하는 부분과 100% 상동성이거나, 특히 100% 동일하다. 아미노산 서열 또는 뉴클레오타이드 서열의 "상동성" 또는 "동일성"은 바람직하게는 참조 서열의 전장 또는 상동성 또는 동일성이 규정되는 서열에 상응하는 참조 서열의 상응하는 부분의 전장에 걸쳐 본 발명에 따라 결정된다.

[0048]

"특이적 결합"은 바람직하게는 항체와 같은 작용제가 또 다른 표적으로의 결합에 비해 특이적인 에피토프와 같

은 표적에 더 강하게 결합하는 것을 의미한다. 작용제가 두번째 표적에 대한 해리 상수(K_d)보다 낮은 해리 상수로 첫번째 표적에 결합하는 경우 두번째 표적에 비해 첫번째 표적에 더 강하게 결합한다. 바람직하게는, 작용제가 특이적으로 결합하는 표적에 대한 해리 상수는 작용제가 특이적으로 결합하지 않는 표적에 대한 해리 상수보다 100배 초과, 200배 초과, 500배 초과 또는 1000배 초과로 더 낮다.

[0049]

본원에서 사용되는 용어 "트라스투주맵"은 특히 약물 Herceptin®(Roche)에서 사용되는 바와 같은 트라스투주맵 항체의 아미노산 서열을 갖는 항체 트라스투주맵을 나타낸다. 상황이 달리 나타내지 않는 한, 항체 트라스투주맵은 또한 이의 Fc 부분 내에 약물 Herceptin(Roche)에서 사용되는 트라스투주맵 항체와 유사한 고 푸코스 당화 패턴 또는 그러한 고 푸코스 당화 패턴 자체를 가지며, 푸코실화는 적어도 60%, 특히 적어도 70%이다. 다양한 당화 패턴을 나타내는 상황은, 예를 들어, "Fuc- 트라스투주맵"에 대한 언급이다. 용어 Fuc-트라스투주맵은 특히 트라스투주맵과 동일한 에피토프에 결합하고, 약물 Herceptin®(Roche)에서 사용되는 것과 같은 트라스투주맵 항체의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 바람직하게는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 항체를 나타내지만, 여기서 Fuc- 트라스투주맵은 이의 Fc 부분 내에 약물 Herceptin®에서 사용되는 트라스투주맵 항체보다 적은 양의 푸코스를 갖고, 특히 Fc 부분 내에 50% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 바람직하게는 20% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 내지 0%의 푸코실화를 갖는다.

[0050]

본 발명에 따른 용어 "HER2" 또는 "HER2/neu"는 특히 ErbB-2 또는 CD340으로도 공지된 인간 표피 성장인자 수용체 2를 나타낸다. HER2는 세포의 리간드 결합 도메인, 막에 걸쳐 있는 도메인 및 세포내 키나제 도메인을 포함하는 수용체 티로신 키나제이다. 이의 리간드로의 결합시, HER2는 다른 ErbB 수용체와 동종이합체 또는 이종이합체를 형성하고, 이의 키나제 기능이 활성화되어, 세포내 도메인의 여러 티로신의 자가인산화를 발생시킨다. 항-HER 항체는 HER2에 특이적으로 결합할 수 있는 항체이다. 또한, 항-HER2 항체는 일반적으로 HER2 양성 인간 암세포의 증식을 억제할 수 있다.

[0051]

본원에서 사용되는 용어 "항체", 특히 "항-HER2 항체"는 특히 항체의 집단 또는 항체, 특히 항-HER2 항체의 집단을 포함하는 조성물 또는 약학적 투여에 적합한 항-HER2 항체를 포함하는 조성물을 나타낸다. 항체의 집단 또는 항체를 포함하는 조성물 내의 모든 또는 실질적으로 모든 항체는 특히 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 항체, 예를 들어, 항-HER2 항체의 당화 특징은 특히 집단 또는 조성물 내에 항체의 평균 당화를 나타낸다. 예를 들어, 본 발명에 따르면, 항체의 Fc 부분 및 이에 따른 CH2 도메인 내의 푸코스의 (백분율) 양은 특히 푸코스 잔기를 포함하는 항체 집단 또는 항체 조성물 내의 항체의 CH2 도메인 내의 해당 당화 부위에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 백분율을 나타낸다. 상기 탄수화물 사슬은 IgG-타입 항체의 중쇄의 캐이벳 넘버링에 따른 아미노산 위치 297에 해당하는 당화 부위(예를 들어, SEQ ID NO:9 내의 아미노산 위치 301)에 부착된 탄수화물 사슬을 포함한다. Asn297에서의 N-결합 당화는 포유동물 IgG뿐만 아니라 다른 항체 아이소형의 상동성 영역 내에서 보존되어 있다. 바람직하게는, 탄수화물 사슬의 환원 말단에서 GlcNAc 잔기에 대해 α 1,6-결합을 통해 결합되는 푸코스 잔기만이 고려된다. 특정 항체 중(예를 들어, 항-HER2 항체)의 CH2 도메인 내의 푸코스의 양이 언급되는 경우, CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬 및 이에 따른 항체 집단 또는 조성물 내의 상기 특정 항체 중의 항체 분자의 Fc 부분만이 푸코스의 백분율 양을 결정하기 위해 고려된다. 항체의 Fab 부분 내의 탄수화물 사슬은 존재시 고려되지 않는다. 마찬가지로, 항체의 양분성 N-아세틸글루코사민(bisGlcNAc)의 (백분율) 양은 특히 bisGlcNAc 잔기를 포함하는 항체 집단 내의 항체의 Fc 부분에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 백분율을 나타낸다. bisGlcNAc는 복합체 타입 N-글리칸 내의 중심 만노스 잔기에 부착된 GlcNAc 잔기를 나타낸다. 또한, 조성물 내의 항체의 갈락토스의 (백분율) 양은 특히 적어도 하나의 갈락토스 잔기를 포함하는 항체 집단 내의 항체의 Fc 부분에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 백분율을 나타낸다.

[0052]

본 발명에 따르면, 용어 "당화 부위"는 특히 자연 당화 효소, 특히, 글리코실트랜스퍼라제, 바람직하게는 자연 발생 포유동물 또는 인간 글리코실트랜스퍼라제에 의해 특이적으로 인지되고 당화될 수 있는 아미노산 서열을 나타낸다. 특히, 용어 "당화 부위"는 탄수화물이 결합되거나 결합될 아스파라긴 잔기를 포함하는 N-당화 부위를 나타낸다. 특히, 당화 부위는 아미노산 서열 Asn-Xaa-Ser/Thr/Cys를 갖는 N-당화 부위이며, 여기서 Xaa는 임의의 아미노산 잔기이다. 바람직하게는, Xaa는 Pro가 아니다.

[0053]

용어 "컨쥬게이트"는 특히 각각의 화합물로부터의 특성 중 적어도 일부가 컨쥬게이트 내에 보유되도록 함께 연결되는 2개 이상의 화합물을 의미한다. 연결은 공유 또는 비공유 결합에 의해 달성될 수 있다. 바람직하게는, 컨쥬게이트의 화합물은 공유 결합을 통해 연결된다. 컨쥬게이트의 다양한 화합물은 화합물의 원자 사이의 하나 이상의 공유 결합을 통해 서로 직접적으로 결합될 수 있다. 대안적으로, 화합물은 링커 분자를 통해 서로 결합

될 수 있고, 여기서 링커는 화합물의 원자에 공유적으로 부착된다. 컨쥬게이트가 2개 초과인 화합물로 구성되는 경우, 이들 화합물은, 예를 들어, 하나의 화합물이 다음 화합물에 부착된 사슬 형태로 연결될 수 있거나, 여러 화합물은 각각 하나의 중심 화합물에 부착될 수 있다.

[0054]

용어 "환자"는 특히 인간을 나타낸다.

[0055]

본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 치료될 수 있는 본 발명에 따른 용어 "HER2 양성 암"은 특히 원발성 암 또는 종양 또는 HER2/neu를 발현하는 종양을 나타낸다. HER2 양성 암은 유방암, 위암, 암종, 결장암, 이행 세포 암종, 방광암, 요로상피 종양, 자궁암, 진행성 식도 샘암종, 위 샘암종 또는 위식도 접합부 샘암종, 난소암, 폐암, 폐 샘암종, 기관지암, 자궁내막암, 신장암, 췌장암, 갑상샘암, 결장직장암, 전립선암, 뇌의 암, 자궁경부암, 착자암, 간암, 타액선암 및 악성 횡문근양 종양 및 특히 상기의 전이성 형태를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 치료되는 HER2 양성 암은 유방암, 결장암 및 방광암, 특히 전이성 유방암 및 전이성 결장암으로부터 선택된다. 가장 바람직하게는, HER2 양성 암은 유방암, 특히 전이성 유방암이다. 바람직하게는, HER2 양성 암은 HER2를 과발현하고/하거나 HER2 유전자 증폭을 나타낸다. 따라서, HER2 양성 암은 특히 HER2를 과발현하는 종양 세포 및/또는 전이성 세포를 포함하는 암이다. 바람직하게는, 암세포의 적어도 5%, 더욱 바람직하게는 적어도 10%, 적어도 25% 또는 적어도 50%는 HER2를 과발현하고/하거나 HER2 유전자 증폭을 나타낸다. HER2 양성 암은 특히 면역조직화학에 의해 결정시 적어도 수준 1+(HER2 1+), 바람직하게는 적어도 수준 2+(HER2 2+), 더욱 바람직하게는 수준 3+(HER2 3+)의 HER2 과발현을 갖는 암을 나타낸다. 특정 구체예에서, HER2 양성 암은 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+ 또는 그 미만의 HER2 발현을 갖는 암이다. 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 단지 중간 내지 적은 HER2 과발현을 나타내는 각각의 암에 대해 치료적으로 효과적이다. 이와 관련된 면역조직화학은 고정된 종양 샘플의 면역조직화학 염색 및 염색의 분석을 나타낸다. 0의 HER2 발현 수준(HER2 0)은 염색이 없거나 종양 세포의 10% 미만에서의 막 염색, 특히 세포 당 20,000개 미만의 HER2를 나타낸다. HER2 1+는 종양 세포의 10% 초과에서의 약한 막 염색을 나타내며, 여기서 세포막은 단지 부분적으로 염색되고, 특히 세포 당 약 100,000개의 HER2로 염색된다. HER2 2+는 종양 세포의 10% 초과에서의 전체 막의 약한 염색 내지 중간 염색, 특히 세포 당 약 500,000개의 HER2의 염색을 나타낸다. HER2 3+는 종양 세포의 10% 초과에서의 강한 완전한 막 염색, 특히 세포 당 약 2,000,000개의 HER2의 염색을 나타낸다. HER2 발현은 바람직하게는 암세포를 포함하는 조직학적 샘플, 특히, 포르말린-고정되고, 파라핀-포매된 암 조직 샘플을 이용하여 결정된다. HER2 과발현을 결정하는데 사용되는 면역조직화학 검정은 (i) 암세포를 포함하는 샘플과 HER2에 대한 일차 항체를 접촉시킨 후, (ii) 샘플과 일차 항체에 대해 특이적이고, 시각화 작용제, 예를 들어, 시각적 최종 산물을 갖는 반응을 촉매하는 효소, 예를 들어, 호스라디쉬 퍼옥시다제(horseradish peroxidase)에 커플링되는 이차 항체를 접촉시키는 것을 포함한다. 적합한 HER2 면역조직화학 키트는 HercepTest(Dako Denmark A/S) 및 Pathway HER2(Ventana Medical Systems, Inc.)이다. HER2 양성 신생물 질병은 또한 형광 제자리 부합법(fluorescence in situ hybridization)(FISH) 또는 크로모젠 제자리 부합법(chromogen in situ hybridization)(CISH)에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성인 암을 포함한다. 종양 세포 내의 HER2 유전자의 카피수가 염색체 17의 카피수의 적어도 2배이거나, 종양 세포가 HER2 유전자의 적어도 4개의 카피를 포함하는 경우, 암은 FISH 검정에 따라 HER2 유전자 증가에 대해 양성이다. 세포 핵 당 HER2 유전자의 적어도 5개의 카피가 종양 세포의 적어도 50%에 존재하는 경우, 암은 CISH 검정에 따라 HER2 유전자 증가에 대해 양성이다.

[0056]

"전이" 또는 "전이들"은 암세포의 본래 부위로부터 신체의 또 다른 부위로의 암세포의 확산을 의미한다. 발명의 배경에서 상기 기재된 바와 같이, 전이의 형성은 매우 복잡한 과정이며, 보통 원발성 종양으로부터의 암세포의 분리, 신체 순환 진입 및 신체 내의 다른 곳에 자리 잡아 정상 조직 내에서 성장하는 것을 포함한다. 세부 사항에 대해, 본원에 또한 적용되는 각각의 개시내용이 참조된다. 본원에 기재된 바와 같이, 푸코스 감소된 항-HER2 항체로 치료되는 HER2 양성 암은 바람직한 구체예에 따라 전이 암으로 본원에 또한 언급되는 전이성 암이다. 전이는 원격 전이일 수 있다. 전이는 특히 HER2 양성 암에 대해 상기 기재된 바와 같이 HER2 양성이며, 이는 본원에 또한 적용되는 상기 개시내용에 언급되어 있다. 본원에 기재된 바와 같은 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 성공적으로 치료될 수 있는 전이의 특정 유형은 피부 전이, 림프절 전이 및 내장 전이이다. 동의어로 사용되는 용어인 "피부 전이" 또는 "피부 전이들"은 내부 암으로부터 기원되는 피부 내에서의 암세포의 성장을 나타낸다. 피부 전이의 발달 및 특징은 본 발명의 배경에 상세히 기재되어 있으며, 이는 본원에 또한 적용되는 각각의 개시내용에 언급되어 있다. 특히, 피부 전이는 궤양성 피부 전이일 수 있다. "내장 전이" 또는 "내장 전이들"은 특히 내장, 신체의 내부 기관, 특히 흉부 내의 기관, 예를 들어, 심장 또는 폐 또는 복부, 예를 들어, 간, 췌장 또는 장에서의 전이를 나타낸다. 특히, 용어 "내장 전이"는 폐 및/또는 간에서의 전이를 나타

낸다.

[0057] 본 발명에 따른 용어 "실패한 치료" 또는 "치료 실패" 또는 관련 용어는 특히 질병의 진행을 발생시킨 암의 치료를 나타낸다. 질병의 진행은 특히 (i) 존재하는 종양의, 특히 적어도 25%까지의 추가 성장; (ii) 존재하는 유형의 하나 이상의 새로운 전이의 성장 또는 형성; (iii) 상이한 유형의 하나 이상의 추가 전이의 형성; (iii) 추가 병변의 형성 및/또는 (iv) 하나 이상의 병변의 크기의 증가를 나타낸다. 종양의 추가 성장은 특히 종양 부피의 적어도 25%까지의 증가를 나타낸다. 병변의 크기의 증가는 특히 병변 크기의 적어도 25%까지의 증가를 나타낸다.

[0058] 본 발명에 따른 용어 "성공적인 치료" 또는 "치료 성공" 또는 관련 용어는 특히 질병의 안정화, 질병의 부분적 완화 및/또는 완전한 완화를 발생시키는 HER2 양성 암 또는 전이의 치료를 나타낸다. 성공적인 치료는 바람직하게는 (i) 종양 성장의 억제; (ii) 종양 크기의 감소; (iii) 동일 유형 및/또는 상이한 유형의 추가 전이의 예방; (iv) 전이의 수의 감소; (v) 추가 병변의 예방; (vi) 병변의 수의 감소; (vii) 하나 이상의 병변의 크기의 감소; 및/또는 (viii) 동통의 감소 중 하나 이상을 포함한다. 종양 크기의 감소는 특히 종양 부피가 25 내지 50%까지 감소되는 완화, 종양 부피가 50% 초과까지 감소되는 부분적 완화, 및 종양 부피가 100%까지 감소되는 완전한 완화를 포함하는 종양 부피의 적어도 25%까지의 감소를 나타낸다. 병변의 크기의 감소는 특히 병변 크기가 25 내지 50%까지 감소되는 감소, 병변 크기가 50% 초과까지 감소되는 부분적 감소, 및 병변 크기가 100%까지 감소되는 완전한 감소를 포함하는 병변 크기의 적어도 25%까지의 감소를 나타낸다. 병변은 특히 원발성 종양 및/또는 하나 이상의 전이에 의해 야기되는 병변을 나타낸다. 병변의 특정 예는 피부 궤양, 특히 피부 전이에 의해 야기되는 피부 궤양이다. 성공적인 치료는 특히 또한 적어도 1개월, 적어도 2개월, 바람직하게는 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월 또는 적어도 1년, 더욱 더 바람직하게는 적어도 1.5년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 무진행 생존에서의 증가 및/또는 수명의 증가, 특히 무진행 생존 또는 남아있는 수명에서의 증가를 발생시키는 치료를 포함한다. "안정적 질병" 및 이에 따른 질병의 안정화는 특히 (i) 종양 및/또는 전이 부피에서의 25% 미만까지의 변화, 및 (ii) 전이의 수에서의 변화 없음을 포함한다. 성공적인 치료는 바람직하게는 적어도 1개월, 더욱 바람직하게는 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월 또는 적어도 1년, 더욱 더 바람직하게는 적어도 1.5년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 관찰 기간 동안 결정된다.

[0059] 치료 실패 뿐만 아니라 성공적인 치료는 환자 치료를 평가하기 위해 당 분야에 일반적으로 공지된 임상 및 연구 소 데이터로부터의 결과에 의해 확인된 진료의 의학적 판단을 기초로 하여 확립된다. 이러한 데이터는, 예를 들어, 임상 시험, 세포학적 및 조직학적 기술, 내시경검사법 및 복강경검사, 초음파, CT, PET 및 MRI 스캔, 흉부 x-선 및 유방촬영술로부터 취득될 수 있다. 또한, 종양 반응을 결정하기 위해 RECIST 기준이 이용될 수 있다.

[0060] 본 발명에 따른 용어 "수술"은 특히 종양, 특히 원발성 종양, 예를 들어, 유방 종양, 및/또는 하나 이상의 전이의 전부 또는 일부를 포함하는 조직의 외과적 제거(절제 또는 적출)를 나타낸다.

[0061] "애주버트 요법"은 특히 수술 후 암의 치료를 나타낸다.

[0062] "네오애주버트 요법"은 특히 수술 전의 암의 치료를 나타낸다.

[0063] "완화 요법"은 특히 암을 유의하게 감소시키는 것을 예상하지 않고 증상 관리를 다루기 위해 특별히 제공되는 암 요법을 나타낸다. 완화 의료는 불치 암과 관련된 증상을 개선시키는 것에 관한 것이다. 완화 의료의 주요 목적은 환자의 생애 나머지의 삶의 질을 개선시키는 것이다. 동통은 암과 관련된 흔한 증상 중 하나이다. 말기암 환자의 약 75%가 동통을 갖는다. 동통은 주관적 증상이고, 이에 따라 기술적 접근법을 이용하여 측정될 수 없다. 대부분의 암 환자는 이웃하는 신경, 뼈, 또는 연성 조직을 압박하는 종양 덩어리의 결과로서 또는 직접적인 신경 손상(신경병증 동통)으로부터 동통을 경험한다. 동통은 근육, 및 내부 구조, 예를 들어, 복부 내의 영향을 받은 신경으로부터 발생할 수 있다(폐쇄와 관련된 경련 유형 동통). 많은 환자는 또한 후속 시험, 치료(수술, 방사선, 및 화학요법) 및 진단 절차(즉, 생검)의 직접적 결과로서 다양한 유형의 동통을 경험한다. 치료적으로 유용한 완화 요법은 동통을 감소시킬 수 있다.

[0064] 방사선 치료로도 공지된 용어 "방사선요법"은 특히 악성 세포를 조절하거나 사멸시키기 위한 이온화 방사선의 의학적 사용을 의미한다. 방사선요법은 애주버트 및/또는 네오애주버트 요법으로서 수술과 함께 이용될 수 있거나, 예를 들어, 수술 후 종양 재발을 예방하거나 원발성 종양 또는 전이를 제거하기 위해 수술 없이 이용될 수 있다.

- [0065] 용어 "약학적 조성물" 및 유사한 용어는 특히 인간으로의 투여에 적합한 조성물, 즉, 약학적으로 허용되는 성분을 함유하는 조성물을 나타낸다. 바람직하게는, 약학적 조성물은 활성 화합물 또는 이의 염 또는 프로드러그와 함께 담체, 희석제 또는 약학적 부형제, 예를 들어, 완충제, 보존제 및 긴장성 조절제를 포함한다.
- [0066] 용어 "항체 조성물" 및 "항체를 포함하는 조성물"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 항체 조성물은 액체 또는 고체 조성물일 수 있고, 또한 동결건조되거나 재구성된 항체 조성물을 포함한다. 바람직하게는, 액체 조성물, 더욱 바람직하게는 수성 조성물이 사용된다. 바람직하게는, 이는 용매, 예를 들어, 물, pH 값을 조정하고 유지시키기 위한 완충제, 및 임의로 항체를 안정화시키거나 항체의 분해를 예방하기 위한 추가 작용제를 추가로 포함한다. 항체 조성물은 바람직하게는 적당한 양의 항체, 특히 적어도 1 fmol, 바람직하게는 적어도 1 pmol, 적어도 1 nmol 또는 적어도 1 μ mol의 항체를 포함한다. 특정 항체를 포함하는 조성물은 추가 항체를 추가로 포함할 수 있다. 그러나, 바람직하게는, 특정 항체를 포함하는 조성물은 특정 항체와 별개의 다른 항체를 포함하지 않는다. 특히, 항체 조성물 내의 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 약 100%의 항체는 동일 항원 또는 에피토프에 특이적이거나, 이에 결합한다. 따라서, 본원에서 사용되는 항체는 바람직하게는 다양한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 나타낸다. 항체 조성물은 바람직하게는 약학적 조성물이다.
- [0067] **발명의 상세한 설명**
- [0068] 본 발명의 교시내용으로 달성된 현저한 치료 결과 및 제공된 신규한 치료 선택이 이들이 언급되는 본 발명의 개요에 간단히 기재되었다. 실시예에 제시된 데이터를 기초로 하여, 본 발명은 HER2 양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암을 치료하기 위한 다양한 신규한 치료 선택을 제공하며, 이들은 또한 조합될 수 있다.
- [0069] 첫번째 양태에서, 본 발명은 전이성 HER2 양성 신생물 질병, 특히 전이성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만, 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만 또는 10% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공한다. 따라서, 본 발명은 HER2 양성 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 50%, 바람직하게는 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 상기 암은 전이성 암이다.
- [0070] 또한, 실시예에 제시된 데이터를 기초로 하여, 본 발명은 두번째 양태에서 HER2 양성 신생물 질병, 특히 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만, 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만 또는 10% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,
- [0071] a) 적어도 하나의 화학요법제;
- [0072] b) 60%, 특히 70% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체), 또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;
- [0073] c) 임의로 방사선요법; 및
- [0074] d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,
- [0075] 상기 이전 치료 a), b), c) 및 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다. 상기 신규한 치료 교시내용의 장점은 상기 기재되었고, 또한 이후에 기재된다.
- [0076] 세번째 양태에서, 실시예에 제시된 데이터를 기초로 하여, 본 발명은 HER2 양성 신생물 질병, 특히 전이성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만, 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 10% 내지 0% 또는 10% 내지 3%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 상기 HER2 양성 신생물 질병은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는다. 특히, 본 발명은 HER2 양성 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 50%, 바람직하게는 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 내지 0% 또는 10% 내지 3%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 제공하며, 상기 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는 전이성 암이다.
- [0077] 또한, 치료가 개시되며, 여기서 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,

- [0078] a) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는
- [0079] b) 60% 또는 그 초과, 바람직하게는 70% 또는 그 초과인 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체), 또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;
- [0080] c) 임의로 방사선요법; 및
- [0081] d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,
- [0082] 상기 이전 치료는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다. 개별적 치료의 바람직한 구체예가 이후에 이러한 바람직한 구체예가 언급되는 청구항에 기재된다. 실시예에 제시된 바와 같이, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 특히 다수의 전이에 대해 높은 치료 효능을 나타내고, 또한 이전 치료된 환자 및 또한 강하게 이전 치료된 환자의 성공적인 치료를 가능케 하며, 상기 암은 이전 항암 치료를 받음에도 불구하고 진행된 것이다. 또한, 본 발명의 다양한 양태는 조합될 수 있다. 예를 들어, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 개선된 항-전이 활성을 나타내고, 유리하게는 이전 항체 및/또는 화학요법 치료에 실패한 전이의 치료에 사용될 수 있다. 특히, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 피부 전이, 예를 들어, 궤양성 피부 전이 및 내장 전이, 예를 들어, 폐 및/또는 간 전이뿐만 아니라 림프절의 전이의 치료에 사용될 수 있다. 또한, 치료 효과는 IHC에 의해 결정시 낮은 HER2 과발현(1+ 및 2+)을 나타낸 HER2 양성 암으로 관찰되었고, 따라서 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 단지 1+ 또는 2+의 HER2 과발현을 나타내는 HER2 양성 암으로 고통받는 환자를 치료하는데 사용될 수 있다. 또한, 치료 효능은 단일요법 환경 및 또한 낮은 투여량에서 관찰되었다. 따라서, 본 발명은 상기에 추가로 상세히 기재된 바와 같이 중요한 신규한 치료 선택을 제공한다.
- [0083] **본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체**
- [0084] 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 예기치 않은 높은 치료 효능을 가지며, 통상적인 요법으로 치료될 수 없거나 치료될 수 없었던 환자 및 환자의 하위그룹의 치료를 가능케 한다. 확립된 항암제, 예를 들어, 고 푸코스 항-HER2 항체 및/또는 화학요법제를 이용한 치료에 내성인 전이 및 종양도 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 성공적으로 치료될 수 있다. 또한, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 단지 적거나 중간 HER2 발현(예를 들어, 또는 IHC에 의해 결정시 수준 1+ 또는 2+)을 나타내는 HER2 양성 암에 대해 치료적으로 효과적이다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 단일요법으로 투여되고 심지어 적은 투여량으로 투여되는 경우에도 치료 효과가 관찰된다.
- [0085] 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중요한 특징은 항체의 Fc 부분 내의 개선된 당화 패턴이다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 중쇄의 두번째 불변 도메인(CH2) 내에 당화 부위를 갖는 IgG 항체, 더욱 바람직하게는 IgG1 항체이다. 이러한 당화 부위는 특히 케이벳 넘버링에 따라 중쇄의 아미노산 위치 297에 상응하는 아미노산 위치이며, 아미노산 서열 모티브 Asn Xaa Ser/Thr를 갖고, 여기서 Xaa는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산일 수 있다. Asn297에서의 N-결합된 당화는 포유동물 IgG뿐만 아니라 다른 항체 아이소형의 상동성 영역 내에서 보존되어 있다. 가변성 영역에 존재할 수 있는 임의의 추가 아미노산으로 인해, 이러한 보존성 당화 부위는 SEQ ID NO:9의 아미노산 위치 301이다. 특히, 조성물 내에 포함된 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 적어도 98%에서, 적어도 하나의 CH2 도메인, 바람직하게는 둘 모두의 CH2 도메인의 당화 부위를 탄수화물 구조를 갖는다. 본원에 기재된 바와 같은 푸코실의 양은 Fc 영역 내의 상기 당화 부위에서 결정된다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 추가 당화 부위를 포함하지 않고/않거나, 가변 도메인인 CH1 도메인 및 CL 도메인 중 임의의 도메인에서 탄수화물 구조를 갖지 않는다.
- [0086] 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 50% 또는 그 미만, 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만 또는 심지어 20% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 10% 또는 그 미만인 CH2 도메인 내 당화 부위에서의 푸코스의 양을 갖고/갖거나, 비푸코실화되고, 따라서 임의의 푸코스를 포함하지 않는다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 적어도 적어도 2%, 적어도 3% 및 바람직하게는 적어도 5%의 푸코스의 잔여량을 포함한다. 용어 "푸코스의 양"은 특히 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 포함하는 조성물 내의 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 푸코스 단위를 갖는 탄수화물 사슬의 상대량을 나타낸다.
- [0087] 본원에서 사용되는 바와 같은 임의의 푸코스를 갖지 않는 항체를 포함하는 감소된 양의 푸코실화를 갖는 항-HER2 항체는 다양한 수단에 의해 획득될 수 있다. 예를 들어, 항-HER2 항체는 변경된 당화 기구를 갖는 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 변경된 당화 기구를 갖는 세포는 당 분야에 기재되어 있고, 본원에 기재된 바와 같이 Fc 영역 내에 감소된 푸코실화를 갖는 재조합 항-HER2 항체를 생성시키기 위해 숙주 세포로 사용될 수 있다.

예를 들어, EP 1,176,195호(Hang *et al.*)에는 푸코실 트랜스퍼라제를 엔코딩하는 기능적으로 붕괴된 FUT8 유전자를 갖는 세포주가 기재되어 있으며, 상기 세포주에서 발현된 항체는 저푸코실화(hypofucosylation)를 나타낸다. 따라서, 한 구체예에서, 본 발명의 조성물에 포함된 항체는 저푸코실화 패턴을 나타내는 세포주, 예를 들어, 푸코실트랜스퍼라제를 엔코딩하는 FUT8 유전자의 발현이 결핍된 포유동물 세포주에서의 재조합 발현에 의해 생성된다. W003/035835호에는 Asn(297)-연결된 탄수화물에 푸코스를 부착시키는 감소된 능력을 갖고, 또한 숙주 세포에서 발현된 항체의 저푸코실화를 발생시키는 변이체 CHO 세포주인 Lec13 세포가 기재되어 있다(또한, Shields, R.L. *et al.*, 2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740 참조). 본 발명의 조성물에 포함된 항체는 포유동물-유사 당화 패턴에 대해 조작되고, 당화 패턴으로서 푸코스 결핍 항체를 생성시킬 수 있는 효모 또는 사상진균에서 생성될 수 있다(예를 들어, EP1297172B1 참조).

[0088]

바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 감소된 푸코실화 능력을 갖거나 심지어 푸코실화 능력을 갖지 않는 인간 세포주에서의 재조합 발현에 의해 수득된다. 각각의 감소되거나 부재하는 푸코실화 능력은, 예를 들어, 푸코실화에 필요한 효소(예를 들어, FUT8 또는 GMD)의 발현을 감소시키거나, 예를 들어, 유전자 녹아웃에 의해 각각의 유전자 기능을 제거함으로써 달성될 수 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 인간 세포주, 바람직하게는 인간 혈액 세포주, 특히 인간 골수성 백혈병 세포주에서 재조합적으로 생성된다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 생성시키기 위해 사용된 세포주는 바람직하게는 감소되거나 부재하는 푸코실화 활성을 갖고/갖거나, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 항체의 감소되거나 심지어 부재하는 푸코실화를 발생시키는 조건하에서 생성된다. 본원에 기재된 바와 같이, 감소되거나 부재하는 푸코실화 활성은 푸코실화에 필요한 효소(예를 들어, FUT8 또는 GMD)의 발현 또는 활성을 조작함으로써 달성될 수 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체, 특히 Fuc- 트라스투주맙의 생성을 위해 사용될 수 있는 바람직한 인간 세포주뿐만 아니라 적합한 생성 절차는 참조로서 본원에 포함되는 WO 2008/028686 A2호에 기재되어 있다.

[0089]

또한, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 푸코실화의 수준은, 예를 들어, 푸코시다제의 시험관내 처리에 의해 세포주에 의한 이들의 생성 후에 감소될 수 있다.

[0090]

상기 논의된 바와 같이, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 당화 프로파일을 가지며, 인간 세포주, 바람직하게는 인간 골수성 백혈병 세포주에서의 발현에 의해 수득된다. 인간 당화 프로파일은 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 Fc 부분에 부착된 탄수화물 사슬의 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85% 또는 더욱 바람직하게는 적어도 90%가 복합체 유형 글리칸 구조, 바람직하게는 바이안테나리(biantennary) 복합체 유형 글리칸 구조임을 특징으로 한다. 인간 당화 프로파일을 갖는 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 특히 검출가능한 양의 N-글리코실 뉴라민산(NeuGc) 및/또는 Gal α 1,3-Gal 구조를 포함하지 않는다. 각각의 당화 구조는 비-인간 세포주, 예를 들어, 설치류 세포주에서 생성된 항체에서 발견된다. 또한, 이는 바람직하게는 α 1,6-커플링된 N-아세틸 뉴라민산(NeuAc)의 검출가능한 양을 포함한다.

[0091]

바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 고 푸코스 항-HER2 항체의 bisGlcNAc의 양보다 높은 양분성 N-아세틸글루코사민(bisGlcNAc)의 양을 포함한다. 이는 적어도 2%, 바람직하게는 적어도 5%, 적어도 8% 또는 더욱 바람직하게는 적어도 10%의 CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬 내 bisGlcNAc의 양을 포함할 수 있다. bisGlcNAc의 양은 바람직하게는 5% 내지 50%, 바람직하게는 7% 내지 40%, 더욱 바람직하게는 8% 내지 25%, 더욱 바람직하게는 10% 내지 25%의 범위 내이다. 용어 "bisGlcNAc의 양"은 특히 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 포함하는 조성물 내의 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 양분성 N-아세틸글루코사민 단위를 갖는 탄수화물 사슬의 상대량을 나타낸다. 코어 푸코스의 양을 감소시키고, 동시에 Fc 당화에서 bisGlcNAc의 양을 증가시키는 것이 종양 용해에서의 강한 증가, 강한 항-전이 효능을 나타내고, 또한 광범위한 환자 스펙트럼을 효과적으로 치료하는 것을 가능케 하는 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 제공하는 것으로 밝혀졌다.

[0092]

또한, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 55%, 적어도 60% 또는 적어도 65%의 갈락토스의 양을 포함한다. 갈락토스의 양은 바람직하게는 50% 내지 95%, 더욱 바람직하게는 55% 내지 90%, 가장 바람직하게는 60% 내지 80%의 범위 내이다. 용어 "갈락토스의 양"은 특히 갈락토실화된 탄수화물 사슬, 즉, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 포함하는 조성물 중 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 부착된 모든 탄수화물 사슬 중 적어도 하나의 갈락토스 단위를 포함하는 탄수화물 사슬의 상대량을 나타낸다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%, 더욱 바람직하게는 적어도 18% 또는 적어도 20%의 2개의 갈락토스 단위를 갖는 탄수화물 사슬의 상대량을 포함한다. 2개의 갈락토스 단위를 갖는 탄수화물 사슬의 상대량은 특히 10% 내지 50%, 바람직하게는 15% 내지 40%, 더욱 바람직하게는 18% 내지 30%의 범위 내이다.

- [0093] bisGlcNAc의 양 및/또는 갈락토스의 양은 바람직하게는 단지 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬 내 및 이에 따른 항체의 Fc 부분 내의 bisGlcNAc의 양 및 갈락토스의 양을 각각 나타낸다. 상기 기재된 바와 같은 bisGlcNAc 및 갈락토스를 포함하는 당화는 또한 인간 당화 패턴에 대한 특징이며, 상기 기재된 바와 같이 인간 세포주에서 항-HER2 항체를 발현시킴으로서 획득될 수 있다.
- [0094] 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 IgG 항체, 더욱 바람직하게는 IgG1 항체이다. 이는 이의 표적 에피토프에 특이적으로 결합하는 능력 및 Fc γ 수용체, 특히 Fc γ 수용체 IIIa에 결합하는 능력을 갖는다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 항체-의존성 세포 세포독성(ADCC) 반응을 유도할 수 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 강한 ADCC를 유도할 수 있다. 특히, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 시험관 내 ADCC 검정, 특히 하기 실시예 15에 기재되는 바와 같은 ADCC 검정으로 결정시 ADCC를 유도하는데 있어서 고 푸코스 항-HER2 항체보다 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 5배, 적어도 7배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배 또는 적어도 50배 더 효능이 있다. 본원에 제시된 바와 같이, Fuc- 트라스투주맵(본 발명)과 Fuc+ 항체(종래)를 비교하는 경우 ADCC 항-종양 활성의 10-140배까지의 개선이 관찰되었다. ADCC를 유도하는데 있어서의 더 높은 효능은 고 푸코스 항-HER2 항체와 비교하여 동일 수준의 ADCC(예를 들어, 용해된 표적 세포의 비), 바람직하게는 고 푸코스 항-HER2 항체의 최대 용해의 95%에서의 동일한 특이적 용해를 유도하기 위해 X배 더 낮은 농도의 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 필요한 것을 나타낸다. 예를 들어, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 5배 더 낮은 농도에서 동일 수준의 ADCC를 유도하는 경우, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 ADCC를 유도하는데 있어서 고 푸코스 항-HER2 항체보다 5배 더 효능이 있다. 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용하는 경우 동일 ADCC 반응을 위해 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체에 비해 10 내지 140배 덜한 항체 농도가 필요하였다. 대안적으로, ADCC를 유도하는데 있어서의 더 높은 효능은 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 농도, 바람직하게는 10 ng/ml에서 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 의해 유도된 X배 더 높은 ADCC 수준(예를 들어, 용해된 표적 세포의 비)을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 동일 항체 농도에서 고 푸코스 항-HER2 항체보다 5배 높은 수준의 ADCC를 유도하는 경우, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 ADCC를 유도하는데 있어서 고 푸코스 항-HER2 항체보다 5배 더 효능이 있다. ADCC를 유도하는데 있어서의 X배 더 높은 효능은 Fc γ RIIIa-158F/F 동종이형을 갖는 공여체의 효과기 세포, 또는 Fc γ RIIIa-158V/V 동종이형을 갖는 공여체의 효과기 세포, 또는 Fc γ RIIIa-158F/V 동종이형을 갖는 공여체의 효과기 세포로 유도된 ADCC를 나타낸다. 바람직하게는, ADCC를 유도하는데 있어서의 X배 더 높은 효능은 다양한 Fc γ RIIIa 동종이형의 각각에 대해 유도된 ADCC의 평균으로 결정된다. 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항체는 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체와 비교하여 낮은 HER2 과발현을 특징으로 하는 암세포 상에서 더욱 더 현저한 효과인 더 높은 ADCC를 일반적으로 나타낸다. 따라서, 항-HER2 항체는 모든 ADCC 수용체 동종이형에서 ADCC를 효과적으로 매개할 수 있고, 또한 이러한 효과는 낮은 HER2 발현 종양(IHC에 의해 결정시 1+)으로 관찰되었다.
- [0095] 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 중쇄 가변 영역(VH) 및 CH2 도메인, 더욱 바람직하게는 도메인 VH, CH1, CH2 및 CH3를 포함한다. 또한, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 경쇄 가변 영역(VL), 바람직하게는 도메인 VL 및 VH를 포함한다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함할 수 있다. 이는 바람직하게는 재조합 모노클로날 항체, 예를 들어, 인간, 인간화 또는 키메라 항체이고, 바람직하게는 인간화 항체이다.
- [0096] 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 ADCC를 매개하고, 바람직한 구체예에 따르면 HER2/neu의 세포의 부분, 특히 HER2/neu의 도메인 IV에 특이적으로 결합할 수 있고, 다음과 같은 활성 중 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 모두를 갖는다: (i) 이는 HER2에 대한 리간드 결합을 차단할 수 있고/있거나, (ii) 이는 HER2/neu의 활성, 특히 HER2/neu의 키나제 활성을 차단할 수 있고/있거나, (iii) 이는 특히 세포로의 HER2/neu의 내재화를 유도함으로써 세포 표면에서 HER2/neu의 양을 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 상기 언급된 특징 모두를 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 항체 트라스투주맵과 상호특이성을 나타내고, 특히 항체 트라스투주맵과 동일한 에피토프에 결합한다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 트라스투주맵과 동등하나, 개선된 당화로 인해 증가된 ADCC 매개 항-종양 특성을 나타낸다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 트라스투주맵과 동일한 중쇄 및 바람직하게는 또한 경쇄 CDR 서열을 포함한다. 특히, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중쇄 및 바람직하게는 또한 경쇄의 전체 아미노산 서열은 트라스투주맵의 상응하는 아미노산 서열과 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나 적어도 97% 동일하다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 아미노산 서열은 트라스투주맵의 상응하는 아미노산 서열로부터 유래된다.

[0097]

특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 상보성 결정 영역(CDR) CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR-H1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-H2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-H3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중쇄 가변 영역은 상기 CDR 서열 3개 모두를 포함하고, 특히 SEQ ID NO:7의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR-L1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-L2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-L3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 경쇄 가변 영역은 상기 CDR 서열의 3개 모두를 포함하고, 특히 SEQ ID NO:8의 아미노산 서열을 포함한다. 또한, 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 SEQ ID NO:7의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및/또는 SEQ ID NO:8의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중쇄(들)은 SEQ ID NO:9의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:9와 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 또한, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 경쇄(들)은 바람직하게는 SEQ ID NO:10의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:10과 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 상기 기재된 바와 같이, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 트라스투주맵과 동등하다.

[0098]

특정한 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 SEQ ID NO:7의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 추가로 SEQ ID NO:8의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는다.

[0099]

한 구체예에 따르면, 감소된 항-HER2 항체는 ADCC를 매개하고, HER2에 특이적으로 결합할 수 있고, HER2/neu의 이합체화, 특히 HER2/neu와 표피 성장인자 수용체 패밀리의 다른 일원, 예를 들어, HER1, HER3 및 HER4의 이중 이합체화를 차단할 수 있다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 항체 퍼투주맵과 상호특이성을 나타내고, 특히 항체 퍼투주맵과 동일한 에피토프에 결합한다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 퍼투주맵과 동일한 중쇄 및 바람직하게는 또한 경쇄 CDR 서열을 포함한다. 특히, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중쇄 및 바람직하게는 또한 경쇄의 전체 아미노산 서열은 퍼투주맵의 상응하는 아미노산 서열과 적어도 80% 동일하거나, 바람직하게는 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 아미노산 서열은 퍼투주맵의 상응하는 아미노산 서열로부터 유래되고, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 퍼투주맵과 동등하나, 본원에 기재된 개선된 당화로 인해 증가된 ADCC 매개 항-종양 특성을 나타낸다.

[0100]

한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 추가 작용제, 예를 들어, 치료적 활성 물질에 컨쥬게이션된 항체를 포함하는 컨쥬게이트이다. 추가 작용제는 바람직하게는 암의 치료 및/또는 모니터링에 유용하다. 예를 들어, 추가 작용제는 방사성핵종, 화학요법제, 항체, 특히 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 종 및/또는 상이한 특이성의 항체, 효소, 상호작용 도메인, 검출가능한 표지, 독소, 세포독성 성분, 면역조절물질, 면역억제제(immunoeffector), MHC 클래스 I 또는 클래스 II 항원, 방사성동위원소 및 리포솜으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 포함하는 경우 추가 작용제는 특히 융합 또는 화학적 커플링에 의해 공유적으로 항체에 부착될 수 있거나, 비공유적으로 항체에 부착될 수 있다. 특정한 바람직한 추가 작용제는 방사성핵종 또는 암세포를 사멸시킬 수 있는 세포독성제, 예를 들어, 화학요법제, 특히 본원의 다른 곳에 기재된 것이다. 추가 작용제로서 컨쥬게이션될 수 있는 화학요법제의 특정 예는 알킬화제, 예를 들어, 시스플라틴, 항대사물질, 식물 알칼로이드 및 테르페노이드, 빈카 알칼로이드(vinca alkaloids), 포도필로톡신(podophyllotoxin), 타산, 예를 들어, 타솔, 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan) 및 토포테칸(topotecan), 또는 항신생물제, 예를 들어, 독소루비신(doxorubicin)을 포함한다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 본원에 기재된 화학요법제 및/또는 항체 중 임의의 것에 컨쥬게이션될 수 있다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 치료적으로 활성인 물질인 추가 작용제에 컨쥬게이션되지 않는다. 실시예에서 또한 이용된 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 추가 작용제에 컨쥬게이션되지 않는다.

[0101]

감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료

[0102]

실시예에 제시된 임상 데이터에서 입증된 바와 같이, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 특히 높은 항-전이 활성을 나타내며, 따라서 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체로 치료될 수 없거나 치료될 수 없었던 전이의 치료를 가능케 한다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 단일 치료제로서 사용되는 경우에도 본원에 특별히 규정된 환자 그룹에서 예기치 않은 높은 치료 효능을 나타낸다. 전이성 암을 포함하는 암의 성공적인 치료 외에도, 본 발명의 항-HER2 항체는 수준 1+ 또는 2+(IHC에 의해 결정시)의 HER2 발현을 갖는 HER2 양성 암의 치료 및/또는 강하게 이전 치료된 환자를 포함하는 본원에 기재된 바와 같은 이전 치료된 환자의 치료를 가능케 한다. 특히, 전이의 치료, 예를 들어, 특히 케양성 피부 전이, 림프절 전이 및 내장 전이, 예를 들어, 폐 및 간 전이의 치료에서 현저한 효과가 관찰되었다. 이들 효과는 또한 항암제, 예를 들어, 화학요법제 및/또는 항체 요법, 특히 항-HER2 항체를 이용한 이전 치료가 실패한 강하게 이전 치료된 환자에서 관찰되었다. 따라서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 강하게 이전 치료된 환자에서도 단일요법으로서의 치료를 위해 사용될 수 있다. 단일요법으로서 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용하는 것은 단지 작은 부작용이 예상될 수 있으면서 치료적 효과가 달성될 수 있는 장점을 갖는다. 이는 진행된 전이성 암을 갖는 환자를 치료하는 경우에 장점이며, 여기서 상기 질병은 화학요법 및/또는 항체 요법의 다수의 라인(line)을 이용한 이전 치료에도 불구하고 진행되었는데, 이는 상기 환자 그룹이 종종 불량한 건강 상태이고, 이에 따라 추가 공격적 치료에서 배제되기 때문이다.

[0103]

그러나, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 또한 조합요법으로 사용될 수 있으며, 여기서 암은 환자에 대한 치료 이익을 추가로 개선시키기 위해 하나 이상의 항암 치료제, 예를 들어, 화학요법제 또는 추가의 항암 항체로 추가로 치료된다. 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 적은 투여량, 특히 통상적인 고 푸코스 항-HER2 항체보다 적은 투여량에서 효과적임에 따라, 상기 조합요법은 특히 강하게 이전 치료된 환자에서 다시 신규하고 유용한 치료 선택을 제공한다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 하나 이상의 항암제, 예를 들어, 화학요법제 및/또는 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 하나 이상의 추가 항체와 조합하여 사용된다. 여기서, 고 푸코스 항-HER2 항체, 특히 트라스투주맙에 대해 확립된 조합요법이 사용될 수 있다. 상기 치료는 또한 방사선요법과 조합될 수 있다.

[0104]

감소된 푸코스 항-HER2 항체와 조합하여 사용될 수 있는 항암제는 임의의 화학요법제, 특히 HER2 양성 암의 치료에 효과적인 것으로 공지된 화학요법제로부터 선택될 수 있다. 특히, 트라스투주맙(Herceptin®)에 대해 사용되는 항암제와의 조합물이 바람직하다. 조합 파트너는 타산, 예를 들어, 파클리탁셀(Taxol), 도세탁셀(Taxotere) 및 SB-T-1214; 사이클로포스파미드; 라파티니브(lapatinib); 카페시타빈(capecitabine); 시타라빈(cytarabine); 비노렐빈(vinorelbine); 베바시주맙(bevacizumab); 겔시타빈(gemcitabine); 마이탄신(maytansine); 안트라사이클린(anthracyclines), 예를 들어, 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 발루비신(valrubicin) 및 미톡산트론(mitoxantrone); 아로마타제(aromatase) 억제제, 예를 들어, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스토락톤(testolactone)(Teslac), 아나스트로졸(anastrozole)(Arimidex), 레트로졸(letrozole)(Femara), 엑세메스탄(exemestane)(Aromasin), 보로졸(vorozole)(Rivizor), 포르메스탄(formestane)(Lentaron), 파드로졸(fadrozole)(Afema), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온(ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온(6-OXO); 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan), 토포테칸(topotecan), 캄프토테신(camptothecin), 라멜라린 D(lamellarin D), 에토포시드(etoposide)(VP-16), 테니포시드(teniposide), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 미톡산트론(mitoxantrone), 암사크린(amsacrine), 엘립티신(ellipticines), 아우린트리카르복실산(aurintricarboxylic acid) 및 HU-331; 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스-디아민디클로로백금(II)(시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이토)백금(II)(카르보플라틴) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II)(옥살리플라틴), 및 항대사물질, 특히, 항폴린산제, 예를 들어, 메토틱세이트(methotrexate), 페메트렉세드(pemetrexed), 랄티트렉세드(raltitrexed) 및 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 피리미딘 유사체, 예를 들어, 플루오로우라실(fluoruracil), 겔시타빈(gemcitabine), 플록스우리딘(floxuridine), 5-플루오로우라실 및 테가푸르(tegafur)-우라실, 및 퓨린 유사체, 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 및 에스트로겐 수용체 하향조절제로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 조합요법으로 사용되는 경우, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 타산, 예를 들어, 파클리탁셀(Taxol), 도세탁셀(Taxotere)과 조합하여 사용된다. 이는 특히 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 트라스투주맙에 해당하는 경우, 예를 들어, 트라스투주맙과 동일한 CDR 서열, 특히 동일한 전체 서열을 갖는다. 여기서, 기본적으로, 조합요법으로 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맙을 이용하는 경우 종래에서 사용되는 것과 동일한 조합 스케줄 및 투여 계획이 이용될 수 있다. 확립된 트라스투주맙 요법을 기초로 한

감소된 푸코스 항-HER2 항체의 적합한 조합은 하기와의 조합요법을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다:

(i) 치료 요법의 일부로서, 독소루비신, 사이클로포스파미드, 및 파클리탁셀 또는 도세탁셀을 포함함;

(ii) 도세탁셀 및 카르보플라틴;

(iii) 파클리탁셀;

(iv) 시스플라틴, 카페세타빈(capecetabine) 또는 5-플루오로우라실.

감소된 푸코스 항-HER2 항체는 안트라사이클린 요법에 후속하여 이용될 수 있다.

또한, 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 대한 조합 파트너로서 치료 항체가 이용될 수 있다. 이는 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 암 요법에서 유용한 임의의 항체일 수 있다. 특히, 추가 항체가 미국식품의약국(U.S. Food and Drug Administration)(FDA), 유럽의약품청(the European Medicines Agency)(EMA, 이전에는 EMEA) 및 독일의약의료협회(the Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte)(BfArM)와 같은 기관에 의해 암 치료에 대해 승인되어 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체와의 조합 치료에 사용될 수 있는 추가 항체의 예는 항-HER2 항체, 예를 들어, 퍼투주맵(감소된 푸코스 항-HER2 항체가 트라스투주맵과 상호특이성을 나타내고, 바람직하게는 감소된 푸코스 트라스투주맵 항체인 경우에 특히 적합함), 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세툽시맵(Erbitux), 파니투모맵(Vectibix) 및 니모투주맵(Theraloc); 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin); 항-CD52 항체, 예를 들어, 알렘투주맵(Campath); 항-CD30 항체, 예를 들어, 브렌텍시맵(Adcetris); 항-CD33 항체, 예를 들어, 켄투주맵(Myloctarg); 및 항-CD20 항체, 예를 들어, 리툽시맵(Rituxan, Mabthera), 토시투모맵(Bexxar) 및 이브리투모맵(Zevalin)이다.

본원에 제시된 데이터는 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 성공적이고/이거나 동등한 투여 요법을 이용한 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료보다 더 효과적인 것을 입증한다. 본원에 제시된 데이터에 의해 제시되는 바와 같이, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 성공한 반면, 또 다른 항체, 특히, 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맵을 이용한 치료는 실패하였다. 이러한 치료 성공은 원발성 암뿐만 아니라 수준 2+ 또는 1+(IHC에 의해 결정시)의 HER2 발현을 갖는 전이 및 암의 치료에서도 관찰된다. 이러한 효과는 동등한 투여 요법 또는 심지어 더 낮은 투여량을 이용하는 경우에도 관찰된다.

본 출원에 제시된 데이터는 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 Fc γ 수용체의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158V/V)인 환자에 대해 성공적이고, 또한 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료보다 상기 환자에 대해 더욱 효과적일 수 있음을 나타낸다. 또한, 제시된 데이터는 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)인 환자 및 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)인 환자에 대해 성공적이고, 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료보다 상기 환자에 대해 더욱 효과적인 것을 나타낸다. 또한, 데이터는 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 모든 Fc γ 수용체 IIIa 동종이형, 특히 모든 F 동종이형(F/F 및 F/V)의 환자의 치료에 성공적으로 사용될 수 있고/있거나, 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료보다 상기 환자에 대해 더욱 효과적인 것을 나타낸다. 이에 의해, 본 발명은 환자, 특히 전이성 암으로 고통받는 강하게 이전 치료된 환자에 대해 개선된 요법을 제공하는데 유의하게 기여하는데, 이는 본 발명에 따른 치료가 일반적으로 낮은 생존 확률 및 제한된 치료 선택을 갖는 상기 환자 그룹의 모든 일원에 이용가능하기 때문이다.

또한, 본원에 교시된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 강한 HER2 과발현(예를 들어, IHC에 의해 결정시 3+, 예를 들어, 세포 당 약 1×10^6 분자를 갖는 SK-BR-3으로 실시된 실시예 참조)을 나타내는 암 세포뿐만 아니라 낮은 HER2 발현(예를 들어, IHC에 의해 결정시 1+ 또는 2+, 예를 들어, 약 3.5×10^4 분자/세포를 갖는 MCF-7 세포로 실시된 실시예 참조)을 나타내는 암 세포에 대해 향상된 ADCC 반응을 나타낸다. 따라서, 더욱 많은 환자, 특히 1+ 또는 2+이고, 특히 F/F 또는 F/V 동종이형을 갖는 전이성 암을 포함하는 HER2 양성 암으로 고통받는 환자가 본원에 기재된 신규한 치료로부터 이익을 얻을 것이다.

본원에 제공된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 HER2 양성 원발성 종양, HER2 양성 재발성 종양 및/또는 상기 종양의 HER2 양성 전이의 치료를 위한 것으로, 특히 수술 전, 수술 동안 또는 수술 후의 치료에 유용하고, 전이의 예방 또는 치료를 위한 것이다. 본 발명에 의해 입증되는 바와 같이, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 전이, 예를 들어, 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 림프절 전이, 및 내장 전이, 예를 들어, 폐 전이 및 간 전이의 예방을 포함하는 치료에 특히 유용하다. 본원에 제공된 데이터에 의해

제시되는 바와 같이, 본원에 기재된 바와 같은 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 HER2 양성 종양 또는 전이에 의해 야기된 병변의 치료, 특히 피부 병변, 예를 들어, 피부 궤양형성 또는 림프절 병변의 치료에 성공적으로 이용될 수 있다. 또한, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 동통의 치료에 사용될 수 있고, 이에 따라 불치성 암을 갖는 환자에 대한 완화 요법으로 사용될 수 있는 것이 관찰되었다.

[0115] 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 특히 애쥬번트 요법으로서 환자의 치료를 위한 것이다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 네오애쥬번트 요법 또는 조합된 네오애쥬번트-애쥬번트 요법으로서 환자의 치료를 위한 것이다. 또한, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 완화 요법으로서 환자의 치료를 위한 것이다.

[0116] 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 본원에 교시된 바와 같은 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 치료적으로 성공적이며, 특히 종양 또는 전이 완화 또는 질병의 안정화를 발생시킬 수 있다. 특히, 분석된 강하게 이전 치료된 환자에서, 적어도 질병의 안정화 및 부분적 반응이 관찰되었고, 이는 기본적으로 치료 선택이 없거나 단지 제한된 치료 선택을 갖는 강하게 이전 치료된 환자의 환자 그룹에서 중요한 성공이었다. 특히, 실시예는 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 종양 성장의 억제, 종양 크기의 감소, 추가 전이(동일하거나 상이한 유형)의 예방 및/또는 전이의 수 또는 크기의 감소를 발생시킬 수 있는 것을 나타낸다. 특히, 원발성 종양 및/또는 전이에 의해 야기된 병변의 임상적 감소가, 특히 피부 전이, 예를 들어, 궤양성 피부 전이, 림프절 전이 및 내장 전이, 예를 들어, 폐 및 간 전이와 관련하여 관찰되었다. 종격 선병증의 감소가 또한 관찰되었다. 본 발명의 치료로 수득된 치료 효과로 인해, 환자의 무진행 생존 및/또는 수명 증가가 달성될 수 있다.

[0117] 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 본원에 교시된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 매우 효과적이고, 따라서 치료 반응이 신속히 관찰된다. 이는 전이성 암으로 고통받는 환자 그룹뿐만 아니라 다수의 이전 치료가 실패한 강하게 이전 치료된 환자의 환자 그룹에서 중요한 장점이다. 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 본원에 교시된 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 또한 다수의 이전 치료가 실패한 전이성 암으로 고통받는 환자 그룹을 치료하는데 사용될 수 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료의 치료 효과, 특히 적어도 부분적 반응은 바람직하게는 적어도 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 두번째 투여 후, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 첫번째 투여 후에 이미 수득된다. 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 궤양성 피부 전이의 상당한 감소가 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 첫번째 치료 후에 관찰되었다. 특정 구체예에서, 치료 효과는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 첫번째 투여 후 8주 또는 그 미만, 바람직하게는 7주 또는 그 미만, 6주 또는 그 미만, 5주 또는 그 미만, 4주 또는 그 미만, 3주 또는 그 미만 또는 2주 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 1주 또는 그 미만 후에 수득된다.

[0118] **이전 치료**

[0119] 본 발명자는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 다수의 이전 항암 치료, 특히 화학요법제 및/또는 다른 항암 항체, 특히 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 이전 치료에 실패한 환자에서도 높은 치료 효능 및 임상적 성공을 나타내는 것을 발견하였다. 관찰된 효과는 현저한데, 이는 질병이 진행되고, 특히 전이가 진행된 경우에 암 요법이 더욱 실패하기 쉽기 때문이다. 다수의 치료 후, 암 세포는 고도로 돌연변이되고, 이에 의해 더욱 용이하게 치료를 회피할 수 있다. 또한, 종양 부하, 즉, 환자에서의 종양 세포의 수는 질병이 진행함에 따라 증가한다. 더 많은 종양 세포 수에서, 약간의 종양 세포의 사멸보다 남아있는 종양 세포의 증식이 우세할 수 있다. 전이의 발달도 동일하게 적용된다. 그러므로, 강하게 이전 치료된 환자, 특히 널리 확산된 전이를 갖는 환자에서 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 제시된 치료 효과는 인상적이고 예기치 않은 것이며, 또한 신규한 환자 그룹에 대해 신규한 치료 선택을 제공한다.

[0120] 상기 발견에 비추어, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 HER2 양성 신생물 질병의 하나 이상의 이전 치료를 받은 환자에서 HER2 양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암의 치료에 적합하다. 한 구체예에 따르면, 상기 HER2 양성 신생물 질병, 특히 상기 HER2 양성 암은 전이성이다. 신생물 질병의 이전 치료는 하나 이상의 화학요법제를 이용한 치료, 방사선 치료(방사선요법), 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 하나 이상의 치료 항체를 이용한 치료, 특히 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 대한 효능과 관련하여 상응하는 하나 이상의 고 푸코스 항체를 이용한 치료(예를 들어, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 트라스투주맵과 동등함) 및 상기 치료 중 2개 이상의 조합을 포함한다. 특히, 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맵을 이용한 적어도 하나의 이전 치료는 단일요법 또는 조합요법으로 발생한다.

[0121] 또한, HER2 양성 신생물 질병은 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전 수술에 의해 치료될 수 있다. 특히, 환자의 이전 치료는 암 수술, 바람직하게는 원발성 종양 및/또는 전이의 적어도 일부의 수술적 제거를 포

함하였다.

[0122] 바람직한 구체예에서, 환자는 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전 2회 이상, 바람직하게는 3회 이상, 더욱 바람직하게는 4회 이상, 5회 이상, 6회 이상, 7회 이상 또는 8회 이상의 이전 항암 치료에 적용되었다. 이전 치료는 바람직하게는 단독으로 또는 추가 요법, 예를 들어, 하나 이상의 화학요법제 및/또는 방사선요법 및/또는 HER2와 상이한 항원에 대해 특이적인 하나 이상의 추가 항체와 조합한 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 특히 트라스투주맙을 이용한 적어도 하나의 치료를 포함한다. 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 이전 치료는 또한 추가 작용제, 예를 들어, 특히 화학요법제, 예를 들어, 마이탄신에 컨쥬게이션되는 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맙의 사용을 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 이전 치료에 사용되었던 고 푸코스 항-HER2 항체는 추가 작용제에 컨쥬게이션되지 않았다. 한 구체예에 따르면, 비당화된 항-HER2 항체가 이전 치료에서 사용되었다.

[0123] 특정 구체예에서, 환자는 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개 또는 적어도 10개의 상이한 항암제, 예를 들어, 화학요법제 및/또는 치료 항체로 치료된 적이 있다.

[0124] 이전 치료 중 하나 이상, 특히 모두는 실패하였고, 이전 치료 후에 HER2 양성 암이 재발되거나 진행되었다.

[0125] *이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체*

[0126] 본 발명의 바람직한 양태 및 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 환자의 치료가 실패한 후에 사용된다. 고 푸코스 항-HER2 항체에 관한 세부사항 및 이의 특정 구체예는 상기에 이미 기재되었다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체 및 고 푸코스 항-HER2는 동일한 항체를 기초로 하며, 따라서 특히 동일한 항원에 결합하고, 동일한 CDR 영역을 포함하지만, Fc 영역 내에서의 이들의 당화, 특히 이들의 푸코스의 양에서 서로 상이하다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 적은 양의 푸코스를 갖고, 더 강한 ADCC 반응을 매개할 수 있다. 또한, 이는 바람직하게는 상기 기재된 바와 같이 많은 양의 bisGlcNAc를 갖는다.

[0127] 고 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 65% 또는 그 초과, 70% 또는 그 초과, 또는 75% 또는 그 초과인 이의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는다. 각각의 고 푸코스 항체는 표준 세포주, 예를 들어, CHO 세포 또는 SP2/0 세포에서 항체를 생성시키는 경우에 수득된다. 예를 들어, CHO 세포에서 생성되는 항체 트라스투주맙 (Herceptin®)은 CH2 도메인에 부착되는 탄수화물 사슬 내에 70% 초과인 푸코스를 갖는 고 푸코스 항-HER2 항체이다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 CH2 도메인 내의 푸코스의 양은 고 푸코스 항-HER2 항체의 CH2 도메인 내의 푸코스의 양보다 적어도 20 퍼센트 포인트, 바람직하게는 적어도 30 퍼센트 포인트, 더욱 바람직하게는 적어도 40 퍼센트 포인트, 적어도 50 퍼센트 포인트 또는 적어도 60 퍼센트 포인트, 또는 심지어 적어도 70 퍼센트 포인트 더 낮다. 예를 들어, 고 푸코스 항-HER2 항체가 70%의 푸코스 함량을 갖고, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 60 퍼센트 포인트 낮은 푸코스 함량을 갖는 경우, 이는 10%의 푸코스 함량을 갖는다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 비푸코실화되고, 푸코스를 포함하지 않는다.

[0128] 추가 구체예에서, 환자의 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체는 10% 또는 그 미만, 7% 또는 그 미만 또는 5% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 3% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 bisGlcNAc의 양을 갖거나, bisGlcNAc를 포함하지 않는다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 bisGlcNAc의 양은 바람직하게는 고 푸코스 항-HER2 항체의 bisGlcNAc의 양보다 적어도 5 퍼센트 포인트, 더욱 바람직하게는 적어도 7 퍼센트 포인트, 가장 바람직하게는 적어도 10 퍼센트 포인트 더 높다. 또한, 고 푸코스 항-HER2 항체는 70% 또는 그 미만, 60% 또는 그 미만 또는 55% 또는 그 미만, 특히 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 갈락토스의 양을 포함할 수 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 갈락토스의 양은 바람직하게는 고 푸코스 항-HER2 항체의 갈락토스의 양보다 적어도 10 퍼센트 포인트 더 높고, 더욱 바람직하게는 적어도 15 퍼센트 포인트 더 높거나 적어도 20 퍼센트 포인트 더 높고, 가장 바람직하게는 적어도 25 퍼센트 포인트 더 높다.

[0129] 고 푸코스 항-HER2 항체는 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 동일한 항체 유형이고, 특히 IgG 항체, 바람직하게는 IgG1 항체이다. 바람직하게는, 고 푸코스 항-HER2 항체는 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있고/있거나 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상호특이성을 나타낼 수 있다. 특정 구체예에서, 고 푸코스 항-HER2 항체는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 상응하는 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 100% 동일한 중쇄 및/또는 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. 특히, 중쇄 CDR 및/또는 경쇄 CDR의 아미노산 서열은 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 CDR의 상응하는 아미노산

서열과 동일하다. 바람직한 구체예에서, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체는 항체 트라스투주맵(Herceptin)이거나, 항체 트라스투주맵과 상호특이성을 나타낸다.

[0130] 한 구체예에 따르면, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체는 리간드 결합 및/또는 HER2/neu의 이합체화, 특히 HER2/neu와 표피 성장인자 수용체 패밀리의 다른 일원, 예를 들어, HER1, HER3 및 HER4의 이종이합체화를 차단할 수 있다. 특정 구체예에서, 고 푸코스 항-HER2 항체는 항체 퍼투주맵(Omnitarg)이거나, 항체 퍼투주맵과 상호특이성을 나타낸다.

[0131] 한 구체예에 따르면, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 에피토프와 상이한 HER2의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 이러한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체 및 고 푸코스 항-HER2 항체는 상이한 CDR 서열을 갖는다. 한 구체예에 따르면, 이들은 이들의 작용 방식에 있어서 적어도 하나의 차이를 갖는다.

[0132] 고 푸코스 항-HER2 항체는 완전 항체 또는 항체의 단편 또는 유도체일 수 있다. 상기 한 구체예에 기재된 바와 같이, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체는 추가 치료제에 컨쥬게이션될 수 있다. 적합한 치료제의 예는 방사선헌종 및 화학요법제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 화학요법제, 예를 들어, 마이타신이다. 한 구체예에 따르면, 고 푸코스 항-HER2 항체는 컨쥬게이트가 아니다. 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 이전 치료는 단일요법이거나, 하나 이상의 화학요법제 및/또는 하나 이상의 추가 항체 및/또는 방사선요법과 함께 조합요법일 수 있다. 적합한 화학요법제 및 추가 항체는 본원의 다른 곳에 기재된 것이다.

[0133] 실시예에 제시되는 바와 같이, 본 발명에 따라 사용되는 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 이전 치료 및 또한 효과적인 치료 환경에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체보다 높은 치료 효능을 가지며, 상기 고 푸코스 항체는 어떠한 효과도 나타내지 않았다. 치료 효과 및 치료가능한 환자 그룹의 세부사항은 본원의 다른 곳에 기재되어 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 치료 효능은 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일한 용량이나, 덜한 빈도로 투여되는 경우 및/또는 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 빈도이나 더 적은 용량으로 투여되는 경우에도 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체의 치료 효능보다 여전히 높은 것이 또한 관찰되었다. 따라서, 유리하게는, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용하는 경우 투여량은 낮아질 수 있고, 치료 주기는 연장될 수 있다.

[0134] 추가 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 당화되지 않은 항-HER2 항체를 이용한 환자의 치료가 실패한 후에 이용된다. Fc 부분에서 임의의 당화를 갖지 않는 항체는 Fc 수용체에 대해 감소된 결합을 나타내고, 그러므로 강한 ADCC 활성을 매개할 수 없다. 고 푸코스 항-HER2 항체와 관련하여 본원에 기재된 특정 및 구체예는 마찬가지로 당화되지 않은 항-HER2 항체에 적용된다. 특히, 당화되지 않은 항-HER2 항체는 CH2 도메인을 포함하지 않는 항체 단편, 특히 Fc 영역을 포함하지 않는 항체 단편을 포함한다.

[0135] *이전 치료에서 사용된 다른 항원에 대해 특이적인 항체*

[0136] 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 추가 치료 항체는 또한 다른 항원에 대해 특이적이고/이거나 HER2에 특이적으로 결합하지 않는 항체를 포함한다. 이전 치료에서 사용될 수 있는 이들 추가 항체는 바람직하게는 종양 세포에 존재하고, 바람직하게는 비-종양 세포 상에 존재하지 않거나 적은 양으로 비-종양 세포에 존재하는 항원 또는 항체가 접근하기 쉽지 않은 부위에 특이적으로 결합한다. 바람직하게는, 추가 항체는 미국식품의약국(FDA), 유럽의약품청(EMA, 이전에는 EMEA) 및 독일의약의료협회(BfArM)와 같은 기관에 의해 암 치료에 대해 승인되어 있다. 추가 항체의 바람직한 예는 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세톡시맵(Erbix), 파니투모맵(Vectibix) 및 니모투주맵(Theraloc); 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin); 항-CD52 항체, 예를 들어, 알렘투주맵(Campath); 항-CD30 항체, 예를 들어, 브렌톡시맵(Adcetris); 항-CD33 항체, 예를 들어, 켈뮬투주맵(Myloctarg); 및 항-CD20 항체, 예를 들어, 리톡시맵(Rituxan, Mabthera), 토시투모맵(Bexxar) 및 이브리투모맵(Zevalin)이다.

[0137] 추가 항체는 완전 항체 또는 항체의 단편 또는 유도체일 수 있다. 한 구체예에서, 추가 항체는 추가 치료제에 컨쥬게이션된다. 상기 치료제의 예는 방사선헌종 및 화학요법제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 화학요법제이다. 한 구체예에 따르면, 이전 치료에 사용된 추가 항체는 컨쥬게이트가 아니다.

[0138] *이전 치료에서 사용된 화학요법제*

[0139] 특정 구체예에서, 이전 치료는 임의로 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 하나 이상의 치료 항체와 조합된, 화학요법제 또는 2개 이상의 화학요법제의 조합물을 이용한 하나 이상의 치료를 포함한다. 화학요법제는 임의의 화학요법제일 수 있고, 사이클로포스파미드; 라파티니브; 카페시타빈; 시타라빈; 비노렐빈; 베바시주맵; 켈

시타빈; 마이탄신(maytansine); 안트라사이클린(anthracyclines), 예를 들어, 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 발루비신(valrubicin) 및 미톡산트론(mitoxantrone); 탁산, 예를 들어, 파클리탁셀(탁솔(Taxol)), 도세탁셀(탁소테레(Taxotere)) 및 SB-T-1214; 아로마타제 억제제, 예를 들어, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스토락톤(testolactone)(테슬락(Teslac)), 아나스트로졸(anastrozole)(아리미덱스(Arimidex)), 레트로졸(letrozole)(페마라(Femara)), 엑세메스탄(exemestane)(아로마신(Aromasin)), 보로졸(vorozole)(리비조르(Rivizor)), 포르메스탄(formestane)(렌타론(Lentaron)), 파드로졸(fadrozole)(아페마(Afema)), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온(ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온(6-OXO); 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan), 토폠테칸(topotecan), 캄프토테신(camptothecin), 라멜라린 D(lamellarin D), 에토포시드(etoposide)(VP-16), 테니포시드(teniposide), 독소루비신, 다우노루비신, 미톡산트론, 암사크린(amsacrine), 엘립티신(ellipticines), 아우르인트리카르복실산(aurintricarboxylic acid) 및 HU-331; 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스-디아민디클로로백금(II)(시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이트)백금(II)(카르보플라틴(carboplatin)) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II)(옥살리플라틴(oxaliplatin)), 및 항대사물질, 특히 항폴린산제, 예를 들어, 메토크세이트(methotrexate), 페메트렉세드(pemetrexed), 랄티트렉세드(raltitrexed) 및 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 피리미딘 유사체, 예를 들어, 플루오로우라실(fluoruracil), 젬시타빈, 플록스우리딘, 5-플루오로우라실 및 테가푸르-우라실(tegafur-uracil), 및 퓨린 유사체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 특히, 이전 치료는 탁산을 이용한 하나 이상의 치료를 포함하였다.

[0140] 이전 치료 스케줄

[0141] HER2 양성 암을 치료하기 위해 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 사용된 후에 제공되는 환자의 예시적 이전 치료는 하기에 제공되며, 이전 치료는 하기 치료 중 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개 또는 적어도 3개를 포함한다:

[0142] - 단일요법으로서 트라스투주맵(Herceptin®) 및/또는 화학요법제와 조합된, 특히 탁산, 예를 들어, 도세탁셀 및 비노렐빈과 조합된 트라스투주맵(Herceptin)을 이용한 적어도 하나의 치료; 및/또는

[0143] - 적어도 하나의 트라스투주맵 단일요법, 및 트라스투주맵을 포함하는 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개의 조합요법; 및/또는

[0144] - 단일요법 또는 조합요법으로서 적어도 하나의 탁산을 이용한 적어도 하나의 치료, 바람직하게는 1개, 2개 또는 그 초과 상이한 탁산, 특히 파클리탁셀 및 도세탁셀을 이용한 적어도 2개의 별개의 치료; 및/또는

[0145] - 바람직하게는 화학요법제, 예를 들어, 젬시타빈과 조합된 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스플라틴을 이용한 적어도 하나의 치료; 및/또는

[0146] - 바람직하게는 애주번트 요법으로서의 적어도 하나의 방사선요법; 및/또는

[0147] - 화학요법제 또는 상이한 화학요법제의 조합물, 예를 들어, 독소루비신 및 사이클로포스파미드의 조합물, 라파티니브 및 카페시타빈의 조합물, 이다루비신 및 에토포시드 및 시타라빈의 조합물, 및 베바시주맵 및 비노렐빈 및 카페시타빈의 조합물을 이용한 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 치료; 및/또는

[0148] - 다양한 화학요법제의 조합물, 예를 들어, 폴린산 및 플루오로우라실 및 옥살리플라틴(FOLFOX)의 조합물, 폴린산 및 플루오로우라실 및 이리노테칸(FOLFIRI)의 조합물, 및 테가푸르-우라실 및 칼슘 폴리네이트의 조합물을 이용한 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개 또는 적어도 3개의 치료; 및/또는

[0149] - 임의로 하나 이상의 화학요법제와 조합된, 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 치료 항체, 특히 항-EGFR 항체, 예를 들어, 파니투모맵 또는 세툽시맵, 및/또는 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵을 이용한 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개 또는 적어도 3개의 치료.

[0150] 상기 이전 치료는 애주번트 및/또는 네오애주번트 요법으로 이용될 수 있었고, 암의 이전 치료는 지금일 수 있고, 바람직하게는 수술을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 임의의 순서의 상기 치료 중 하나 이상, 바람직하게는 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상 또는 8개 이상 후에 환자에서 암 치료를 위한 것이다. 특히, 이전 치료는 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맵(Herceptin®)의 사용을 포함하였다.

- [0151] **HER2 양성 신생물 질병 및 치료되는 환자**
- [0152] 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 의해 치료되는 HER2 양성 신생물 질병은 바람직하게는 상기 상세히 기재된 바와 같은 HER2 양성 암이다. 여기서, 또한 바람직한 유형의 HER2 양성 암이 기재되었고, 반복을 피하기 위해 상기 개시내용에 언급되어 있다. 본원에 기재된 바와 같이, HER2 양성 암은 특히 유방암, 결장직장암, 결장암, 방광암, 난소암, 위암, 식도암, 폐암, 예를 들어, 비소세포폐암종(NSCLC), 기관지암 및 타액선암, 예를 들어, 이하선 암종으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 특정 구체예에서, 암은 전이성 암이다. HER2 양성 암은 임의의 유형의 전이, 예를 들어, 피부 전이, 림프절 전이, 내장 전이, 예를 들어, 폐 전이, 간 전이 및/또는 뇌 전이를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 암은 IHC에 의해 결정시 수준 2+ 또는 1+의 HER2 발현을 갖는 암이고, 임의로 상기 특징을 갖는 전이성 암일 수 있다. 본 발명으로 인해 가능해지는 장점 및 특정 치료 스케줄은 상기 기재되어 있으며, 이는 상기 개시내용이 언급되어 있다.
- [0153] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 원발성 암 또는 종양이 이미 하나 이상의 전이가 발달한 전이성 암의 치료를 위한 것이다. 하나 이상의 전이는 특히 원발성 암 또는 종양이 발달한 조직과 상이한 조직에 존재한다.
- [0154] 바람직한 구체예에서, 치료되는 환자는 HER2 양성 유방암, 특히 전이성 유방암으로 고통받는 환자이다. 유방암은 관상피내암(ductal carcinoma in situ), 침윤성 관상피암(invasive ductal carcinoma), 소엽상피내암(lobular carcinoma in situ), 침윤성 소엽암(invasive lobular carcinoma), 수질 암종, 유두 파제트병 및 전이성 유방암을 포함한다. 상기 HER2 양성 유방암의 특정 예는 침윤성 유관암종, 특히 림프절 관련 침윤성 유관암종이다. 한 구체예에서, 치료되는 환자는 전이성 유방암을 가지며, 피부 전이 및/또는 림프절 전이로 고통받는다. 특히, 치료되는 환자는 원발성 종양 및/또는 하나 이상의 전이 부위에 병소를 가질 수 있다. 특히, 환자는 피부 병변, 예를 들어, 피부 궤양형성, 특히 적어도 2 cm, 바람직하게는 적어도 3 cm, 적어도 4 cm, 적어도 5 cm 또는 적어도 6 cm의 직경을 갖는 피부 궤양형성을 가질 수 있다. 환자는 또한 림프절 전이에 의해 야기된 종격 선병증을 가질 수 있다. 특히, 치료되는 환자에서, 원발성 종양 및/또는 전이의 적어도 일부는, 예를 들어, 수술 및/또는 방사선요법에 의해 제거되며, 여기서, 예를 들어, 전이 및/또는 재발성 종양이 존재한다.
- [0155] 특정 구체예에서, 치료되는 환자는 에스트로겐 수용체 음성(ER-)이고/이거나 프로게스테론 수용체 음성(PgR-)인 HER2 양성 종양 및/또는 HER2 양성 전이를 갖는다. 에스트로겐 수용체 음성은 에스트로겐 수용체가 암 세포 상에서 검출될 수 없는 암을 나타낸다. 프로게스테론 수용체 음성은 프로게스테론 수용체가 암 세포 상에서 검출될 수 없는 암을 나타낸다.
- [0156] HER2 양성 암은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전에 하나 이상의 항암제, 예를 들어, 화학요법제 및/또는 치료 항체, 특히 본원에 기재된 화학요법제 중 하나 이상 및/또는 본원에 기재된 항체 중 하나 이상, 바람직하게는 본원에 기재된 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맙(Herceptin) 및/또는 퍼투주맙(Omnitarg) 중 적어도 하나 이상에 대해 내성일 수 있거나, 이들을 이용한 치료 후에 진행될 수 있다. 또한, HER2 양성 신생물 질병은 방사선요법에 대해 내성이거나 방사선요법 후에 진행된다.
- [0157] 치료되는 환자는 HER2 양성 암으로 고통받는 임의의 인간 환자일 수 있다. 바람직하게는, 환자는 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전 강하게 이전 치료된 암 환자, 특히 하나 이상, 바람직하게는 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상 또는 6개 이상의 암 요법에 적용된 환자이다. 치료되는 환자의 특징을 이루는 각각의 이전 치료는 상기 기재되었으며, 이는 상기 개시내용에 언급되어 있다.
- [0158] 본 발명자는 특히 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 Fc γ 수용체 IIIa의 동종이형과 상관 없이 하나 이상의 암 요법 후에 내성이 되거나 진행된 HER2 양성 암을 갖는 환자의 개선된 치료를 제공한다. 시험관내 검정에서 입증되고, 임상적 환경에서 입증된 바와 같이, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 특히 Fc γ RIIIa-158F/F 또는 F/V 동종이형을 갖는 공여체로부터 수득된 효과기 세포를 이용하여 증가된 ADCC 활성을 갖는다. 상기 효과기 세포를 이용하여, 고 푸코스 항-HER2 항체는 ADCC 검정에서 덜 효과적이다. 그러나, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 또한 Fc γ RIIIa-158V/V 동종이형을 갖는 환자에 대해 일반적인 고 푸코스 항-HER2 항체에 대해 내성인 암을 갖는 환자의 개선된 치료를 나타낸다. 그러므로, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 임의의 동종이형을 가질 수 있고, 본원에 기재된 신규한 치료로부터 이익을 얻을 수 있다. 특히, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158V/V)일 수 있거나, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)일 수 있거나, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)일 수 있

다. 따라서, F/F 및 F/V 동종이형을 포함하는 모든 Fc γ IIIa 동종이형이 치료될 수 있고, 또한 환자는 낮은 HER2 과발현, 예를 들어, HER2 1+ 및 HER2 2+를 갖는다.

[0159] 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 임상 연구는 또한 상기 항체를 이용한 치료가 매우 적은 유해한 반응을 야기시키는 것을 나타내었다. 특히, 연구에서 임상적 심장독성 효과가 관찰되지 않았다. 이에 대조적으로, 상업적으로 이용가능한 고 푸코스 항-HER2 항체 Herceptin[®]은 심장독성 부작용을 갖는 것으로 공지되어 있다. 그러므로, 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 약물 Herceptin[®]에서 사용되는 바와 같은 트라스투주맙보다 더 적은 유해 반응을 야기시키고, 바람직하게는 더 적은 심장독성을 갖는다.

[0160] 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 울혈성 심부전, 대증 심부전, 관상동맥 심질환, 조절되지 않는 부정맥, 협심증, 심장관막부전, 과다근육긴장증, 심근경색증, 흉부에서의 호흡곤란, 또는 상기 질병 중 하나 이상에 대한 위험을 갖는 환자의 암 치료를 위한 것이다. 바람직하게는, 55% 또는 그 미만, 특히 50% 또는 그 미만 또는 45% 또는 그 미만의 좌심실 박출물을 갖는 환자가 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 치료될 수 있다. 특정 구체예에서, 하나 이상의 안트라사이클린, 예를 들어, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 발루비신 및 미톡산트론과 조합된 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 상기 환자의 치료에 적합하다.

[0161] 또한, 임상 연구는 또한 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 환자에 의해 잘 용인되고, Herceptin보다 적은 유해 반응을 야기시키고, 특히 유해한 위장 반응, 예를 들어, 설사, 구역 및 구토를 야기시키지 않는 것을 나타내었다. 따라서, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 유해한 위장 반응이 치명적인 환자의 치료를 위한 것이다.

[0162] **감소된 푸코스 항-HER2 항체를 포함하는 조성물 및 투여량**

[0163] 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 특히 치료 조성물에 포함된다. 이는 바람직하게는 정맥내 주사에 적합한 조성물, 예를 들어, 항체를 포함하는 수용액, 또는 정맥내 주사에 적합한 조성물을 제조하는데 사용될 수 있는 조성물, 예를 들어, 동결건조된 항체 조성물이다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 포함하는 조성물은 용매, 희석제, 및 부형제로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 추가 성분을 추가로 포함할 수 있다. 조성물의 성분은 바람직하게는 모두 약학적으로 허용되는 것이다. 조성물은 고체 또는 유체 조성물, 특히 바람직하게는 수용액, 에멀전 또는 현탁액 또는 동결건조된 분말일 수 있다.

[0164] 조성물은 바람직하게는 1 mg/ml 내지 100 mg/ml, 더욱 바람직하게는 5 mg/ml 내지 50 mg/ml, 10 mg/ml 내지 30 mg/ml 또는 15 mg/ml 내지 25 mg/ml, 특히 약 20 mg/ml의 범위 내의 농도로 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 포함한다.

[0165] 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 임의의 적합한 투여 경로, 바람직하게는 정맥내 주사에 의해 환자에 투여될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 환자의 체중 kg 당 0.5 내지 15 mg, 1 내지 10 mg, 바람직하게는 2 내지 8 mg, 더욱 바람직하게는 3 내지 6 mg 또는 3 내지 5 mg, 가장 바람직하게는 약 4 mg 또는 약 6 mg 또는 그 미만의 범위 내의 용량으로 투여된다. 여기서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 적은 투여량으로 투여될 수 있고, 단일요법으로 제공되는 경우에도 치료 효과를 유도할 수 있는 것이 발견되었다. 따라서, 유리하게는 적은 투여량이 이용될 수 있다. 대안적으로, 감소된 유해한 부작용 프로파일로 인해, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 또한 더 많은 용량, 예를 들어, 환자의 체중 kg 당 0.2 내지 30 mg, 바람직하게는 2 내지 25 mg, 더욱 바람직하게는 4 내지 20 mg 또는 6 내지 18 mg, 가장 바람직하게는 8 내지 15 mg, 특히 약 12 mg의 범위 내의 용량으로 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 10 mg 내지 1250 mg, 바람직하게는 50 mg 내지 1000 mg, 더욱 바람직하게는 100 mg 내지 800 mg, 200 mg 내지 750 mg 또는 240 내지 600 mg의 범위 내의 투여 당 용량으로 투여된다. 400 내지 2000 mg, 바람직하게는 500 내지 1500 mg, 더욱 바람직하게는 600 내지 1000 mg의 더 많은 용량이 또한 가능하다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 1주 내지 2개월, 바람직하게는 2주 내지 6주, 더욱 바람직하게는 3주 내지 4주의 범위 내의 간격, 특히 3주 또는 4주마다 투여된다. 상기 기재된 용량은 특히 3주마다의 투여에 적합화된 것이다. 항-HER2 항체의 높은 효능으로 인해, 투여 간격을, 예를 들어, 투여량을 증가시키지 않고 3주로부터 4주로 연장시키는 것이 가능하다. 한 구체예에 따르면, 치료는 1 내지 10 mg, 바람직하게는 2 내지 8 mg, 더욱 바람직하게는 3 내지 6 mg의 최초 용량으로 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 환자에게 투여하고, 최초 용량과 동일하거나 더 적은 양으로 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 복수의 이후 용량을 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 최초 용량 및 이후의 용량은 적어도 1주, 적어도 2주, 적어도 3주, 바람직하게는 적어도 4주까지 서로 시간적으

로 떨어져 있다.

- [0166] 주입을 포함하는 주사에 의한 항체의 투여는 환자의 신체 내에서 유해한 반응, 특히 주입 관련 반응(IRR)을 야기시킬 수 있다. 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 투여하는 경우 각각의 효과가 또한 발생할 수 있다. 각각의 주입 관련 반응을 감소시키기 위해, 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 치료는 상기 주입 관련 반응의 치료 또는 예방을 위한 수단과 조합될 수 있다.
- [0167] 본 발명의 한 구체예에 따르면, IRR의 예방 또는 감소는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 치료와 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제의 전투약과 조합시킴으로써 달성된다. 상기 작용제는 다음과 같은 특징 중 하나 이상을 가질 수 있다: 이는 비-아편 진통제이고/이거나, 이는 비-살리실레이트 진통제이고/이거나, 이는 아닐린 진통제/아닐린 유도체이고/이거나, 이는 아세트아닐리드 유도체이고/이거나, 이는 아미노페놀 유도체이고/이거나, 이는 아세틸아미노페놀이고/이거나, 이는 사이클로-옥시게나제 억제제이고/이거나, 이는 프로스타글란딘 억제제이다. 바람직하게는, *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드(파라세타몰 또는 아세트아미노펜)는 진통제 및/또는 해열제로 사용된다. 상기 작용제는 바람직하게는 정맥내 또는 경구 투여된다.
- [0168] 상기 전투약은 예기치 않게 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여와 관련된 IRR을 유의하게 감소시키는 것이 본 발명자에 의해 발견되었다. 그러므로, 본 발명의 한 양태에서, 이러한 전투약은 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여에 의해 야기된 IRR을 예방하거나 치료하는데 사용된다. 예시적 주입 관련 반응은 열, 부종, 예를 들어, 혈관부종, 관절통 및 전율이다.
- [0169] 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제는 바람직하게는 250 mg 내지 1500 mg, 적어도 500 mg, 바람직하게는 적어도 700 mg, 적어도 800 mg, 적어도 900 mg, 더욱 바람직하게는 1000 mg의 용량으로 투여된다. 이는 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 전에 바람직하게는 하나의 단일 용량 또는 2개 이상, 바람직하게는 2개의 별개의 용량으로 투여된다.
- [0170] 바람직한 구체예에서, 상기 작용제는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 전 5분 내지 6시간, 바람직하게는 10분 내지 4시간, 15분 내지 3시간 또는 20분 내지 2시간, 더욱 바람직하게는 30분 내지 90분, 특히 1시간 전에, 특히 단일 용량으로 투여된다.
- [0171] 특정한 바람직한 구체예에서, 상기 작용제는 2개 용량으로 투여되는 반면, 첫번째 용량은 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 전 8시간 내지 48시간, 바람직하게는 12시간 내지 36시간 또는 16시간 내지 24시간 전, 특히 전날 저녁(즉, 약 12시간 전)에 투여된다. 두번째 용량은 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 전 5분 내지 6시간, 바람직하게는 10분 내지 4시간, 15분 내지 3시간 또는 20분 내지 2시간, 더욱 바람직하게는 30분 내지 90분, 특히 1시간 전에 투여된다. 특정한 바람직한 구체예에서, 작용제의 첫번째 용량은 항체의 투여 전날 저녁에 투여되고, 두번째 용량은 항체의 투여 1시간 전에 제공된다. 바람직하게는, 둘 모두의 용량은 1000 mg의 작용제이다. 상기 투여 계획의 특히 바람직한 작용제는 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드이다.
- [0172] 추가 구체예에서, 상기 작용제는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여에 대한 주입 관련 반응의 발생시에 투여된다.
- [0173] 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제는 하나 이상의 스테로이드, 바람직하게는 글루코코르티코이드, 예를 들어, 코르티솔, 코르티손 아세테이트, 클로프레놀, 프레드니손, 프레드니솔론, 데플라자코르트, 플루오코르톨론, 트리암시놀론, 베타메타손 또는 텍사메타손, 특히 메틸프레드니솔론과 조합되어 투여될 수 있다. 스테로이드는 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 전 5분 내지 4시간, 더욱 바람직하게는 15분 내지 1시간, 가장 바람직하게는 약 30분 전에 투여된다. 스테로이드는 바람직하게는 25 내지 500 mg, 더욱 바람직하게는 50 내지 250 mg 또는 100 내지 150 mg의 용량, 특히 약 125 mg의 용량으로 투여된다.
- [0174] 본 발명의 특히 바람직한 구체예에서, 항-HER2 항체를 이용한 환자의 치료는 IRR을 효과적으로 감소시키거나 예방하기 위해 하기와 같이 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드 및 메틸프레드니솔론을 이용한 전투약과 조합된다:
- [0175] a) 항체의 투여 전 저녁에 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드의 첫번째 용량,
- [0176] b) 항체의 투여 1시간 전의 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐)의 두번째 용량, 및
- [0177] c) 항체의 투여 30분 전의 125 mg의 메틸프레드니솔론의 한 용량.
- [0178] 이러한 계획에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 상기 기재된 용량으로 투여되고, 이는 상기 개시내용에 언급되어 있다.

[0179] 특정 구체예에서, 스테로이드가 투여되지 않고, 바람직하게는 스테로이드 및 항히스타민이 투여되지 않는다. 특히, 주입 관련 반응은 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제로만 치료되거나 예방된다.

[0180] 또 다른 양태에서, 본 발명은 항-HER2 항체의 투여에 의해 야기된 주입 관련 반응을 치료하거나 예방하기 위한 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제를 제공한다. 항-HER2 항체는 바람직하게는 본원에 정의된 바와 같은 감소된 푸코스 항-HER2 항체이다. 따라서, 본 발명의 다른 양태의 특징 및 구체예가 본 발명의 상기 양태에 적용된다.

[0181] **치료 방법**

[0182] 추가 양태에서, 본 발명은 50% 또는 그 미만, 바람직하게는 30% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 신생물 질병을 치료하기에 충분한 양으로 HER2-양성 신생물 질병으로 고통받는 환자에 투여하는 것을 포함하는, HER2-양성 신생물 질병으로 고통받는 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0183] 특정 구체예에서, 본 발명은 50% 또는 그 미만, 바람직하게는 30% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 투여하는 것을 포함하는, HER2 양성 암을 갖는 인간 환자를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 암은 전이성 암이다.

[0184] 특정 구체예에서, 본 발명은 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 신생물 질병을 치료하기에 충분한 양으로 HER2-양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암으로 고통받는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 고 푸코스 항-HER2 항체 또는 당화되지 않은 항-HER2 항체를 이용한 치료 후 HER2-양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암으로 고통받는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 특히, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖고, 고 푸코스 항-HER2 항체는 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,

[0185] a) 적어도 하나의 화학요법제;

[0186] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체), 또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;

[0187] c) 임의로 방사선요법; 및

[0188] d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,

[0189] 상기 이전 치료 a), b), c) 및 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다.

[0190] 특정 구체예에서, 본 발명은 50% 또는 그 미만, 바람직하게는 30% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 투여하는 것을 포함하는, HER2 양성 암을 갖는 인간 환자의 치료 방법에 관한 것으로, 상기 HER2 양성 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는다.

[0191] 상기 및 하기에 기재된 모든 구체예 및 특징은 또한 마찬가지로 본 발명에 따른 치료 방법에 적용된다.

[0192] **본 발명의 특정 구체예**

[0193] 본 발명의 특정하고 특별히 바람직한 구체예는 하기에 기재될 것이다:

[0194] **전이성 암 치료의 특정 구체예**

[0195] 상기 첫번째 양태의 첫번째 특정한 구체예에서, 본 발명은 전이성 HER2 양성 암, 바람직하게는 유방암 또는 결장암을 갖는 환자를 치료하기 위한 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 관한 것으로, 상기 감소된 푸코스 항-HER2 항체는,

[0196] (i) CH2 도메인 내에서 20% 또는 그 미만의 푸코스의 양, 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양 및 적어도 65%의 갈락토스의 양을 갖고;

[0197] (ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖고;

[0198] (iii) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가

변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖고;

[0199] 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,

[0200] a) 적어도 하나, 적어도 2개 및 바람직하게는 적어도 3개의 상이한 화학요법제; 및/또는

[0201] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체)로서, 이의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이 감소된 푸코스 항-HER2 항체, 바람직하게는 트라스투주맙(Herceptin®)의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90% 동일한, 적어도 하나의 항-HER2 항체;

[0202] c) 임의로, 방사선요법; 및

[0203] d) 임의로, 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,

[0204] 상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다. 바람직하게는, 상기 첫번째 구체예에서의 이전 치료는 하기 중 하나 이상을 포함하였다:

[0205] (i) 단일요법으로서 고 푸코스 항-HER2 항체 트라스투주맙(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료 및/또는 화학요법제, 바람직하게는 탁산, 예를 들어, 도세탁셀 및 비노렐빈과의 적어도 하나의 조합 치료, 특히 고 푸코스 항-HER2 항체 트라스투주맙(Herceptin®)과의 적어도 하나의 단일요법 및 추가로 고 푸코스 항-HER2 항체 트라스투주맙(Herceptin®)과의 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개의 조합 치료;

[0206] (ii) 적어도 하나의 탁산을 이용한 적어도 하나의 치료, 바람직하게는 1개, 2개 또는 그 초과 상이한 탁산, 바람직하게는 파클리탁셀 및 도세탁셀을 이용한 적어도 2개의 별개의 치료;

[0207] (iii) 바람직하게는 화학요법제, 예를 들어, 젬시타빈과 조합된 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스플라틴을 이용한 적어도 하나의 치료;

[0208] (iv) 바람직하게는 애쥬번트 요법으로서의 방사선요법;

[0209] (v) 화학요법제 또는 상이한 화학요법제의 조합물, 예를 들어, 독소루비신 및 사이클로포스파미드의 조합물, 라파티니브 및 카페시타빈의 조합물, 이다루비신 및 에토포시드 및 시타라빈의 조합물, 및 베바시주맙 및 비노렐빈 및 카페시타빈의 조합물을 이용한 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 치료; 및/또는

[0210] (vi) 원발성 종양의 적어도 일부 및/또는 하나 이상의 전이의 외과적 제거.

[0211] 특히, 환자의 이전 치료는 상기 첫번째 구체예에서 치료 (i) 내지 (vi) 중 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개 또는 6개 모두를 포함한다. 바람직하게는, 이전 치료는 적어도 치료 (i), (v) 및 (vi)를 포함한다.

[0212] 두번째 특정 구체예에서, 본 발명은 전이성 HER2 양성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 관한 것으로, 상기 감소된 푸코스 항-HER2 항체는,

[0213] (i) CH2 도메인 내에 20% 또는 그 미만의 푸코스의 양, 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양 및 적어도 65%의 갈락토스의 양을 갖고, 검출가능한 NeuGc를 갖지 않고, 검출가능한 Gal α2,6-커플링된 NeuAc를 갖지 않고, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 인간 세포주에서 재조합적으로 생성되었고;

[0214] (ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖고;

[0215] (iii) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖고;

[0216] (iv) 트라스투주맙(Herceptin®)보다 강한 ADCC를 유도할 수 있고,

[0217] 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,

- [0218] a) 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개의 상이한 화학요법제; 및
- [0219] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체)로서, 이의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이 감소된 푸코스 항-HER2 항체, 바람직하게는 트라스투주맙(Herceptin®)의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90% 동일한, 적어도 하나의 항-HER2 항체;
- [0220] c) 임의로, 방사선요법; 및
- [0221] d) 임의로, 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,
- [0222] 상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였고, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 림프절 전이 및 내장 전이, 특히 폐 또는 간 전이로부터 선택된 전이의 치료를 위한 것이다. 바람직한 이전 치료는 첫번째 특정 구체예와 함께 상기 기재되었으며, 이는 각각의 개시에 대해 언급된다.
- [0223] 첫번째 또는 두번째 특정 구체예에서 치료되는 환자는 하기 특징을 가질 수 있다:
- [0224] (i) 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158V/V)이거나;
- [0225] (ii) 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)이거나, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)이다.
- [0226] 특히, 첫번째 및 두번째 특정 구체예의 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 이들의 Fc γ RIIIa 동종이형에 관계 없이 환자의 치료를 위해 사용될 수 있다. 첫번째 및 두번째 특정 구체예에서, HER2 양성 암 및/또는 전이는 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현을 가질 수 있다. 바람직하게는, HER2 양성 암 및/또는 전이는 FISH 또는 CISH에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성이다. 한 양태에 따르면, 첫번째 또는 두번째 특정 구체예에서 치료되는 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)이거나, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)이고, 임의로 추가로 HER2 양성 암 및/또는 전이는 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현을 갖는다.
- [0227] 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 적합하고 바람직한 투여량 및 바람직한 전투약 스케줄은 상기 기재되어 있고, 첫번째 및 두번째 특정 구체예에 또한 적용되는 상기 개시에 언급되어 있다. 첫번째 및 두번째 특정 구체예에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 단일요법 또는 조합요법으로 사용될 수 있다. 구체예는 상기 기재되어 있고, 각각의 개시에 언급되어 있다.
- [0228] 상기 기재된 바와 같이, 본 발명은 50% 또는 그 미만, 바람직하게는 30% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 투여하는 것을 포함하는 HER2 양성 암을 이용한 인간 환자의 치료 방법에 관한 것으로, 상기 암은 전이성 암이다.
- [0229] 상기 또는 하기 기재되는 모든 구체예 및 특징은 또한 마찬가지로 본 발명에 따른 치료 방법에 적용된다.
- [0230] 상기 기재된 바와 같이, 특정 양태에서, 본 발명은 HER2 양성 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)에 관한 것으로, 상기 암은 전이성 암이다.
- [0231] 바람직하게는, 항-HER2 항체는 전이의 치료를 위한 것으로, 상기 전이는 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이 및 림프절 전이 중 하나 이상을 포함한다. 한 구체예에 따르면, 환자는 하나 이상의 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이를 갖는다. 바람직하게는, HER2 양성 암은 하기 특징 중 하나 이상을 갖는다: (i) 유방암, 바람직하게는 전이성 유방암임; (ii) 침습성 유방관(mammary ductal) 암종, 바람직하게는 림프절 병발을 갖는 침습성 유방관 암종임; (iii) 림프절 전이 및/또는 피부 전이와 관련됨, 특히 림프절 전이에 의해 야기되는 종격 선병증 및/또는 피부 전이에 의해 야기되는 피부 궤양형성과 관련됨; (iv) 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이와 관련됨; (v) 결장암, 타액선암, 예를 들어, 이하선 암종, 폐암, 예를 들어, 비소세포폐암종, 및 기관지암으로 구성된 군으로부터 선택됨. 한 구체예에 따르면, HER2 양성 전이는 하기 특징 중 하나 이상을 갖는다: (i) 에스트로겐 수용체 음성(ER-) 및/또는 프로게스테론 수용체 음성(PgR-); (ii) 면역조직화학에 의해 결정시 적어도 수준 1+, 바람직하게는 수준 2+ 또는 수준 3+의 HER2 과발현; (iii) 면역조

직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현; (v) 이들은 형광 제자리 부합법(FISH) 또는 크로모젠 제자리 부합법(CISH)에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성임.

[0232]

한 구체예에 따르면, 항-HER2 항체는 (i) 원발성 종양의 치료; (ii) 재발성 종양의 치료; (iii) 종양 성장의 억제; (iv) 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 림프절 전이, 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이를 포함하는 전이의 치료; 및/또는 (v) 전이에 의해 야기되는 병변, 특히 피부 병변 또는 림프절 병변, 더욱 특히 피부 궤양의 치료를 위한 것이다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 하기 중 하나 이상을 발생시킨다: (i) 추가 전이의 예방; (ii) 하나 이상의 전이에 의해 야기되는 병변, 특히 피부 궤양의 감소; (iii) 전이의 수의 감소. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는 a) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는 b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체), 또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체; c) 임의로 방사선요법; 및 d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고, 상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다. 한 구체예에 따르면, 이전 치료 후에 신생물 질병이 재발하거나 진행된다. 실시예에 제시된 바와 같이, 본 발명에 따른 항-HER2 항체는 이전 치료가 실패하였거나, 암이 재발하거나, 추가 전이가 발생한 강하게 전처리된 환자를 포함하는 전처리된 환자를 성공적으로 치료하는 데 있어서 특히 효과적이다.

[0233]

한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 환자는 단일요법 또는 조합요법으로 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 상이한 항암제, 특히 화학요법제로 치료된 적이 있다. 바람직하게는, 이전 치료는 하기 치료 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개, 가장 바람직하게는 모두를 포함한다: (i) 단일요법으로서 트라스투주맵(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료; (ii) 화학요법제, 바람직하게는 탁산, 예를 들어, 도세탁셀 및 비노렐빈과 조합된 트라스투주맵(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료; (iii) 탁산을 이용한 적어도 하나의 치료, 바람직하게는 상이한 탁산, 바람직하게는 파클리탁셀 및 도세탁셀을 이용한 적어도 2개의 별개의 치료; (iv) 바람직하게는 화학요법제, 예를 들어, 젬시타빈과 조합된 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스플라틴을 이용한 적어도 하나의 치료; (v) 방사선요법, 바람직하게는 애주번트 요법; (vi) 상이한 화학요법제의 조합물, 예를 들어, 독소루비신 및 사이클로포스파미드의 조합물, 라파티니브 및 카페시타빈의 조합물, 이다루비신 및 에토포시드 및 시타라빈의 조합물, 및 베바시주맵 및 비노렐빈 및 카페시타빈의 조합물을 이용한 적어도 하나의 치료. 한 구체예에 따르면, 환자의 이전 치료는 암 수술, 바람직하게는 원발성 종양 및/또는 전이의 외과적 제거를 포함하였다. 바람직한 구체예에 따르면, HER2 양성 암은 적어도 하나의 화학요법제를 이용한 치료 후에 내성이거나 진행되었고/진행되었거나, 고 푸코스 트라스투주맵(Herceptin®) 및/또는 고 푸코스 퍼투주맵(Omnitarg)을 이용한 치료 후에 내성이거나 진행되었다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 애주번트 치료, 네오애주번트 치료, 네오애주번트-애주번트 치료 또는 완화 치료를 위한 것이다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 환자에 반복적으로 투여되고, 치료 효과는 적어도 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 두번째 투여 후, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 첫번째 투여 후에 이미 수득된다. 바람직하게는, 치료 효과는 피부 병변, 특히 궤양성 피부 병변의 감소, 종격 선명증의 감소 및/또는 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이의 감소를 포함한다.

[0234]

바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 20% 또는 그 미만, 15% 또는 그 미만, 10% 또는 그 미만, 5% 또는 그 미만 또는 0%, 특히 2% 내지 20%, 3% 내지 15% 또는 5% 내지 10%의 범위 내의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 CH2 도메인 내 하기 당화 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 갖는다: (i) 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양; (ii) 적어도 65%의 갈락토스의 양; (iii) 임의로, 검출 가능하지 않은 NeuGc; (iv) 임의로, 검출 가능하지 않은 Gal α1,3-Gal; (v) 임의로, 검출가능한 α2,6-커플링된 NeuAc. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 하기 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 모두를 갖는다: (i) SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함; (ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함; (iii) SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함; (iv) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함; (v) 항체 트라스투주맵과 상호특이성(cross-specificity)을 나타냄; (vi) 항체 트라스투주맵의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함함; (vii) 결합 및 Fv 매개 항-종양 반응에 있어서 항체 트라스투주맵과 동등함; (ix) 인간 세포주에서 재조합적으로 생성되었음. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는

바람직하게는 트라스투주맵(Herceptin®)인 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 강한 ADCC를 유도할 수 있다.

[0235]

한 구체예에 따르면, 바람직하게는 트라스투주맵(Herceptin®)인 고 푸코스 항-HER2 항체는 70% 또는 그 초과, 특히 80% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는다. 바람직하게는, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체는 하기 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 3개를 갖는다: (i) IgG 항체임; (ii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상호특이성을 나타냄; (iii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있음; (iv) 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역과 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 100% 동일함; (v) 항체 트라스투주맵(Herceptin®)임; (vi) 고 푸코스 항-HER2 항체의 에피토프가 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 에피토프와 상이한 HER2에 특이적으로 결합할 수 있음; 및/또는 (vii) 항체 퍼투주맵(Omnitarg)임.

[0236]

한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 단일요법이다. 대안적으로, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 특히 (i) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는 (ii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 적어도 하나의 추가 치료 항체; 및/또는 (iv) 암 수술 및/또는 방사선요법과 조합된 조합요법이다.

[0237]

상기 기재된 바와 같이, 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 치료되는 환자는 사전 암 치료를 받을 수 있다. 한 구체예에 따르면, 사전 치료는 적어도 하나의 화학요법제를 포함하였다. 여기서, 환자의 이전 치료에서 사용된 적어도 하나의 화학요법제는 사이클로포스파미드; 라파티니브; 카페시타빈; 시타라빈; 비노렐빈; 베바시주맵; 켈시타빈; 마이탄신(maytansine); 안트라사이클린(anthracyclines), 예를 들어, 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 발루비신(valrubicin) 및 미톡산트론(mitoxantrone); 탁산, 예를 들어, 파클리탁셀(탁솔(Taxol)), 도세탁셀(탁소테레(Taxotere)) 및 SB-T-1214; 아로마타제 억제제, 예를 들어, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스토락톤(testolactone)(테슬락(Teslac)), 아나스트로졸(anastrozole)(아리미덱스(Arimidex)), 레트로졸(letrozole)(페마라(Femara)), 엑세메스탄(exemestane)(아로마신(Aromasin)), 보로졸(vorozole)(리비조르(Rivizor)), 포르메스탄(formestane)(렌타론(Lentaron)), 파드로졸(fadrozole)(아페마(Afema)), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온(ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온(6-OXO); 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan), 토포테칸(topotecan), 캄프토테신(camptothecin), 라멜라린 D(lamellarin D), 에토포시드(etoposide)(VP-16), 테니포시드(teniposide), 독소루비신, 다우노루비신, 미톡산트론, 암사크린(amsacrine), 엘립티신(ellipticines), 아우르인트리카르복실산(aurintricarboxylic acid) 및 HU-331; 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스-디아민디클로로백금(II)(시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이트)백금(II)(카르보플라틴(carboplatin)) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II)(옥살리플라틴(oxaliplatin)), 및 항대사물질, 특히 항폴린산제, 예를 들어, 메토크세이트(methotrexate), 페메트렉세드(pemetrexed), 랄티트렉세드(raltitrexed) 및 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 피리미딘 유사체, 예를 들어, 플루오로우라실(fluoruracil), 켈시타빈, 플록스우리딘, 5-플루오로우라실 및 테가푸르-우라실(tegafur-uracil), 및 퓨린 유사체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.

[0238]

바람직하게는, 환자의 이전 치료는 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이하고, 특히 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 작용 방식에 있어서 상이한 항-HER2 항체, 특히 퍼투주맵, 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세톡시맵(Erbix), 파니투모맵(panitumomab)(Vectibix) 및 니모투주맵(nimotuzumab)(Theraloc); 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin); 항-CD52 항체, 예를 들어, 알렘투주맵(alemtuzumab)(Campath); 항-CD30 항체, 예를 들어, 브렌투시맵(brentuximab)(Adcetris); 항-CD33 항체, 예를 들어, 겔투주맵(gemtuzumab)(Mylotarg); 및 항-CD20 항체, 예를 들어, 리톡시맵(rituximab)(Rituxan, Mabthera), 토시투모맵(tositumomab)(Bexxar) 및 이브리투모맵(ibritumomab)(Zevalin)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 치료 항체의 사용을 포함하였다.

[0239]

한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료는 적어도 하나의 상이한 항암제와의 조합요법이며, 상기 항암제는 (i) 바람직하게는 탁산인 화학요법제, 및 (ii) 항암 치료 항체로 구성된 군으로부터 선택되고, 치료 항체는 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 트라스투주맵, 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세톡시맵(Erbix) 및/또는 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin)에 해당하는 경우 퍼투주맵과 같은 감소된 푸코스 항-HER2 항체로부터의 작용 방식과 상이한 항-HER2 항체이다.

[0240]

바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 1주, 2주, 3주 또는 4주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 1 내지 10 mg의 양; 바람직하게는 3주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 2 내지 8 mg의 양으로 투여된다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 용량이나 덜 빈번히 투여되는 경우 또는 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 빈도이나 적은 용량으로

투여되는 경우, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 높은 치료 효능을 갖는다.

- [0241] 상기 논의된 바와 같이, 개선된 치료 효능은 종래 항-HER2 항체로 치료될 수 없거나 덜 효과적으로 치료될 수 있는 다양한 환자를 치료하는 것을 가능케 한다. 여기서, (i) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합(Fc γ R111a-158V/V)이거나; (ii) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ R111a-158F/F)이거나, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ R111a-158V/F)이거나; (iii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 이들의 Fc γ R111a 동종이형에 관계 없이 환자의 치료를 위한 것이거나; (iv) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ R111a-158F/F)이거나, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에 대해 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ R111a-158V/F)인 다양한 옵션이 존재하며, 여기서 HER2 양성 암 및/또는 전이는 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현을 갖고, 바람직하게는 HER2 양성 암 및/또는 전이는 FISH 또는 CISH에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성이다.
- [0242] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 처리는 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제, 특히 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드를 이용한 환자의 전투약(pre-medication)과 조합된다.
- [0243] 바람직하게는, 전투약은 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제의 적어도 2개의 별개의 투여를 포함하는 반면, 첫번째 투여는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 8시간 내지 48시간 전에 제공되고, 두번째 투여는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 5분 내지 6시간 전에 제공된다. 바람직하게는, 투여 각각은 250 mg 및 1500 mg, 특히 1000 mg의 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제를 함유한다. 바람직하게는, 전투약은 스테로이드, 바람직하게는 글루코코르티코이드, 특히 메틸프레드니솔론의 투여를 추가로 포함한다. 바람직하게는, 스테로이드는 항체의 투여 5분 내지 4시간 전, 특히 30분 전에 투여된다. 바람직하게는, 전투약은 하기 단계를 포함하거나 하기 단계로 구성된다: a) 항체의 투여 전 저녁의 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐) 아세트아미드의 첫번째 투여, b) 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 1시간 전의 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐)의 두번째 투여, 및 c) 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 30분 전의 125 mg의 메틸프레드니솔론의 1회 투여.
- [0244] 특정 구체예에서, 본 발명은 상기 기재된 전투약에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여에 의해 야기된 주입 관련 반응을 치료하거나 예방하기 위한 진통제 및/또는 해열제를 제공한다.
- [0245] **이전 치료된 환자의 치료의 특정 구체예**
- [0246] 하기에서, 이전에 암 치료를 받은 환자의 치료에 관한 두번째 양태에 따른 본 발명의 특정 구체예가 나열된다. 상기 본원에 기재된 모든 특징 및 구체예는 또한 하기 구체예에 적용되고, 하기 구체예와 조합될 수 있다.
- [0247] 1. HER2 양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)로서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자가,
- [0248] a) 적어도 하나의 화학요법제; 및
- [0249] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체), 또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;
- [0250] c) 임의로 방사선요법;
- [0251] d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,
- [0252] 상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)가 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생했던, 항-HER2 항체.
- [0253] 2. 구체예 1에 있어서, 신생물 질병이 이전 치료 후에 재발되거나 진행되는 항-HER2 항체.
- [0254] 3. 구체예 1 또는 2에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 환자가 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 상이한 화학요법제로 단일요법 또는 조합요법으로 치료된 적이 있는 항-HER2 항체.
- [0255] 4. 구체예 1 내지 3 중 어느 한 구체예에 있어서, 이전 치료가 하기 치료 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개 또는 모두를 포함하는 항-HER2 항체:

- [0256] (i) 단일요법으로서 트라스투주맵(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료;
- [0257] (ii) 화학요법제와 조합된, 바람직하게는 탁산(taxane), 예를 들어, 도세탁셀(docetaxel) 및 비노렐빈(vinorelbine)과 조합된 트라스투주맵(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료;
- [0258] (iii) 탁산을 이용한 적어도 하나의 치료, 바람직하게는 상이한 탁산, 바람직하게는 파클리탁셀(paclitaxel) 및 도세탁셀을 이용한 적어도 2개의 별개의 치료;
- [0259] (iv) 바람직하게는 화학요법제, 예를 들어, 겐시타빈(gemcitabine)과 조합된 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스플라틴(cisplatin)을 이용한 적어도 하나의 치료;
- [0260] (v) 바람직하게는 에루빈트 요법으로서의 방사선요법;
- [0261] (vi) 상이한 화학요법제의 조합물, 예를 들어, 독소루비신(doxorubicin) 및 사이클로포스파미드(cyclophosphamide)의 조합물, 라파티니브(lapatinib) 및 카페시타빈(capecitabine)의 조합물, 이다루비신(idarubicin) 및 에토포시드(etoposide) 및 시타라빈(cytarabine)의 조합물, 및 베바시주맵(bevacizumab) 및 비노렐빈(vinorelbine) 및 카페시타빈의 조합물을 이용한 적어도 하나의 치료.
- [0262] 5. 구체예 1 내지 4 중 어느 한 구체예에 있어서, 환자의 이전 치료가 암 수술, 바람직하게는 원발성 종양 및/또는 전이의 수술적 제거를 포함하는 항-HER2 항체.
- [0263] 6. 구체예 1 내지 5 중 어느 한 구체예에 있어서, HER2 양성 암이 전이성 암인 항-HER2 항체.
- [0264] 7. 구체예 6에 있어서, 전이가 피부 전이, 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이 및 림프절 전이 중 하나 이상을 포함하는 항-HER2 항체.
- [0265] 8. 구체예 7에 있어서, 환자가 하나 이상의 궤양성 피부 전이를 갖는 항-HER2 항체.
- [0266] 9. 구체예 1 내지 8 중 어느 한 구체예에 있어서, 하기 특징 중 하나 이상을 갖는 HER2 양성 암의 치료를 위한 항-HER2 항체:
 - [0267] (i) 유방암, 바람직하게는 전이성 유방암임;
 - [0268] (ii) 침습성 유방관(mammary ductal) 암종, 바람직하게는 림프절 병발을 갖는 침습성 유방관 암종임;
 - [0269] (iii) 림프절 전이 및/또는 피부 전이와 관련됨, 특히 림프절 전이에 의해 야기되는 종격 선병증 및/또는 피부 전이에 의해 야기되는 피부 궤양형성과 관련됨;
 - [0270] (iv) 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이와 관련됨.
- [0271] 10. 구체예 1 내지 9 중 어느 한 구체예에 있어서, 하기 특징 중 하나 이상을 갖는 HER2 양성 종양 및/또는 전이의 치료를 위한 항-HER2 항체:
 - [0272] (i) 에스트로겐 수용체 음성(ER-) 및/또는 프로게스테론 수용체 음성(PgR-);
 - [0273] (ii) 면역조직화학에 의해 결정시 적어도 수준 1+, 바람직하게는 수준 2+ 또는 수준 3+의 HER2 과발현;
 - [0274] (iii) 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현;
 - [0275] (v) 형광 제자리 부합법(fluorescence in situ hybridization)(FISH) 또는 크로모겐 제자리 부합법(chromogen in situ hybridization)(CISH)에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성임.
- [0276] 11. 구체예 1 내지 10 중 어느 한 구체예에 있어서, HER2 양성 암이 적어도 하나의 화학요법제를 이용한 치료 후에 내성이거나 진행되었고/되었거나, 고 푸코스 트라스투주맵(Herceptin) 및/또는 고 푸코스 퍼투주맵(Omnitarg)을 이용한 치료 후에 내성이거나 진행된 항-HER2 항체.
- [0277] 12. 구체예 1 내지 11 중 어느 한 구체예에 있어서,
 - [0278] (i) 원발성 종양의 치료;
 - [0279] (ii) 재발성 종양의 치료;
 - [0280] (iii) 종양 성장의 억제;
 - [0281] (iv) 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 림프절 전이, 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이를 포함하는 전이의

치료; 및/또는

- [0282] (v) 종양 또는 전이에 의해 야기되는 병변, 특히 피부 병변 또는 림프절 병변, 더욱 특히 피부 궤양의 치료를 위한 항-HER2 항체.
- [0283] 13. 구체에 1 내지 12 중 어느 한 구체에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 하기 중 하나 이상을 발생시키는 항-HER2 항체:
- [0284] (i) 종양 성장의 억제;
- [0285] (ii) 종양 크기의 감소;
- [0286] (iii) 추가 전이의 예방;
- [0287] (iv) 원발성 종양 및/또는 하나 이상의 전이, 특히 피부 궤양에 의해 야기되는 병변의 감소;
- [0288] (v) 전이의 수의 감소;
- [0289] (vii) 무진행 생존의 증가; 및/또는
- [0290] (viii) 수명의 증가.
- [0291] 14. 구체에 1 내지 13 중 어느 한 구체에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 애주버트 치료, 네오애주버트(neoadjuvant) 치료, 네오애주버트-애주버트 치료 또는 완화 치료를 위한 것인 항-HER2 항체.
- [0292] 15. 구체에 1 내지 14 중 어느 한 구체에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 환자에 반복적으로 투여되고, 적어도 감소된 푸코우스 항-HER2 항체의 두번째 투여 후, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 첫번째 투여 후에 이미 치료 효과가 수득되는 항-HER2 항체.
- [0293] 16. 구체에 15에 있어서, 치료 효과가 피부 병변, 특히 궤양성 피부 병변의 감소, 종격 선병증의 감소 및/또는 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이의 감소를 포함하는 항-HER2 항체.
- [0294] 17. 구체에 1 내지 16 중 어느 한 구체에 있어서, 20% 또는 그 미만, 15% 또는 그 미만, 10% 또는 그 미만, 5% 또는 그 미만 또는 0%, 바람직하게는 2% 내지 20%, 3% 내지 15% 또는 5% 내지 10%의 범위 내의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체.
- [0295] 18. 구체에 1 내지 17 중 어느 한 구체에 있어서, CH2 도메인 내 하기 당화 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 갖는 항-HER2 항체:
- [0296] (i) 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양;
- [0297] (ii) 적어도 65%의 갈락토스의 양;
- [0298] (iii) 임의로, 검출 가능하지 않은 NeuGc;
- [0299] (iv) 임의로, 검출 가능하지 않은 Gal α 1,3-Gal;
- [0300] (v) 임의로, 검출가능한 α 2,6-커플링된 NeuAc.
- [0301] 19. 구체에 1 내지 18 중 어느 한 구체에 있어서, 하기 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 모두를 갖는 항-HER2 항체:
- [0302] (i) SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함;
- [0303] (ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함;
- [0304] (iii) SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함;
- [0305] (iv) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함;
- [0306] (v) 항체 트라스투주맙과 상호특이성(cross-specificity)을 나타냄;

- [0307] (vi) 항체 트라스투주맙의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함함;
- [0308] (vii) 결합 및 Fv 매개 항-종양 반응에 있어서 항체 트라스투주맙과 동등함;
- [0309] (ix) 인간 세포주에서 재조합적으로 생성되었음.
- [0310] 20. 구체에 1 내지 19 중 어느 한 구체에 있어서, 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 강한 ADCC를 유도할 수 있는 항-HER2 항체.
- [0311] 21. 구체에 1 내지 20 중 어느 한 구체에 있어서, 고 푸코스 항-HER2 항체가 70% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체.
- [0312] 22. 구체에 1 내지 21 중 어느 한 구체에 있어서, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체가 하기 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 3개를 갖는 항-HER2 항체:
- [0313] (i) IgG 항체임;
- [0314] (ii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상호특이성을 나타냄;
- [0315] (iii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있음;
- [0316] (iv) 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역과 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 100% 동일함;
- [0317] (v) 항체 트라스투주맙(Herceptin®)임;
- [0318] (vi) 고 푸코스 항-HER2 항체의 에피토프가 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 에피토프와 상이한 HER2에 특이적으로 결합할 수 있음; 및/또는
- [0319] (vii) 항체 퍼투주맙(Omnitarg)임.
- [0320] 23. 구체에 1 내지 22 중 어느 한 구체에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 단일요법인 항-HER2 항체.
- [0321] 24. 구체에 1 내지 23 중 어느 한 구체에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 특히 하기와 조합된 조합요법인 항-HER2 항체:
- [0322] (i) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는
- [0323] (ii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 적어도 하나의 추가 치료 항체; 및/또는
- [0324] (iv) 암 수술 및/또는 방사선요법.
- [0325] 25. 구체에 1 내지 24 중 어느 한 구체에 있어서,
- [0326] a) 환자의 이전치료에서 사용된 적어도 하나의 화학요법제가 사이클로포스파미드; 라파티니브; 카페시타빈; 시타라빈; 비노렐빈; 베바시주맙; 젤시타빈; 마이탄신(maytansine); 안트라사이클린(anthracyclines), 예를 들어, 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 발루비신(valrubicin) 및 미톡산트론(mitoxantrone); 탁산, 예를 들어, 파클리탁셀(탁솔(Taxol)), 도세탁셀(탁소테레(Taxotere)) 및 SB-T-1214; 아로마타제 억제제, 예를 들어, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스트락톤(testolactone)(테슬락(Teslac)), 아나스트로졸(anastrozole)(아리미덱스(Arimidex)), 레트로졸(letrozole)(페마라(Femara)), 엑세메스탄(exemestane)(아로마신(Aromasin)), 보로졸(vorozole)(리비조르(Rivizor)), 포르메스탄(formestane)(렌타론(Lentaron)), 파드로졸(fadrozole)(아페마(Afema)), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온(ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온(6-OXO); 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan), 토폠테칸(topotecan), 캄프토테신(camptothecin), 라멜라린 D(lamellarin D), 에토포시드(etoposide)(VP-16), 테니포시드(teniposide), 독소루비신, 다우노루비신, 미톡산트론, 암사크린(amsacrine), 엘립티신(ellipticines), 아우르인트리카르복실산(aurintricarboxylic acid) 및 HU-331; 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스-디아민디클로로백금(II)(시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이트)백금(II)(카르보플라틴(carboplatin)) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II)(옥살리플라틴(oxaliplatin)), 및 항대사물질, 특히 항폴린산제, 예를 들어, 메토크렉세이트(methotrexate), 페메트렉세드(pemetrexed), 랄티트렉세드(raltitrexed) 및 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 피리미딘 유사체, 예를 들어, 플루오로우라실(fluoruracil), 젤시타빈, 플록스우리딘, 5-플루

오로우라실 및 테가푸르-우라실(tegafur-uracil), 및 퓨린 유사체로 구성된 군으로부터 선택되고/되거나;

- [0327] b) 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 적어도 하나의 상이한 항암제와의 조합요법이고, 항암제가 (i) 바람직하게는 타산인 화학요법제, 및 (ii) 항암 치료 항체로 구성된 군으로부터 선택되고, 치료 항체가 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 트라스투주맙, 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세툽시맙(Erbix) 및/또는 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맙(Avastin)에 해당하는 경우 퍼투주맙과 같은 감소된 푸코스 항-HER2 항체로부터의 작용 방식과 상이한 항-HER2 항체인, 항-HER2 항체.
- [0328] 26. 구체에 1 내지 25 중 어느 한 구체에 있어서, 환자의 이전 치료가 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이하고, 특히 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 작용 방식에 있어서 상이한 항-HER2 항체, 특히 퍼투주맙, 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세툽시맙(Erbix), 파니투모맙(panitumomab)(Vectibix) 및 니모투주맙(nimotuzumab)(Theraloc); 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맙(Avastin); 항-CD52 항체, 예를 들어, 알렘투주맙(alemtuzumab)(Campath); 항-CD30 항체, 예를 들어, 브렌투시맙(brentuximab)(Adcetris); 항-CD33 항체, 예를 들어, 겐투주맙(gemtuzumab)(Mylotarg); 및 항-CD20 항체, 예를 들어, 리툽시맙(rituximab)(Rituxan, Mabthera), 토시투모맙(tositumomab)(Bexxar) 및 이브리투모맙(ibrutinomab)(Zevalin)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 치료 항체의 사용을 포함하는 항-HER2 항체.
- [0329] 27. 구체에 1 내지 26 중 어느 한 구체에 있어서, 1주, 2주, 3주 또는 4주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 1 내지 10 mg의 양; 바람직하게는 3주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 2 내지 5 mg의 양의 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여를 위한 항-HER2 항체.
- [0330] 28. 구체에 1 내지 27 중 어느 한 구체에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 용량이나 덜 빈번히 투여되는 경우 또는 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 빈도이나 적은 용량으로 투여되는 경우, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체보다 높은 치료 효능을 갖는 항-HER2 항체.
- [0331] 29. 구체에 1 내지 28 중 어느 한 구체에 있어서,
- [0332] (i) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158V/V)이거나;
- [0333] (ii) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)이거나, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)이거나;
- [0334] (iii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 이들의 Fc γ RIIIa 동종이형에 관계 없이 환자의 치료를 위한 것이거나;
- [0335] (iv) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)이거나, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에 대해 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)이고, HER2 양성 암 및/또는 전이가 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현을 갖고, 바람직하게는 HER2 양성 암 및/또는 전이가 FISH 또는 CISH에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성인, 항-HER2 항체.
- [0336] 30. 구체에 1 내지 29 중 어느 한 구체에 있어서, 항-HER2 항체의 처리가 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제, 특히 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드를 이용한 환자의 전투약(pre-medication)과 조합되는 항-HER2 항체.
- [0337] 31. 구체에 30에 있어서, 전투약이 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제의 적어도 2개의 별개의 투여를 포함하는 한편, 첫번째 투여가 항체의 투여 8시간 내지 48시간 전에 제공되고, 두번째 투여가 항체의 투여 5분 내지 6시간 전에 제공되는 항-HER2 항체.
- [0338] 32. 구체에 30에 있어서, 투여 각각이 250 mg 및 1500 mg, 특히 1000 mg의 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제를 함유하는 항-HER2 항체.
- [0339] 33. 구체에 30 내지 32 중 어느 한 구체에 있어서, 전투약이 스테로이드, 바람직하게는 글루코코르티코이드, 특히 메틸프레드니솔론의 투여를 추가로 포함하는 항-HER2 항체.
- [0340] 34. 구체에 33에 있어서, 스테로이드가 항체의 투여 5분 내지 4시간 전, 특히 30분 전에 투여되는 항-HER2 항체.

- [0341] 35. 구체에 30 내지 34 중 어느 한 구체에 있어서, 전투약이 하기 단계를 포함하거나 하기 단계로 구성되는 항-HER2 항체:
- [0342] a) 항체의 투여 전 저녁의 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐) 아세트아미드의 첫번째 투여,
- [0343] b) 항체의 투여 1시간 전의 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐)의 두번째 투여, 및
- [0344] c) 항체의 투여 30분 전의 125 mg의 메틸프레드니솔론의 1회 투여.
- [0345] 36. 구체에 1 내지 35 중 어느 한 구체에 있어서, 결장암, 타액선암, 예를 들어, 이하선 암종, 폐암, 예를 들어, 비소세포폐암종, 및 기관지암으로 구성된 군으로부터 선택되는 HER2 양성 암의 치료를 위한 항-HER2 항체.
- [0346] 37. 구체에 30 내지 35 중 어느 한 구체에의 전투약에 따른 항-HER2 항체를 포함하는 조성물의 투여에 의해 야기되는 주입 관련 반응을 치료하거나 예방하기 위한 진통 및/또는 해열 작용제.
- [0347] 추가 양태에서, 본 발명은 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 신생물 질병을 치료하기에 충분한 양으로 HER-2 양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암으로 고통받는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 후의 HER2-양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암으로 고통받는 환자의 치료를 위한 방법에 관한 것이다. 특히, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖고, 고 푸코스 항-HER2 항체는 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는다. 바람직한 구체에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,
- [0348] a) 적어도 하나의 화학요법제;
- [0349] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양(고 푸코스 항-HER2 항체)을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체, 또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;
- [0350] c) 임의로, 방사선요법; 및
- [0351] d) 임의로, 적어도 하나의 추가 치료 항체로 치료된 적이 있고,
- [0352] 상기 이전 치료 a), b), c) 및 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다.
- [0353] 상기 기재된 모든 구체에 및 특징은 또한 마찬가지로 본 발명에 따른 치료 방법에 적용된다.
- [0354] **저 HER2 발현을 갖는 암 치료의 특정 구체**
- [0355] 하기에서, 저 HER2 발현을 갖는 암의 치료에 관한 세번째 양태에 따른 본 발명의 특정 구체에가 나열된다. 상기 본원에 기재된 모든 특징 및 구체에는 또한 하기 구체에 적용되고 하기 구체와 조합될 수 있다.
- [0356] 1. HER2 양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양(감소된 푸코스 항-HER2 항체)을 갖는 항-HER2 항체로서, HER2 양성 종양이 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는, 항-HER2 항체.
- [0357] 2. 구체에 1에 있어서, HER2 양성 신생물 질병이 전이성 암인 항-HER2 항체.
- [0358] 3. 구체에 1 또는 2에 있어서,
- [0359] (i) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ R11a-158F/F)이거나, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ R11a-158V/F)이거나;
- [0360] (ii) 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ R11a-158F/F)이거나, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에 대해 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ R11a-158V/F)이고, HER2 양성 암 및/또는 전이가 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현을 갖고, HER2 양성 암 및/또는 전이가 FISH 또는 CISH에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성인, 항-HER2 항체.
- [0361] 4. 구체에 1 내지 3 중 어느 한 구체에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자가,
- [0362] a) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는
- [0363] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체),

또는 당화되지 않은 적어도 하나의 항-HER2 항체;

[0364] c) 임의로 방사선요법; 및

[0365] d) 임의로 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,

[0366] 상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)가 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생했던, 항-HER2 항체.

[0367] 5. 구체예 4에 있어서, HER2 양성 암이 이전 치료 후에 재발되거나 진행되는 항-HER2 항체.

[0368] 6. 구체예 4 또는 5에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 환자가 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 상이한 항암제, 특히 화학요법제 및/또는 치료 항체로 단일요법 또는 조합요법으로 치료된 적이 있는 항-HER2 항체.

[0369] 7. 구체예 4 내지 6 중 어느 한 구체예에 있어서, 이전 치료가 하기 치료 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 적어도 5개 또는 모두를 포함하는 항-HER2 항체:

[0370] (i) 단일요법으로서 트라스투주맙(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료;

[0371] (ii) 화학요법제와 조합된, 바람직하게는 타산, 예를 들어, 도세탁셀 및 비노렐빈과 조합된 트라스투주맙(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료;

[0372] (iii) 타산을 이용한 적어도 하나의 치료, 바람직하게는 상이한 타산, 바람직하게는 파클리탁셀 및 도세탁셀을 이용한 적어도 2개의 별개의 치료;

[0373] (iv) 바람직하게는 화학요법제, 예를 들어, 젬시타빈과 조합된 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스플라틴을 이용한 적어도 하나의 치료;

[0374] (v) 바람직하게는 애췌버트 요법으로서의 방사선요법;

[0375] (vi) 상이한 화학요법제의 조합물, 예를 들어, 독소루비신 및 사이클로포스파미드의 조합물, 라파티니브 및 카페시타빈의 조합물, 이다루비신 및 에토포시드 및 시타라빈의 조합물, 및 베바시주맙 및 비노렐빈 및 카페시타빈의 조합물을 이용한 적어도 하나의 치료.

[0376] 8. 구체예 4 내지 7 중 어느 한 구체예에 있어서, 환자의 이전 치료가 암 수술, 바람직하게는 원발성 종양 및/또는 전이의 수술적 제거를 포함하는 항-HER2 항체.

[0377] 9. 구체예 1 내지 8 중 어느 한 구체예에 있어서, 암이 유방암, 위암, 암종, 결장암, 이행 세포 암종, 방광암, 요로상피 종양, 자궁암, 진행 식도 샘암종, 위 샘암종 또는 위식도 접합부 샘암종, 난소암, 폐암, 폐 샘암종, 자궁내막암, 신장암, 췌장암, 갑상샘암, 결장직장암, 전립선암, 뇌의 암, 자궁경부암, 창자암 및 간암, 바람직하게는 결장암, 타액선암, 예를 들어, 이하선 암종, 폐암, 예를 들어, 비소세포폐암종, 및 기관지암, 특히 이들의 전이성 형태로부터 선택되는 항-HER2 항체.

[0378] 10. 구체예 2 내지 9 중 어느 한 구체예에 있어서, 전이가 하나 피부 전이, 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이 및 림프절 전이 중 하나 이상을 포함하는 항-HER2 항체.

[0379] 11. 구체예 10에 있어서, 환자가 하나 이상의 궤양성 피부 전이를 갖는 항-HER2 항체.

[0380] 12. 구체예 1 내지 11 중 어느 한 구체예에 있어서, 하기 특징 중 하나 이상을 갖는 HER2 양성 암의 치료를 위한 항-HER2 항체:

[0381] (i) 유방암, 바람직하게는 전이성 유방암임;

[0382] (ii) 침습성 유방관 암종, 바람직하게는 림프절 병발을 갖는 침습성 유방관 암종임;

[0383] (iii) 결장암임;

[0384] (iv) 방광암임;

[0385] (v) 림프절 전이 및/또는 피부 전이와 관련됨, 특히 림프절 전이에 의해 야기되는 종격 선병증 및/또는 피부 전이에 의해 야기되는 피부 궤양형성과 관련됨;

[0386] (vi) 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이와 관련됨.

- [0387] 13. 구체예 1 내지 12 중 어느 한 구체예에 있어서, 하기 특징 중 하나 이상을 갖는 HER2 양성 종양 및/또는 전이의 치료를 위한 항-HER2 항체:
- [0388] (i) 에스트로겐 수용체 음성(ER-) 및/또는 프로게스테론 수용체 음성(PgR-);
- [0389] (ii) 형광 제자리 부합법(FISH) 또는 크로모젠 제자리 부합법(CISH)에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성임.
- [0390] 14. 구체예 4 내지 13 중 어느 한 구체예에 있어서, HER2 양성 암이 적어도 하나의 화학요법제를 이용한 치료 후에 내성이거나 진행되었고/되었거나, 고 푸코스 트라스투주맵(Herceptin) 및/또는 고 푸코스 퍼투주맵(Omnitarg)을 이용한 치료 후에 내성이거나 진행된 항-HER2 항체.
- [0391] 15. 구체예 1 내지 14 중 어느 한 구체예에 있어서,
- [0392] (i) 원발성 종양의 치료;
- [0393] (ii) 재발성 종양의 치료;
- [0394] (iii) 종양 성장의 억제;
- [0395] (iv) 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 림프절 전이, 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이를 포함하는 전이의 치료; 및/또는
- [0396] (v) 종양 또는 전이에 의해 야기되는 병변, 특히 피부 병변 또는 림프절 병변, 더욱 특히 피부 궤양의 치료를 위한 항-HER2 항체.
- [0397] 16. 구체예 1 내지 15 중 어느 한 구체예에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 하기 중 하나 이상을 발생시키는 항-HER2 항체:
- [0398] (i) 종양 성장의 억제;
- [0399] (ii) 종양 크기의 감소;
- [0400] (iii) 추가 전이의 예방;
- [0401] (iv) 원발성 종양 및/또는 하나 이상의 전이, 특히 피부 궤양에 의해 야기되는 병변의 감소;
- [0402] (v) 전이의 수의 감소;
- [0403] (vii) 무진행 생존의 증가; 및/또는
- [0404] (viii) 수명의 증가.
- [0405] 17. 구체예 1 내지 16 중 어느 한 구체예에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 애주버트 치료, 네오애주버트 치료, 네오애주버트-애주버트 치료 또는 완화 치료를 위한 것인 항-HER2 항체.
- [0406] 18. 구체예 1 내지 17 중 어느 한 구체예에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 환자에 반복적으로 투여되고, 적어도 감소된 푸코우스 항-HER2 항체의 두번째 투여 후, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 첫번째 투여 후에 이미 치료 효과가 수득되는 항-HER2 항체.
- [0407] 19. 구체예 18에 있어서, 치료 효과가 피부 병변, 특히 궤양성 피부 병변의 감소, 종격 선병증의 감소 및/또는 내장 전이, 특히 폐 및/또는 간 전이의 감소를 포함하고/하거나, 동통의 감소를 발생시키는 항-HER2 항체.
- [0408] 20. 구체예 1 내지 19 중 어느 한 구체예에 있어서, 20% 또는 그 미만, 15% 또는 그 미만, 10% 또는 그 미만, 5% 또는 그 미만, 10% 내지 3% 또는 0%, 바람직하게는 2% 내지 20%, 3% 내지 15% 또는 5% 내지 10%의 범위 내의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체.
- [0409] 21. 구체예 1 내지 20 중 어느 한 구체예에 있어서, 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 10% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양, 및 하기 당화 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 갖는 항-HER2 항체:
- [0410] (i) 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양;
- [0411] (ii) 적어도 65%의 갈락토스의 양;

- [0412] (iii) 임의로, 검출 가능하지 않은 NeuGc;
- [0413] (iv) 임의로, 검출 가능하지 않은 Gal α 1,3-Gal;
- [0414] (v) 임의로, 검출가능한 α2,6-커플링된 NeuAc.
- [0415] 22. 구체예 1 내지 21 중 어느 한 구체예에 있어서, 하기 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 모두를 갖는 항-HER2 항체:
- [0416] (i) SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함;
- [0417] (ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함함;
- [0418] (iii) SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함;
- [0419] (iv) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함함;
- [0420] (v) 항체 트라스투주맙과 상호특이성(cross-specificity)을 나타냄;
- [0421] (vi) 항체 트라스투주맙의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함함;
- [0422] (vii) 결합 및 Fv 매개 항-종양 반응에 있어서 항체 트라스투주맙과 동등함;
- [0423] (viii) 인간 세포주에서 재조합적으로 생성되었음.
- [0424] 23. 구체예 1 내지 22 중 어느 한 구체예에 있어서, 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 강한 ADCC를 유도할 수 있는 항-HER2 항체.
- [0425] 24. 구체예 4 내지 23 중 어느 한 구체예에 있어서, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체가 70% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체.
- [0426] 25. 구체예 4 내지 24 중 어느 한 구체예에 있어서, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-HER2 항체가 하기 특징 중 하나 이상, 바람직하게는 적어도 3개를 갖는 항-HER2 항체:
- [0427] (i) IgG 항체임;
- [0428] (ii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상호특이성을 나타냄;
- [0429] (iii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있음;
- [0430] (iv) 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역과 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 100% 동일함;
- [0431] (v) 항체 트라스투주맙(Herceptin®)임;
- [0432] (vi) 고 푸코스 항-HER2 항체의 에피토프가 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 에피토프와 상이한 HER2에 특이적으로 결합할 수 있음; 및/또는
- [0433] (vii) 항체 퍼투주맙(Omnitarg)임.
- [0434] 26. 구체예 1 내지 25 중 어느 한 구체예에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 단일요법인 항-HER2 항체.
- [0435] 27. 구체예 1 내지 26 중 어느 한 구체예에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 특히 하기와 조합된 조합요법인 항-HER2 항체:
- [0436] (i) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는
- [0437] (ii) 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이한 적어도 하나의 추가 치료 항체; 및/또는
- [0438] (iii) 암 수술 및/또는 방사선요법.

- [0439] 28. 구체예 1 내지 27 중 어느 한 구체예에 있어서,
- [0440] a) 구체예 4에 따른 환자의 이전치료에서 사용된 적어도 하나의 화학요법제가 사이클로포스파미드; 라파티니브; 카페시타빈; 시타라빈; 비노렐빈; 베바시주맵; 켄시타빈; 마이탄신; 안트라사이클린, 예를 들어, 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 발루비신 및 미톡산트론; 탁산, 예를 들어, 파클리탁셀(탁술), 도세탁셀(탁스테레) 및 SB-T-1214; 아로마타제 억제제, 예를 들어, 아미노글루테티미드, 테스토락톤(테슬락), 아나스트로졸(아리미덱스), 레트로졸(페마라), 엑세메스탄(아로마신), 보로졸(리비조르), 포르메스탄(렌타론), 파드로졸(아페마), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온(ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온(6-OXO); 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸, 토포테칸, 캄프토테신, 라멜라린 D, 에토포시드(VP-16), 테니포시드, 독소루비신, 다우노루비신, 미톡산트론, 암사크린, 엘리트프티신, 아우르인트리카르복실산 및 HU-331; 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스-디아민디클로로백금(II)(시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이트)백금(II)(카르보플라틴) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II)(옥살리플라틴), 및 항대사물질, 특히 항폴린산제, 예를 들어, 메토크렉세이트(methotrexate), 페메트렉세드(pemetrexed), 랄티트렉세드(raltitrexed) 및 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 피리미딘 유사체, 예를 들어, 플루오로우라실(fluoruracil), 켄시타빈, 플록스우리딘, 5-플루오로우라실 및 테가푸르-우라실(tegafur-uracil), 및 퓨린 유사체로 구성된 군으로부터 선택되고/되거나;
- [0441] b) 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료가 적어도 하나의 상이한 항암제와의 조합요법이고, 항암제가 (i) 바람직하게는 탁산인 화학요법제, 및 (ii) 항암 치료 항체로 구성된 군으로부터 선택되고, 치료 항체가 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 트라스투주맵, 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세톡시맵(Erbitux) 및/또는 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin)에 해당하는 경우 퍼투주맵과 같은 감소된 푸코스 항-HER2 항체로부터의 작용 방식과 상이한 항-HER2 항체인, 항-HER2 항체.
- [0442] 29. 구체예 1 내지 28 중 어느 한 구체예에 있어서, 환자의 이전 치료가 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 상이하고, 특히 감소된 푸코스 항-HER2 항체와 작용 방식에 있어서 상이한 항-HER2 항체, 특히 퍼투주맵, 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세톡시맵(Erbitux), 파니투모맵(Vectibix) 및 니모투주맵(Theraloc); 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin); 항-CD52 항체, 예를 들어, 알렘투주맵(Campath); 항-CD30 항체, 예를 들어, 브렌톡시맵(Adcetris); 항-CD33 항체, 예를 들어, 켄투주맵(Mylotarg); 및 항-CD20 항체, 예를 들어, 리톡시맵(Rituxan, Mabthera), 토시투모맵(Bexxar) 및 이브리투모맵(Zevalin)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 치료 항체의 사용을 포함하는 항-HER2 항체.
- [0443] 30. 구체예 1 내지 29 중 어느 한 구체예에 있어서, 1주, 2주, 3주 또는 4주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 1 내지 10 mg의 양; 바람직하게는 3주 간격 또는 그보다 덜 빈번히 환자 체중 kg 당 2 내지 5 mg의 양의 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여를 위한 항-HER2 항체.
- [0444] 31. 구체예 4 내지 30 중 어느 한 구체예에 있어서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 용량이나 덜 빈번히 투여되는 경우 또는 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 고 푸코스 항-HER2 항체와 동일 빈도이나 적은 용량으로 투여되는 경우, 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체보다 높은 치료 효능을 갖는 항-HER2 항체.
- [0445] 32. 구체예 1 내지 31 중 어느 한 구체예에 있어서, 항-HER2 항체의 처리가 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제, 특히 N-(4-하이드록시페닐)아세트아미드를 이용한 환자의 전투약(pre-medication)과 조합되는 항-HER2 항체.
- [0446] 33. 구체예 32에 있어서, 전투약이 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제의 적어도 2개의 별개의 투여를 포함하는 반면, 첫번째 투여가 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 8시간 내지 48시간 전에 제공되고, 두번째 투여가 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 5분 내지 6시간 전에 제공되는 항-HER2 항체.
- [0447] 34. 구체예 33에 있어서, 투여 각각이 250 mg 및 1500 mg, 특히 1000 mg의 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제를 함유하는 항-HER2 항체.
- [0448] 35. 구체예 32 내지 34 중 어느 한 구체예에 있어서, 전투약이 스테로이드, 바람직하게는 글루코코르티코이드, 특히 메틸프레드니솔론의 투여를 추가로 포함하는 항-HER2 항체.
- [0449] 36. 구체예 35에 있어서, 스테로이드가 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 5분 내지 4시간 전, 특히 30분 전에 투여되는 항-HER2 항체.

- [0450] 37. 구체예 32 내지 34 중 어느 한 구체예에 있어서, 전투약이 하기 단계를 포함하거나 하기 단계로 구성되는 항-HER2 항체:
- [0451] a) 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 전 저녁의 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐) 아세트아미드의 첫번째 투여,
- [0452] b) 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 투여 1시간 전의 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐)의 두번째 투여, 및
- [0453] c) 항체의 투여 30분 전의 125 mg의 메틸프레드니솔론의 1회 투여.
- [0454] 38. 구체예 32 내지 37 중 어느 한 구체예의 전투약에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 포함하는 조성물의 투여에 의해 야기되는 주입 관련 반응을 치료하거나 예방하기 위한 진통 및/또는 해열 작용제.
- [0455] 상기 양태의 특정하고 특히 바람직한 구체예는 하기에 다시 기재될 것이다:
- [0456] 본 발명의 특정하고 특히 바람직한 구체예는 하기에 기재될 것이다.
- [0457] 첫번째 특정한 구체예에서, 본 발명은 HER2 양성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 관한 것으로, 상기 HER2 양성 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖고, 바람직하게는 상기 암은 전이성 암이고, 상기 감소된 푸코스 항-HER2 항체는,
- [0458] (i) CH2 도메인 내에서 20% 또는 그 미만, 바람직하게는 15% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 10% 내지 0% 또는 10% 내지 3%의 푸코스의 양, 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양 및 적어도 65%의 갈락토스의 양을 갖고;
- [0459] (ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖고;
- [0460] (iii) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖고;
- [0461] 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,
- [0462] a) 적어도 하나, 적어도 2개 및 바람직하게는 적어도 3개의 상이한 화학요법제; 및/또는
- [0463] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체)로서, 이의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이 감소된 푸코스 항-HER2 항체, 바람직하게는 트라스투주맵(Herceptin®)의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90% 동일한, 적어도 하나의 항-HER2 항체;
- [0464] c) 임의로, 방사선요법; 및
- [0465] d) 임의로, 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,
- [0466] 상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다. 바람직하게는, 상기 첫번째 구체예에서의 이전 치료는 하기 중 하나 이상을 포함하였다:
- [0467] (i) 단일요법으로서 고 푸코스 항-HER2 항체 트라스투주맵(Herceptin®)을 이용한 적어도 하나의 치료 및/또는 화학요법제, 바람직하게는 탁산, 예를 들어, 도세탁셀 및 비노렐빈과의 적어도 하나의 조합 치료, 특히 고 푸코스 항-HER2 항체 트라스투주맵(Herceptin®)과의 적어도 하나의 단일요법 및 추가로 고 푸코스 항-HER2 항체 트라스투주맵(Herceptin®)과의 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개의 조합 치료;
- [0468] (ii) 적어도 하나의 탁산을 이용한 적어도 하나의 치료, 바람직하게는 1개, 2개 또는 그 초과 상이한 탁산, 바람직하게는 파클리탁셀 및 도세탁셀을 이용한 적어도 2개의 별개의 치료;
- [0469] (iii) 바람직하게는 화학요법제, 예를 들어, 젬시타빈과 조합된 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스플라틴을 이용한 적어도 하나의 치료;
- [0470] (iv) 바람직하게는 애쥬번트 요법으로서의 방사선요법;
- [0471] (v) 화학요법제 또는 상이한 화학요법제의 조합물, 예를 들어, 독소루비신 및 사이클로포스파미드의 조합물, 라파티니브 및 카페시타빈의 조합물, 이다루비신 및 에토포시드 및 시타라빈의 조합물, 및 베바시주맵 및 비노렐

빈 및 카페시타빈의 조합물을 이용한 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 치료; 및/또는

(vi) 원발성 종양의 적어도 일부 및/또는 하나 이상의 전이의 외과적 제거.

특히, 환자의 이전 치료는 상기 첫번째 구체예에서 치료 (i) 내지 (vi) 중 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개 또는 6개 모두를 포함한다. 바람직하게는, 이전 치료는 적어도 치료 (i), (v) 및 (vi)를 포함한다.

두번째 특정 구체예에서, 본 발명은 HER2 양성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 관한 것으로, 상기 HER2 양성 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖고, 바람직하게는, 상기 암은 전이성 암이고, 상기 감소된 푸코스 항-HER2 항체는,

(i) CH2 도메인 내에 15% 또는 그 미만, 바람직하게는 10% 내지 0% 또는 10% 내지 2%의 푸코스의 양, 적어도 8%의 양분성 GlcNAc의 양 및 적어도 65%의 갈락토스의 양을 갖고, 검출가능한 NeuGc를 갖지 않고, 검출가능한 Gal α 2,6-커플링된 NeuAc를 갖지 않고, 바람직하게는 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 인간 세포주에서 재조합적으로 생성되었고;

(ii) SEQ ID NO:7의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖고;

(iii) SEQ ID NO:8의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖고;

(iv) 트라스투주맵(Herceptin®)보다 강한 ADCC를 유도할 수 있고,

감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,

a) 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개의 상이한 화학요법제; 및

b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체(고 푸코스 항-HER2 항체)로서, 이의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열이 감소된 푸코스 항-HER2 항체, 바람직하게는 트라스투주맵(Herceptin®)의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열과 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 90% 동일한, 적어도 하나의 항-HER2 항체;

c) 임의로, 방사선요법; 및

d) 임의로, 적어도 하나의 추가의 치료 항체로 치료된 적이 있고,

상기 이전 치료 a), b), 임의로 c) 및 임의로 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였고, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 림프절 전이 및 내장 전이, 특히 폐 또는 간 전이로부터 선택된 전이의 치료를 위한 것이다. 바람직한 이전 치료는 첫번째 특정 구체예와 함께 상기 기재되었으며, 이는 각각의 개시에 대해 언급된다.

첫번째 또는 두번째 특정 구체예에서 치료되는 환자는 하기 특징을 가질 수 있다:

(i) 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158V/V)이거나;

(ii) 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)이거나, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)이다.

특히, 첫번째 및 두번째 특정 구체예의 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 이들의 Fc γ RIIIa 동종이형에 관계 없이 환자의 치료를 위해 사용될 수 있다. 첫번째 및 두번째 특정 구체예에서, HER2 양성 암 및/또는 전이는 면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현을 가질 수 있다. 바람직하게는, HER2 양성 암 및/또는 전이는 FISH 또는 CISH에 의해 결정시 HER2 유전자 증폭에 대해 양성이다. 한 양태에 따르면, 첫번째 또는 두번째 특정 구체예에서 치료되는 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합(Fc γ RIIIa-158F/F)이거나, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합(Fc γ RIIIa-158V/F)이고, 임의로 추가로 HER2 양성 암 및/또는 전이는

면역조직화학에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 1+ 또는 그 미만의 HER2 과발현을 갖는다.

[0489] 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 적합하고 바람직한 투여량 및 적합하고 바람직한 전투약 스케줄은 상기 기재되어 있고, 첫번째 및 두번째 특정 구체예에 또한 적용되는 상기 개시에 언급되어 있다. 첫번째 및 두번째 특정 구체예에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 단일요법 또는 조합요법으로 사용될 수 있다. 구체예는 상기 기재되어 있고, 각각의 개시에 언급되어 있다.

[0490] 상기 기재된 바와 같이, 본 발명은 50% 또는 그 미만, 바람직하게는 30% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 15% 내지 0%의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는 항-HER2 항체(감소된 푸코스 항-HER2 항체)를 투여하는 것을 포함하는, HER2 양성 암을 갖는 인간 환자의 치료 방법에 관한 것으로, 상기 HER2 양성 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖고, 바람직하게는 암은 전이성 암이다.

[0491] 상기 기재된 바와 같이, 본 발명은 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 신생물 질병을 치료하기에 충분한 양으로 HER-2 양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암으로 고통받는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 고 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 후의 HER2-양성 신생물 질병, 특히 HER2 양성 암으로 고통받는 환자의 치료를 위한 방법에 관한 것이다. 특히, 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 50% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖고, 고 푸코스 항-HER2 항체는 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용한 치료 전, 상기 환자는,

[0492] a) 적어도 하나의 화학요법제;

[0493] b) 60% 또는 그 초과 CH2 도메인 내 푸코스의 양(고 푸코스 항-HER2 항체)을 갖는 적어도 하나의 항-HER2 항체;

[0494] c) 임의로, 방사선요법; 및

[0495] d) 임의로, 적어도 하나의 추가 치료 항체로 치료된 적이 있고,

[0496] 상기 이전 치료 a), b), c) 및 d)는 임의의 순서로 순차적으로 또는 동시에 발생하였다. 암은 면역조직화학(IHC)에 의해 결정시 수준 2+ 또는 그 미만, 바람직하게는 수준 1+의 HER2 과발현을 갖는 HER2 양성 암일 수 있다.

[0497] 상기 기재된 모든 구체예 및 특징은 또한 마찬가지로 본 발명에 따른 치료 방법에 적용된다.

[0498] 본 출원은 2012년 7월 18일에 출원된 선원 US 61/673,201호, 2012년 7월 18일에 출원된 US 61/673,216호, 2012년 7월 18일에 출원된 US 61/673,229호, 및 2012년 12월 18일에 출원된 EP 12 197 768.0호의 이익을 주장하며, 상기 출원 모두는 참조로서 본원에 포함된다.

[0499] 본원에 기재된 수치 범위는 범위를 규정하는 수를 포함한다. 본원에 제공된 표제는 본 발명의 다양한 양태 또는 구체예의 제한이 아니며, 이는 전체로서 본 명세서에 대한 참조로 읽혀질 수 있다. 한 구체예에 따르면, 방법의 경우에서 특정 단계를 포함하거나 조성물의 경우에서 특정 성분을 포함하는 것으로 본원에 기재된 주제는 각각의 단계 또는 성분으로 구성된 주제를 나타낸다. 본원에 기재된 바람직한 양태 및 구체예를 선택하고 조합시키는 것이 바람직하며, 바람직한 구체예의 각각의 조합으로부터 발생하는 특정 주제가 또한 본 발명의 개시에 속한다.

[0500] 도면

[0501] **도 1**은 첫번째 주입 후의 주입 용량/체중의 함수로서의 혈청 반감기 $t_{1/2}$ 를 도시한다. Fuc- 트라스투주맙: 흑색 원; Fuc+ 트라스투주맙(Herceptin®): 회색 원.

[0502] **도 2**는 첫번째 용량 후 8일 이내에 시작하고, 6주 후에 완료(두번째 용량)된 폐양성 피부 전이의 극적인 치유를 도시한다. 투여량: 3주마다 240 mg Fuc- 트라스투주맙. **A:** 치료 전(기준선); **B:** 1주 후(주기 1, 8일), 240 mg Fuc- 트라스투주맙의 1 용량; **C:** 3주 후(주기 2, 1일), 240 mg Fuc- 트라스투주맙의 1용량; **D:** 5주 후(주기 2, 15일), 240 mg Fuc- 트라스투주맙의 2용량; **E:** 6주 후(주기 3, 1일), 240 mg Fuc- 트라스투주맙의 2용량.

[0503] **도 3**은 유세포측정법에 의해 분석된 다양한 세포주에 대한 Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙(Herceptin®)의 결합을 도시한다. 이중 $\pm$ SD의 평균 값이 제시된다. **A:** Herceptin® **B:** Fuc- 트

라스투주맵.

- [0504] **도 4A**는 Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®])과의 인큐베이션 4일 후의 ZR-75-1 세포에서의 HER2/neu 발현을 도시한다. 이중으로 각각 수행된 2개의 독립적 유세포측정법 실험으로부터 수득된 배지 대조군 $\pm$ SD에 비한 HER2 양성 세포의 백분율의 평균 값이 제시된다.
- [0505] **도 4B**는 3일 동안 0.1 μ g/ml의 농도로 Fuc- 트라스투주맵, Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®]) 또는 음성 대조군으로서 hIgG1 및 배지와 함께 인큐베이션된 ZR-75-1 세포로부터의 용해질의 웨스턴 블롯을 도시한다.
- [0506] **도 5**는 Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®])에 의한 SK-BR-3 세포의 증식 억제를 도시한다. 항체와의 인큐베이션 시간은 4일이었다. 배지 대조군에 비한 증식의 백분율이 제시된다. 6개의 중복 측정으로 수행된 3개의 독립적 실험의 평균 값 + SEM이 제공된다.
- [0507] **도 6**은 Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®]) 및 단백질 G와의 6시간의 인큐베이션 후에 BT474 세포를 이용한 활성 카스파제-3 아포토시스 검정을 도시한다. 이중 측정의 분해된 카스파제-3 양성 세포(아포토시스 세포) $\pm$ SD의 백분율의 평균 값이 제시된다.
- [0508] **도 7**은 다양한 Fc γ RIIIa 동종이형을 갖는 공여체의 일차 인간 PBMC를 이용한 Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®])을 이용한 SK-BR-3 세포에 대한 ADCC 검정을 도시한다. 삼중의 특정 용해 $\pm$ SEM의 평균 값이 제공된다. **A:** VV 공여체; **B:** FV 공여체; **C:** FF 공여체.
- [0509] **도 8**은 다양한 Fc γ RIIIa 동종이형을 갖는 공여체의 일차 인간 PBMC를 갖는 MCF-7 세포에 대한 ADCC 검정을 도시한다. 인큐베이션 시간 5시간, E:T 비 50:1. 삼중의 특정 용해 $\pm$ SEM의 평균 값이 제공된다. **A:** VV 공여체; **B:** FV 공여체; **C:** FF 공여체.
- [0510] **도 9(A 및 B)**는 MCF-7 세포에 대한 동일한 특정 용해(Herceptin의 최대 용해의 95%의 특정 용해)를 달성하는데 필요한 Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 농도뿐만 아니라 최대 용해의 95%에서 Herceptin[®]과 동일한 특정 용해를 달성하기 위해 Fuc- 트라스투주맵의 농도가 감소된 지수(개선 지수)의 비교를 도시한다. 흑색 기호는 개별적 공여체를 나타내고, 적색 기호는 모든 공여체의 평균을 의미한다(**A** 참조). 모든 공여체의 평균 값이 **B**에 선으로 제시된다. 더 낮은 HER2 발현 종양(MCF-7)에 대한 최대 Fuc- 트라스투주맵 매개 ADCC 증가는 140배 이하이며, 평균에서는 42배이다. 따라서, 모든 환자 동종이형에 대해 크게 개선된 항종양 ADCC가 달성되었다.
- [0511] **도 10, 11 및 12**는 도 6 내지 8에 제시된 것과 유사한 실험의 결과를 도시한다. 해당 실시예 15의 설명에 추가 설명이 제공된다.
- [0512] **도 13A**는 BT474 인간 유방 암종 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서의 Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 생체내 항종양 활성을 도시한다. 종양이 촉진가능한 크기에 도달한 경우에 마우스에 지정된 투여량 수준으로 처리되었다. 항체는 4주 동안 매주 2회 i.v. 투여되었다. 각각의 기호는 8마리의 동물 그룹의 평균 값 및 SEM을 나타낸다. **도 13B**는 BT474 인간 유방 암종 이종이식편을 갖는 누드 마우스에서의 다양한 농도에서의 Fuc- 트라스투주맵의 생체내 항종양 활성을 도시한다. 종양이 촉진가능한 크기에 도달한 경우에 마우스에 지정된 투여량 수준으로 처리되었다. 항체는 4주 동안 매주 2회 i.v. 투여되었다. 각각의 기호는 8마리의 동물 그룹의 평균 값 및 SEM을 나타낸다.
- [0513] **도 14**는 환자 유래 #7268 위 암종 이종이식편(MV9138)을 갖는 누드 마우스에서의 Fuc- 트라스투주맵의 생체내 항종양 활성을 도시한다. 종양이 촉진가능한 크기에 도달한 경우에 마우스에 지정된 투여량 수준이 처리되었다. 항체는 4주 동안 매주 2회 i.v. 투여되었다. 각각의 기호는 8마리의 동물 그룹의 평균 값 및 SEM을 나타낸다.
- [0514] **도 15A**는 체중 kg 당 30mg의 단일 용량 i.v. 투여 후의 Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 약동학을 도시한다. 동물의 항체 혈청 농도는 투여 후 10회의 시점에서 측정되었다. 각각의 기호는 3마리의 동물 그룹의 평균 값 및 SEM을 나타낸다. 데이터 포인트는 $1/Y^2$ 로 가중된 2상 지수 감소로 적합화되었다. **도 15B**는 단일 i.v. 주입 후의 Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 혈청 농도를 도시한다. 각각의 기호는 3마리 동물 그룹의 평균 값 및 표준 편차를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

실시예

실시예 1: 트라스투주맙 변이체의 당화 분석

트라스투주맙의 저 푸코실화 변이체인 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체(Fuc- 트라스투주맙, 이후에 TrasGEX™으로도 언급됨)를 본원에 참조로서 포함되는 WO 2008/028686 A2호에 기재된 바와 같이 감소된 푸코실화 활성을 갖는 인간 골수성 백혈병 세포주에서의 발현에 의해 획득하였다. 고 푸코스 항-HER2 항체 트라스투주맙(Fuc+ 트라스투주맙)을 햄스터 CHO 세포에서 생성시켰고, 따라서 이는 실질적으로 트라스투주맙(Herceptin®)에 해당한다.

더욱 상세히 Fuc- 트라스투주맙의 당화 패턴을 특성규명하기 위해, 글리코프로파일링(glycoprofiling) 연구를 수행하였다. 인간화된 IgG1 항체 트라스투주맙은 이의 중쇄 불변 영역 2 내에 하나의 N-당화 부위를 포함한다. 글리코프로파일링을 위해, 온전한 N-글리칸을 단백질 코어로부터 방출시키고, N-글리칸의 환원 말단을 형광 마커로 표시시켰다. 표시된 N-글리칸의 정제된 샘플을 UPLC에 의해 분리시켰다. 형광측정법 검출을 기초로 한 피크 영역을 N-글리칸 구조의 상대적 몰 존재비(relative molar abundances)의 계산에 이용하였다. 항체에 대한 측정된 데이터가 표 1에 요약되어 있다. 상기 값은 관심 당단류의 유형(예를 들어, 푸코스)을 함유하는 N-글리칸의 상대적 몰 함량을 나타낸다.

표 1

샘플	상대적 존재비 [mol%]*				
	F	S > 0	G > 0	G2	B
Fuc- 트라스투주맙	8	7	73	25	12
Fuc+ 트라스투주맙	86	1	42	6	0

* 글리칸 구조의 상대적 존재비는 N-글리칸의 전체량과 관련된다. F = 푸코실화된 N-글리칸; S > 0 = 시알릴화된 N-글리칸; G > 0 = 갈락토실화된 N-글리칸; G2 = 2 개의 갈락토스를 갖는 N-글리칸; B = 양분성 N-아세틸글루코사민을 갖는 N-글리칸.

글리코프로파일링은 Fuc- 트라스투주맙이 햄스터 CHO 세포(Herceptin®의 생성에 사용됨)에서 발현된 Fuc+ 트라스투주맙에 비해 훨씬 낮은 푸코스 함량 및 높은 bisGlcNAc 함량을 갖는 것을 나타낸다. 또한, Fuc- 트라스투주맙은 인간 세포주에서의 생성으로 인해 인간 당화 프로파일을 갖고, 이에 따라 검출가능한 NeuGc 및 검출가능한 Gal α1,3-Gal을 갖지 않는다.

Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙(Herceptin®)의 표적 결합, 특이성, 친화성 및 Fv 매개 항-종양 활성을 다양한 동등성 연구(또한 하기 실시예 참조), 특히 HER2 항원 ELISA, 유세포측정법 분석, HER2 하향조절, VEGF 생성의 감소, 종양 증식의 억제 및 종양 아포토시스의 유도에서 분석하였다. 결과는 본 발명에 따른 Fuc- 트라스투주맙이 종양 세포 증식 억제의 충분한 유지 및 종양 세포 아포토시스의 유도를 나타내는 것을 증명하였다. 따라서, Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙은 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 기본적으로 동등하다. 따라서, 치료 효능 및 특히 항-전이 활성과 관련된 개선은 감소된 푸코스 항 HER2 항체의 개선된 당화 특징에 기인한다.

실시예 1에 기재된 바와 같은 Fuc- 트라스투주맙을 이후의 분석 및 실시예에서 사용하였다.

실시예 2: 임상 연구

국소적으로 진행되거나 전이성인 HER2-양성 암을 갖는 환자에서 Fuc- 트라스투주맙의 I 상 용량 상승 및 약동학 연구(실시예 1 참조)를 수행하였다. 3주 투여 계획을 이용하였다. 환자에게 12 mg, 60 mg, 120 mg, 240 mg, 480 mg 또는 720 mg의 Fuc- 트라스투주맙을 투여하였다. 치료는 주로 첫번째 주입시에 단지 가끔씩의 주입-관련 반응(IRR)과 함께 안전하고 매우 잘 용인되었으며, 상기 IRR은 본원에 기재된 바와 같이 스테로이드, 및 특히 파라세타몰과 스테로이드의 조합물에 의해 조절될 수 있다.

[0526] 관찰된 약동학과 관련하여, Fuc- 트라스투주맵은 Herceptin[®]과 충분히 동등한 혈청 반감기, C_{max}, C_{min}, AUC 및 청소를 포함하는 약동학 특성을 나타내었다. 예를 들어, 첫번째 주입 후의 Fuc- 트라스투주맵의 순환 반감기 t_{1/2}은 용량 의존적이었고, 480 mg 주입 후에 213 ± 59시간인 혈청 t_{1/2} 및 720 mg 주입 후에 306 ± 131시간인 혈청 t_{1/2}로 Herceptin[®]과 충분히 동등하였다(도 1 참조).

[0527] 화학요법 및/또는 항체 요법의 다수의 이전 치료를 받은 상기 후기 단계 환자에서 인상적인 치료 효능이 관찰되었다. 치료 효과는 이전에 Herceptin[®]에 반응하지 않았던 환자에서 관찰되었다. 또한, Herceptin[®]에 대해 사용된 용량보다 적은 용량에서 반응이 관찰되었다. 또한, 1+ 및 2+(IHC에 의해 결정됨)와 같은 낮은 HER2 발현을 갖는 환자에서 치료 효능이 또한 관찰되었고, 여기서 수개월에 걸쳐 질병의 안정화가 달성될 수 있었다.

[0528] **표 2: 임상 연구에서 Fuc- 트라스투주맵으로 치료된 환자의 HER2 상태.**

HER2 상태	1+	2+	3+
전체 환자의 백분율	36 %	19 %	44 %
적어도 안정적 질병을 나타내는 각각의 HER2 상태를 갖는 환자	31 %	43 %	50 %
적어도 안정적 질병을 갖는 환자의 치료 주기의 평균 수	5.3	5.7	8.3
적어도 안정적 질병을 갖는 환자의 진행까지의 평균 시간 [일]	106	108	154

[0529]

[0530] Fuc- 트라스투주맵은 다양한 FcγRIIIa 상태를 갖는 환자에서 동등한 치료 효능을 나타내며, 이는 Fuc- 트라스투주맵을 이용한 치료가 FcγRIIIa 동종이형과 독립적임을 입증한다:

[0531] **표 3: 임상 연구에서 Fuc- 트라스투주맵으로 치료된 환자의 FcRIIIa 상태.**

FcγRIIIa 158 동종이형	F/F	F/V	V/V
전체 환자의 백분율	39 %	44 %	17 %
적어도 안정적 질병을 나타내는 각각의 FcγRIIIa 상태를 갖는 환자	50 %	38 %	50 %
적어도 안정적 질병을 갖는 환자의 치료 주기의 평균 수	5.9	7.8	6.7
적어도 안정적 질병을 갖는 환자의 진행까지의 평균 시간 [일]	99	160	130

[0532]

[0533] 또한, Herceptin[®]이 유의한 치료 효과를 나타내지 않은 적응증에서 치료 효능이 관찰되었다. 특히, 전이, 특히 피부 전이, 특히 궤양성 피부 전이, 폐 및 간 전이, 림프절 병변에 대해 높은 효능이 관찰되었고, 더욱이 환자, 특히 불치 환자에 대한 삶의 질을 유의하게 개선시키는 동통의 감소가 또한 관찰되었다. 또한, 결장암, 비소세포폐암종(NSCLC), 기관지암 또는 이하선 암종을 각각 갖는 환자의 효과적인 치료가 관찰되었다. 따라서, 수득된 임상 데이터는 본원에 기재된 신규한 치료 스케줄 및 환자 그룹에서 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 높은 치료 효능을 입증한다.

[0534] 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체, 즉, Fuc- 트라스투주맵(실시예 1 참조)의 투여시에 주요 반응을 갖는 환자의 선택된 기록이 하기 실시예에 기재된다. 종양 평가를 암 연구 및 치료를 위한 유럽 기구(European Organisation for Research and Treatment of Cancer)(EORTC), 미국 국립 암연구소(National Cancer Institute of the United States), 및 캐나다 국립 암연구소 임상 연구 그룹(National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group)을 포함하는 국제 협력에 의해 공개된 고형 종양에서의 반응 평가 기준 지침(guidelines for Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)(RECIST)에 따라 임상 연구 동안 수행하였다.

[0535] **실시예 3: Fuc- 트라스투주맵을 이용한 전이성 유방암으로 고통받는 강하게 이전 치료된 환자의 치료**

[0536] **환자 특징: 여성, F/F FcγRIIIa 상태**

- [0537] *이전 치료의 연표:*
- [0538] 2006년 9월:
- [0539] 우측의 국소 진행된 유방암의 진단(조직학: 침습성 유관암중; ER- PgR-; Herceptest 3+).
- [0540] 2006년 9월 내지 2007년 1월:
- [0541] 독소루비신 및 사이클로포스파미드를 이용한 4주기의 요법 후, 파클리탁셀을 이용한 2주기의 요법, 질병의 부분적 반응.
- [0542] 2007년 2월:
- [0543] 우측 유방절제술(조직학: 침습성 유관암중 GIII; ER- PgR-; Herceptest 3+).
- [0544] 2007년 3월 내지 6월:
- [0545] 파클리탁셀을 이용한 3주기의 요법 후, 우측 흉벽, 우측 겨드랑부위 및 쇄골상부위 및 우측 내부 유선띠(mammary chain) 상의 방사선요법.
- [0546] 2007년 4월 내지 2008년 6월:
- [0547] 트라스투주맵(Herceptin® Fuc+)을 이용한 치료.
- [0548] 2009년 3월:
- [0549] 질병의 재발(흉벽에서의 피부 전이, 종격 선병증). 피부 전이의 생검을 수행하였고, 유방암의 국소화를 확인하였다(ER-; PgR-; HER2/neu 3+).
- [0550] 2009년 4월 내지 5월:
- [0551] 트라스투주맵(Herceptin®) 및 도세탁셀을 이용한 3주기의 요법, 질병이 진행됨.
- [0552] 2009년 6월 내지 2010년 1월:
- [0553] 라파티니브 및 카페시타빈을 이용한 치료, 질병의 처음 부분적인 반응 후, 질병이 진행됨.
- [0554] 2010년 2월 내지 9월:
- [0555] 이다루비신, 에토포시드 및 시타라빈을 이용한 치료, 질병의 처음 부분적 반응 후, 질병이 진행됨.
- [0556] 2010년 10월:
- [0557] 피부 전이의 생검을 반복하였다(조직학: 유방암의 국소화; ER-; PgR-; HER2/neu 3+).
- [0558] 2010년 12월 내지 2011년 2월:
- [0559] 트라스투주맵(Herceptin®) 및 비노렐빈을 이용한 치료, 질병이 진행됨.
- [0560] 2011년 3월 내지 8월:
- [0561] 베바시주맵, 비노렐빈 및 카페시타빈을 이용한 8주기의 요법, 질병의 처음 부분적인 반응 후, 질병이 진행됨.
- [0562] 2011년 10월 내지 2012년 2월:
- [0563] 시스플라틴 및 젬시타빈을 이용한 4주기의 요법, 질병이 진행됨.
- [0564] *Fuc- 트라스투주맵을 이용한 치료*
- [0565] 상기 기재된 이전 치료에 실패한 후, 상기 환자를 2012년 3월에 Fuc- 트라스투주맵을 이용한 연구에 등록시켰다. 기준선에서, 환자는 피부 병변 및 종격 림프절 감염이 신속히 진행되었다. 특히, 피부 궤양형성의 다수의 출혈 부위와 함께 흉벽에서 확산성 피부 신생물 병발이 있었다. 피부 궤양형성 부위는 우측 복장옆 부위(최대 직경 6 cm)에서 더 컸다. CT 스캔은 종격 선병증의 존재를 입증하였다. 상기 기재된 이전 치료로부터 추론될 수 있는 바와 같이, 하나의 단일요법 및 2개의 조합요법으로 Herceptin®을 이용하여 효과가 관찰되지 않았다.
- [0566] 환자는 Fuc- 트라스투주맵을 이용한 6주기의 요법(약 3.3mg/kg의 투여량으로 다시 표현될 수 있는, 3주마다 240

mg)을 받았고, 잘 용인하였다. 피부 궤양형성 부위의 복구(reparation) 과정이 1주기의 8일, 즉, 최초 투여 후에 이미 인지가능하였고, 점차 더욱 명백해졌다. 3주기 후, 질병의 부분적 반응이 기록되었다. 피부 신생물 침윤이 전체적으로 개선되고, 특히 우측 복장옆 부위의 피부 궤양형성 부위가 완전히 치유되었다(도 2 참조). 또한, 림프절 감염(중격 선병증)의 강한 감소가 보고되었다. Fuc- 트라스투주맵의 처음 CT 스캔 및 3주기에서의 목표 합계의 72% 감소가 보고되었다(가장 긴 직경의 합계: 135mm로부터 37mm까지의 감소).

[0567] 실시예 3은 고 푸코스 항-HER2 항체(Herceptin®) 및 다수의 화학요법 치료를 이용한 치료에 실패한 강하게 이전 치료된 환자에서의 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 높은 효능을 입증하며, 특히 궤양성 피부 전이 및 림프절 전이에 대해 현저한 효과를 나타내었다. 따라서, 실시예 3은 종래에 비해 본 발명이 중요한 기여를 한다는 사실을 뒷받침한다.

[0568] **실시예 4: Fuc- 트라스투주맵을 이용한 결장암으로 고통받는 강하게 이전 치료된 환자의 치료**

[0569] **환자 특징: 여성, FcyIIIa 상태: F/V**

[0570] **최초 암의 특징:**

[0571] - 전이성 결장암 단계 IV

[0572] - 간 및 폐 전이를 갖는 침습성 시그마렉텀(sigmarectum) 암종

[0573] - HER2 3+ (Herceptest; 세포의 95%에서 완전 막 염색)

[0574] **이전 치료:**

[0575] 8개 계통의 이전 치료:

[0576] - 화학요법제 Folfox, Folfiri, 테가푸르 우라실 및 칼슘 폴리네이트 I을 포함하는 다양한 화학요법

[0577] - 항암 항체: 파니투모맵(항-EGFR 모노클로날 항체), 4*Avastin = 베바시주맵(항-VEGF 모노클로날 항체)와의 조합을 포함함

[0578] 기준선에서, 폐 및 간 전이가 진행됨.

[0579] **Fuc- 트라스투주맵을 이용한 치료:**

[0580] 환자에게 Fuc- 트라스투주맵을 이용한 5주기의 요법(약 7.5mg/kg의 투여량으로 다시 표현될 수 있는, 3주마다 480 mg)을 투여하였다. 치료는 잘 용인되었고, 중요한 치료 효과가 기록되었다. 특히, 표적 병변의 44%의 감소(가장 긴 직경의 합계: 197 mm로부터 111 mm로의 감소)가 달성되었다(8주 후의 첫번째 CT 스캔에서 기록됨). 실시예 4는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 놀랍게도 내장 전이, 예를 들어, 특히 폐 및 간 전이를 치료하는데 효과적인 것을 입증한다. 종래 분야가 트라스투주맵(Herceptin®)과 같은 고 푸코스 항-HER2 항체가 폐 및 간 전이에 대해 효과적이지 않은 것을 기재하므로 상기는 중요한 발견이다. 본 발명의 배경에 기재된 바와 같이, 내장 전이, 예를 들어, 폐 및 간 전이는, 특히 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맵(Herceptin®)으로 치료된 환자에서 재발의 우세한 측면이다. 본 출원에 기재된 상기 중요한 발견은 내장 전이, 특히 폐 및 간 전이로 고통받는 환자에게 신규한 치료 선택을 제공하는데, 이는 상기 전이가 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체로 치료될 수 있기 때문이다.

[0581] **실시예 5: Fuc- 트라스투주맵을 이용한 폐암으로 고통받는 환자의 치료**

[0582] **환자 특징: 남성, FcyIIIa 상태: F/F**

[0583] **최초 암의 특징:**

[0584] - 비소세포폐암종(NSCLC) 단계 IV

[0585] - HER2 3+

[0586] - TNM 암 병기결정: CT1BNOM1A (2 내지 3 cm 직경을 갖는 종양; 림프절로 확산 없음; 폐 또는 흉수 또는 심장막 액에서의 가까운 전이)

[0587] **연표:**

[0588] - 갑상샘암종으로 인해 1997년에 갑상샘절제술.

- [0589] - 2013년 1월에 자가면역 용혈 빈혈. 비소세포폐암종의 진단.
- [0590] *Fuc- 트라스투주맙을 이용한 치료:*
- [0591] 환자를 2013년 2월에 *Fuc- 트라스투주맙*을 이용한 연구에 등록시켰다. 기준선에서, 2개의 병변이 표적 병변으로 확인되었다. 현재까지, 환자는 *Fuc- 트라스투주맙*을 이용한 6주기의 요법(약 9.5 mg/kg의 투여량으로 다시 표현될 수 있는, 3주마다 720 mg)을 받았다. 표적 병변의 직경의 합계는 기준선과 RECIST 1.1.에 따라 평가된 종양 반응이 안정적 질병이었던 2개월 후의 평가 사이에 변경되지 않은 채로 유지되었다. 치료는 현재 진행중이다.
- [0592] **실시예 6:** *Fuc- 트라스투주맙을 이용한 이하선암으로 고통받는 환자의 치료*
- [0593] **환자 특징:** 남성, *Fcy IIIa* 상태: F/F
- [0594] **최초 암의 특징:**
- [0595] - 우측 이하선 암종 단계 IIB
- [0596] - HER2 3+
- [0597] - TNM 암 병기결정: CT3CN0CM0 (7 cm 초과와 직경을 갖는 종양; 림프절로 확산 없음; 전이 없음)
- [0598] **연표:**
- [0599] - 2011년 12월에 최초 진단, 에노랄(enoral) 종양 제거술
- [0600] - 2013년 1월에 국소 재발
- [0601] - 2013년 1월부터 3월까지 림프절 수준 I-III에서 아래턱뒤오목(retromandibular fossa)의 애쥬번트 방사선요법
- [0602] *Fuc- 트라스투주맙을 이용한 치료:*
- [0603] 환자를 2013년 2월에 *Fuc- 트라스투주맙*을 이용한 연구에 등록시켰다. 기준선에서, 하나의 병변이 표적 병변으로 확인되었다. 현재까지, 환자는 *Fuc- 트라스투주맙*을 이용한 6주기의 요법(약 8.9 mg/kg의 투여량으로 다시 표현될 수 있는, 3주마다 720 mg)을 받았다. 표적 병변의 직경의 합계는 기준선과 2개월 후의 평가 사이에 26%까지 감소하였다. RECIST 1.1.에 따라 평가된 종양 반응은 안정적 질병이었다. 치료는 현재 진행중이다.
- [0604] **실시예 7:** *Fuc- 트라스투주맙을 이용한 기관지암으로 고통받는 환자의 치료*
- [0605] **환자 특징:** 여성, *Fcy IIIa* 상태: F/F
- [0606] **최초 암의 특징:**
- [0607] - 기관지암 단계 IIIB
- [0608] - HER2 2+
- [0609] - TNM 암 병기결정: T2N3M0 (3 내지 7 cm 직경을 갖는 종양; 원위의 림프절로 확산; 전이 없음)
- [0610] **연표:**
- [0611] - 2012년 6월에 최초 진단, 경부 림프절 생검
- [0612] - 2012년 7월부터 2013년 1월까지 비노렐빈을 이용한 13주기의 요법
- [0613] *Fuc- 트라스투주맙을 이용한 치료:*
- [0614] 환자를 2013년 2월에 *Fuc- 트라스투주맙*을 이용한 연구에 등록시켰다. 기준선에서, 하나의 병변이 표적 병변으로 확인되었다. 현재까지, 환자는 *Fuc- 트라스투주맙*을 이용한 6주기의 요법(약 12.2 mg/kg의 투여량으로 다시 표현될 수 있는, 3주마다 720 mg)을 받았다. 2개월 후, RECIST 1.1.에 따라 평가된 종양 반응은 안정적 질병이었다. 치료는 현재 진행중이다.
- [0615] **실시예 8:** *Fuc- 트라스투주맙을 이용한 HER2를 중간 정도로 발현하는 HER2 양성 암으로 고통받는 강하게 이전 치료된 환자의 치료*
- [0616] 또한, 수행된 임상 연구에서, 단지 1+ 또는 2+(IHC에 의해 결정시)의 HER2 과발현을 나타내는 다양한 HER2- 양

성 암으로 고통받는 환자에서 강한 치료 효과가 관찰되었다:

[0617] 요로상피세포암종(단계 IV)으로 고통받는 한 환자(여성, Fcγ IIIa 상태: F/V, IHC에 의해 결정시 HER2 발현 1+)는 또한 암의 낮은 HER2 발현 상태에도 불구하고 연구 등록시 주요한 임상 반응을 나타내었다. 요로상피세포암종은 복막내 암종증 및 복막위 림프절병증을 갖는 병광이었다. 환자는 이전에 카르보플라틴 및 젠시타빈을 포함하는 여러 화학요법제로 치료되었다. 또한, 환자는 여러 암 외과적 처치를 받았다. 종양이 3회 재발하였다. 따라서, 수술 수행 및 화학요법제 치료에도 불구하고, 환자는 표적 병변으로 고통받으며, 연구 등록시에는 전이를 나타내었다. 상기 환자에서, 약 3.5 mg/kg의 투여량으로 다시 표현되는 주입 당 단지 240 mg의 투여량으로 Fuc- 트라스투주맙을 투여하는 경우에 질병의 안정화가 달성되었다. 또한, 환자는 또한 중요한 임상 효과인 동통의 강한 감소를 보고하였다. 이들 결과는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 단지 HER2의 중간 정도의 과발현을 나타내고, IHC에 의해 결정시 단지 1+의 HER2 양성 신생물 질병의 치료를 가능케 하는 것을 입증한다.

[0618] 진행성 유방암종으로 고통받는 환자(여성, Fcγ IIIa 상태: F/F, IHC에 의해 결정시 HER2 발현 1+)에서 유사한 결과가 또한 관찰되었다. 또한 여기서, 약 1mg/kg의 투여량으로 다시 표현되는 60 mg의 Fuc- 트라스투주맙의 매우 낮은 투여량을 투여하는 경우에도 질병의 안정화가 관찰되었다(상기 환자는 낮은 항체 투여량을 투여받는 코호트로 등록되었다).

[0619] 침습성 유방유관암종으로 고통받는 추가 환자(여성, Fcγ IIIa 상태: F/F, IHC에 의해 결정시 HER2 발현 2+)가 또한, 항체가 각 주기에서 60 mg의 매우 낮은 투여량(이는 약 1mg/kg의 농도로 다시 표현됨)으로 투여되는 경우에도 Fuc- 트라스투주맙의 투여시 진행중인 안정화를 나타내었다. 더 높은 투여량에서 관찰된 반응을 고려하여, 낮은 HER2 발현을 특징으로 하는 각각의 HER2 양성 암에서 또한 더 높은 투여량의 투여시에 더 강한 반응이 관찰될 것이 명백하다.

[0620] **실시예 9: 유해 반응**

[0621] 수행된 임상 연구에서, Fuc- 트라스투주맙을 이용한 치료에 의해 야기된 유해 반응이 또한 관찰되었다. 연구 동안, 심장 증상은 검출되지 않았다. 이는 Herceptin이 심장 반응을 야기시키는 것으로 공지되어 있으므로 중요하다. 또한, 등록된 환자의 강한 이전 치료 및 매우 진행된 질병 상태로 인해, 상기 환자는 전반적으로 건강이 불량하였고, 그러므로 심장 질병에 더욱 민감하다.

[0622] 또한, Fuc- 트라스투주맙은 또한 일반적으로 잘 용인되었고, 단지 가볍거나 중간 정도의 유해 사건을 나타내었다. 특히, 설사, 구역 및 구토와 같은 유해한 위장 반응이 관찰되지 않았고, 환자는 이들의 혈액 수에 있어서 유해한 변화를 갖지 않았다.

[0623] **실시예 10: 주입 관련 반응의 예방**

[0624] Fuc- 트라스투주맙의 치료 활성을 평가하기 위한 임상 연구에서, 또한 Fuc- 트라스투주맙의 주입에 의해 야기된 가벼운 유해 반응 내지 중간 정도의 유해 반응(주입 관련 반응, IRR)이 첫번째 및 두번째 코호트의 환자에서 관찰되었다. Fuc- 트라스투주맙의 이후의 투여에서 IRR을 예방하기 위해, 나머지 환자를 Fuc- 트라스투주맙 주입 전에 단독이거나 스테로이드 메틸프레드니솔론과 조합된 파라세타몰로 사전 치료하였다. 파라세타몰 사전 치료는 Fuc- 트라스투주맙 주입 전 저녁의 1000 mg의 1회 투여 및 1시간 전의 1000 mg의 1회 투여를 포함하였다. Fuc- 트라스투주맙 주입 30분 전에 일부 환자에 메틸프레드니솔론을 125 mg의 용량으로 추가 투여하였다. 환자의 사전 치료는 IRR을 감소시켰다. 특히, 파라세타몰 및 임의로 메틸프레드니솔론을 이용한 사전 치료를 받은 환자의 거의 50%는 Fuc- 트라스투주맙 주입시에 어떠한 IRR을 나타내지 않았다. 이는 사전 치료되지 않고, IRR을 나타낸 첫번째 환자가 Fuc- 트라스투주맙의 가장 낮은 용량을 투여받은 이후에 더욱 현저하였다. 따라서, IRR이 있었던 환자는 Fuc- 트라스투주맙 용량보다 40배까지 높게 투여받는 파라세타몰 및 임의로 메틸프레드니솔론을 이용한 사전 치료에 의해 완전히 예방될 수 있다.

[0625] 스테로이드 및 파라세타몰의 전투약의 도입 후, 7명의 환자 중 단지 한명이 IRR을 나타내었다. 상기 환자는 첫번째 및 두번째 주입으로 제한된 IRR 등급 2를 나타내었다. 스테로이드의 사용 없이는, 한명의 환자를 제외한 모든 환자에서 IRR이 적어도 1회 발생하였다(등급 1 내지 3). 따라서, 스테로이드 및 파라세타몰을 포함하고 바람직하게는 이로 구성되는 전투약을 이용하고, 각각의 전투약을 첫번째 주입 및 IRR 후의 단일한 다음 주입으로 제한하는 것이 권고된다. 바람직하게는, 파라세타몰은 감소된 글루코스 항-HER2 항체를 이용한 주입 전 저녁 및 1시간 전에 제공된다. 스테로이드(예를 들어, 125 mg 메틸프레드니솔론)는 바람직하게는 환자로의 주입 30분 전에 투여될 것이다. 첫번째 주입에서 임의의 IRR($IRR \geq$ 등급 1)의 부재하에서, 후속 주입에 대해 전투

약이 제공될 필요는 없다.

- [0626] 첫번째 주입 또는 후속 주입 중 하나 동안 임의의 IRR($IRR \geq$ 등급 1)이 발생하는 경우에서, 마지막 주입 동안 IRR($IRR \geq$ 등급 1)이 관찰되는 한 다음 주입에 대해 환자에게 전투약(예를 들어, 상기 기재된 바와 같이 파라세타몰 및 스테로이드)이 투여될 것이다. 환자가 임의의 IRR($IRR \geq$ 등급 1)의 두번째 재발을 경험하는 경우에서, 이러한 환자는 모든 이후의 주입에 대해 전투약(파라세타몰 및 스테로이드)을 받는 것이 권장된다.
- [0627] 이들 발견은 Fuc- 트라스투주맵 주입에 의해 야기된 IRR이 임의로 스테로이드, 예를 들어, 메틸프레드니솔론과 조합된 진통제, 예를 들어, 파라세타몰을 이용한 사전 치료에 의해 예방될 수 있는 것을 입증한다.
- [0628] **실시예 11: HER2를 발현하는 다양한 세포로의 다양하게 푸코실화된 항체 변이체의 결합**
- [0629] Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®])의 결합 특성을 비교하기 위해 여러 HER2 양성 세포주를 유세포측정법에 의해 분석하였다.
- [0630] 간단히, 표적 세포를 수거하고, 다양한 농도의 트라스투주맵 변이체와 함께 인큐베이션하였다. 세포를 세척하고, 어두운 곳에서 4℃에서 이차 Cy3-컨쥬게이션된 항-인간 IgG 항체와 함께 인큐베이션하였다. 세포를 세척하고, 유세포측정기 FACS Canto II(Becton Dickinson)에서 분석하였다. 살아있는 세포를 이들의 분산 특성을 기초로 하여 게이팅(gating)시키고, 양성 세포의 백분율을 FACSDiva 소프트웨어(Becton Dickinson)를 이용하여 계산하였다. 결과로서, Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®])은 도 3에 제시된 바와 같이 시험된 모든 종양 세포주에 대해 동등한 결합 특성을 나타낸다. 0.01 내지 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 전체 분석된 농도 범위에 걸쳐 양성 세포의 백분율에서 차이가 없었다.
- [0631] **실시예 12: 감소된 푸코스 항체 변이체 및 고 푸코스 항체 변이체에 의한 HER2 수용체의 하향조절**
- [0632] 가변 영역의 동일한 결합 특이성 및 친화성 및 이의 단백질 서열로 인해, 추가의 Fc 부분 매개 상호작용이 없는 HER2 수용체로의 항체의 결합에 의해 매개되는 메커니즘이 Fuc- 및 Fuc+ 트라스투주맵에 대해 동일한 것이 예상되었다. HER2 수용체로의 Herceptin[®]의 결합이 세포 표면 상에서의 수용체의 발현을 하향조절하는 것으로 보고되어 있다(Murphy et al., 2009; Cuello et al., 2001; Frankel, 2002; De Lorenzo et al., 2007). 세포 표면 상에서의 감소된 HER2 수용체 발현은 HER2 이중이합체 형성을 덜하게 하여, 성장인자-유도성 신호전달, 세포 주기 진행 및 증식의 억제를 발생시킨다.
- [0633] Herceptin[®]과 유사한 방식으로 HER2 수용체 발현을 하향조절하는 Fuc- 트라스투주맵의 능력을 분석하기 위해, 둘 모두의 항체에 대한 상기 작용 메커니즘을 비교하는 수용체 하향조절 연구를 수행하였다. HER2 수용체 하향조절을 유세포측정법 및 웨스턴 블롯에 의해 분석하였다.
- [0634] 유세포측정법 분석을 위해, ZR-75-1 세포를 96 웰 편평 바닥 플레이트에 시딩하고, CO₂ 인큐베이터에서 37℃에서 하루 동안 인큐베이션하였다. Fuc- 트라스투주맵, Herceptin[®] 또는 음성 대조군으로서 hIgG1을 다양한 농도로 첨가하였다. 플레이트를 CO₂ 인큐베이터에서 37℃에서 3 내지 4일 동안 인큐베이션하였다. ZR-75-1 세포를 수거하고, 트라스투주맵에 의해 결합된 것과 상이한 에피토프를 인지하는 FITC-컨쥬게이션된 항-인간 HER2 항체(BMS120FI, eBioscience, Bender Medsystems)로 염색하였다. 상기 항체를 이용하여, 트라스투주맵의 존재에도 불구하고 HER2 수용체의 염색이 가능하다. BMS120FI 양성 세포를 BD FACSDiva[™] 소프트웨어를 이용하여 BD FACS Canto II 유세포측정기에서의 유세포측정법에 의해 분석하였다.
- [0635] 도 4A는 Fuc- 트라스투주맵, Herceptin[®] 또는 hIgG1과의 인큐베이션 4일 후에 ZR-75-1 세포를 이용한 2개의 독립적 검정의 평균 결과를 도시한다. 데이터는 배지 대조군의 백분율로서의 HER2 수용체 발현을 나타낸다. Fuc- 트라스투주맵 또는 Herceptin[®]의 존재하에서의 HER2 발현이 배지 대조군에 비해 약 30%까지 감소된 것이 제시될 수 있었다. 인간 IgG1 아이소형 대조군은 HER2 수용체 발현을 감소시키지 않았다.
- [0636] 따라서, ZR-75-1 세포로의 Fuc- 트라스투주맵의 결합은 세포 표면 상의 HER2 수용체의 하향조절을 유도한다. HER2 하향조절의 수준은 Fuc- 트라스투주맵과 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®]) 사이에서 동등하였다.
- [0637] 유세포측정법 검정의 결과가 웨스턴 블롯에 의해 입증되었다. 간단히, ZR-75-1 세포를 10 cm 세포 배양 접시에 시딩하고, CO₂ 인큐베이터에서 37℃에서 하루 동안 인큐베이션하였다. Fuc- 트라스투주맵, Herceptin[®] 또는 음

성 대조군으로서 hIgG1을 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 첨가하였다. 플레이트를 CO_2 인큐베이터에서 37°C 에서 3 내지 4 일 동안 인큐베이션하였다. ZR-75-1 세포를 수거하고, 펠렛을 추가 사용을 위해 -80°C 에서 냉동 저장하였다. 펠렛을 프로테아제 억제제 카테일(PIC: 프로테아제 억제제 카테일 완전 Mini, Roche)을 함유하는 용해 완충액(Ripa-Buffer: 50 mM Tris-HCl pH 7.5; 150 mM NaCl; 1% Nonidet P-40; 0.5% 소듐데스옥시콜레이트; 0.1% SDS; 1 mM EDTA)에 용해시켰다. 세포를 얼음 상에서 10분 동안 용해시키고, 용해질을 원심분리에 의해 투명화시켰다. PIC를 첨가하고, 단백질 함량을 제조업체의 프로토콜에 따라 DC 단백질 검정(Bio-Rad Kit II)에 의해 결정하였다. 웨스턴 블롯을 SOP-07-10에 따라 수행하였다. 간단히, 세포 용해질을 환원 샘플 완충액 중에 희석시키고, 70°C 에서 10분 동안 변성시켰다. SDS-PAGE를 위해, 레인 당 30 μg 의 단백질을 7.5% Tris-HCl 레디 젤(ready gel)(Bio-Rad) 상에 로딩하였다. 니트로셀룰로스-막 상으로의 블로팅 후, 막을 블로킹시키고, HER2 수용체를 양-항 인간 ErbB2 항체(Abcam)를 이용하여 검출하였다. 이차 항체로서 호스라디쉬 퍼옥시다제(HRP)-결합된 토끼 항-양 항체(Abcam)를 사용하였다. 동등한 양의 단백질의 로딩을 위한 대조군으로서 이차 블롯을 동시에 수행하였고, β -액틴에 대한 토끼 항체(Cell Signaling)와 함께 인큐베이션하고, HRP-결합된 염소-항-토끼 IgG H+L 항체(Jackson ImmunoResearch)로 검출하였다. 웨스턴 블롯을 제조업체의 프로토콜에 따라 DAB 금속 강화 기질 키트(DAB Metal enhanced substrate kit)(Thermo Scientific)를 이용하여 발달시켰다.

[0638] 도 4B는 웨스턴 블롯 분석의 예를 도시한다. β -액틴 대조군은 동일량의 세포 용해질이 젤 상에 로딩되는 것을 나타낸다. HER2 수용체는 185kDa의 분자량을 갖는다. 해당 밴드는 배지 대조군 또는 아이소형 대조군 항체(hIgG1)에 비해 Fuc- 트라스투주맙 또는 Herceptin[®]과 인큐베이션된 ZR-75-1 세포의 용해질에서 급격히 감소된다.

[0639] 따라서, Fuc- 트라스투주맙이 Fuc+ 트라스투주맙(Herceptin[®])과 동등한 방식으로 ZR-75-1 세포에 대한 HER2 수용체의 발현을 하향조절하는 것이 웨스턴 블롯 및 유세포측정법에 의해 밝혀졌다.

[0640] **실시예 13: HER2 발현 중양 세포 증식의 억제**

[0641] HER2의 세포의 도메인 상의 트라스투주맙의 결합은 중양 세포의 증식의 억제를 발생시킨다(Brockhoff et al., 2007; Spiridon et al., 2002). Fuc- 트라스투주맙에 대한 상기 작용 메커니즘을 분석하기 위해, SK-BR-3 세포(인간 유방 암종 세포주)의 증식을 다양한 농도(0.1 - 1 $\mu\text{g/ml}$)의 Fuc- 트라스투주맙 또는 Fuc+ 트라스투주맙(Herceptin[®] Roche)을 이용하여 MTT 검정에서 측정하였다. MTT 검정은 살아있는 세포의 미토콘드리아 탈수소효소에 의한 가용성 황색 테트라졸륨 염 MTT (3-[4,5-디메틸티아졸-2-일]-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드; 티아졸릴 블루(Thiazolyl Blue))의 분해를 기초로 한 비-방사성 검정이다. 이는 570 nm에서 ELISA 판독기에서 측정될 수 있는 퍼플 포르마잔(purple formazan)의 형성을 발생시킨다. 흡수 신호는 배양 중인 살아있는 세포의 직접적인 척도이다.

[0642] 양성 대조군으로서, 증식은 탁솔의 첨가에 의해 완전히 억제되었고, hIgG1 또는 배지 단독을 음성 대조군으로 제공하였다. 간단히, SK-BR-3 세포를 96-웰 편평 바닥 플레이트에서 2일 동안 성장시켰다. Fuc- 트라스투주맙, Herceptin[®] 및 대조군 물질(hIgG1 및 탁솔(20 nM))을 첨가하고, 플레이트를 가습화된 CO_2 인큐베이터에서 37°C 에서 또 다른 4-6일 동안 인큐베이션하였다. 상층액을 완전히 제거하고, MTT를 첨가하였다. 세포를 가습화된 CO_2 인큐베이터에서 37°C 에서 MTT와 함께 2시간 동안 인큐베이션하였다. 상층액을 제거하고, 세포를 어두운 곳에서 실온에서 1시간 동안 HCl 및 2-프로판올 함유 용해 완충액을 이용하여 용해시켰다. 570 nm/630 nm에서의 흡수를 플레이트 판독기 Infinite F200(Tecan Austria GmbH)에서 측정하였다.

[0643] 도 5는 Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]을 이용하여 수행된 3개의 독립적 실험의 결과를 도시한다. 항체와의 인큐베이션 4일 후의 증식을 배지 대조군에서의 증식에 비해 계산하였다. 양성 대조군 탁솔(20 nM)은 최대 증식 억제(배지 대조군에 비해 단지 6% 증식; 데이터는 제시되지 않음)를 발생시켰다. Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]은 SK-BR-3 세포의 증식의 농도-의존적 억제를 유도하였다. 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 항체 농도에서, 증식은 50% 초과까지 감소되었다. 본페로니 사후검정(Bonferroni posttest)을 이용하여, 관찰되는 Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]에 의해 유도된 증식 억제에서 유의한 차이가 없었다. 인간 아이소형 대조군과 비교하여, 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 및 그 초과 농도에서 관찰된 SK-BR-3 세포의 증식에서 매우 유의한 감소가 있었다.

[0644] **실시예 14: HER2 발현 중양 세포의 아포토시스의 유도**

- [0645] 아폽토시스의 유도는 항체가 항-종양 활성을 매개할 수 있는 추가 메커니즘이다. 단량체 항체에 의한 아폽토시스의 직접 유도는 종종 비효과적인 한편(리튬시랍에 대해 관찰되는 바와 같음, Zhang et al., 2005), 항-인간 면역글로불린 또는 단백질 G에 의한 항체의 가교는 상기 작용 메커니즘을 유발시킨다. 생체내에서, 항체의 가교는 Fc-수용체-함유 세포에 의해 유도될 수 있다.
- [0646] Herceptin®의 아폽토시스 활성화에 관해 공개된 모순된 결과가 존재한다(Chakraborty et al., 2008; Brockhoff et al., 2007; Spiridon et al., 2002; De Lorenzo 2007).
- [0647] 상기 잠재적 작용 방식을 연구하기 위해, Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin®)에 의한 아폽토시스의 유도를 종양 세포주 BT474 상에서의 단백질 G와의 가교 후에 분석하였다. 아폽토시스의 유도를 위한 마커로서, 본 발명자는 BD PE 활성 카스파제-3 아폽토시스 키트를 이용하여 카스파제-3의 활성화를 분석하였다. 시스테인 프로테아제인 카스파제-3은 아폽토시스의 초기 단계 동안 활성화되는 주요 프로테아제이다. 이는 아폽토시스를 겪는 세포에서 가공되는 32 kDa의 비활성 효소전구체로서 합성된다. 가공된 형태는 회합하여 활성 카스파제를 형성하는 2개의 서브유닛(17 kDa 및 12 kDa)으로 구성된다. 활성 카스파제-3은 세포질 및 핵에서 다른 카스파제뿐만 아니라 표적을 단백질 분해적으로 분해하고 활성화시킴으로써 아폽토시스를 촉진한다. 카스파제의 활성화는 일반적으로 아폽토시스 경로에서 "돌아올 수 없는 지점"으로 간주된다. BD PE 활성 카스파제-3 아폽토시스 키트를 이용하여, 아폽토시스 세포는 카스파제-3의 비활성 효소전구체 형태를 인지하지 않는 카스파제-3의 활성 형태에 특이적인 항체로 염색된다.
- [0648] 간단히, 종양 세포주를 검정 전 하루 동안 1% FCS를 함유하는 배지 중에서 배양하였다. 세포를 48웰 플레이트로 시딩하고, 밤새 CO₂ 인큐베이터에서 37℃에서 인큐베이션하였다. 다양한 농도의 Fuc- 트라스투주맵, Herceptin® 또는 음성 대조군으로서 hIgG1 및 2 µg/ml의 최종 농도의 단백질 G를 첨가하였다. 플레이트를 CO₂ 인큐베이터에서 37℃에서 4 내지 48시간 동안 인큐베이션하였다.
- [0649] 제조업체의 프로토콜에 따라 세포(부착성 및 비-부착성 세포 둘 모두)를 수거하고, 투과화시키고, 고정시키고, 활성 카스파제-3에 대해 염색하였다. 활성 카스파제-3-양성(아폽토시스) 세포를 BD FACSDiva™ 소프트웨어를 이용하여 BD FACS Canto II 유세포측정기에서 유세포측정법에 의해 분석하였다. 도 6은 BT474 세포를 이용한 활성 카스파제-3 아폽토시스 검정의 결과를 도시한다. 단백질 G에 의한 가교 후, Fuc- 트라스투주맵은 BT474 세포에서 강한 농도-의존성 아폽토시스를 유도하였다. 아폽토시스 유도는 Fuc- 트라스투주맵과 Herceptin® 사이에서 동등하였고, 이에 의해 Fab 매개 종양 활성이 보유되는 것이 입증된다.
- [0650] **실시예 15: 다양하게 푸코실화된 항체 변이체의 ADCC 활성**
- [0651] 항체 Fc 도메인 내의 당화 부위 내의 푸코스 함량의 감소는 항원 양성 종양 세포의 특정 용해를 발생시키는 항체-의존성 세포 세포독성인 ADCC 활성의 증가를 발생시키는 것으로 보고되어 있다. 이러한 효과는 자연살세포 상의 FcγRIIIa 수용체에 대한 푸코스-감소된 항체의 더 높은 친화성 결합에 의해 야기된다. 아미노산 위치 158에서의 상기 수용체의 2개이 동종이형(V158F)이 인간 IgG1 항체에 대해 상이한 친화성을 갖는 것이 공지되어 있다. 일반적으로, V 대립유전자는 F 대립유전자 수용체보다 인간 IgG1에 대해 더 높은 친화성을 갖는다. 따라서, 상이한 FcγRIIIa 수용체를 갖는 공여체에 대한 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin®)에 비해 Fuc- 트라스투주맵의 ADCC 활성을 분석하였고, 동형접합 V/V, 동형접합 F/F 및 이형접합 F/V 공여체를 본 연구에 사용하였다. ADCC 활성의 크기는 세포 표면 상의 항원의 발현 수준에 의존되는 것이 보고되어 있으므로, 낮은 HER2 수준 또는 높은 HER2 수준을 발현하는 종양 세포주를 ADCC 검정에서 분석하였다.
- [0652] 검정을 유로퓸 방출 검정으로 수행하였다. 간단히, 전기천공에 의해 HER2-양성 표적 세포주(SK-BR-3; MCF-7)에 유로퓸(Eu³⁺)을 로딩시키고, 5시간 동안 다양한 농도의 Fuc- 트라스투주맵, Herceptin® 또는 인간 대조군 항체의 존재하에서 50:1의 효과기 대 표적 세포 비(E:T 비)로 해동된 일차 인간 말초 혈액 단핵세포(PBMCs, 액체 질소 중에 저장된, 효과기 세포)와 함께 인큐베이션하였다. 상층액으로의 유로퓸 방출(항체 매개 세포 사멸을 나타냄)을 형광 플레이트 판독기 Infinite F200(Tecan Austria GmbH)을 이용하여 정량하였다. 표적 세포와 트리톤-X-100의 인큐베이션에 의해 최대 방출을 달성시키고, 표적 세포 단독만을 함유하는 샘플에서 자연 방출을 측정하였다. 특정 세포독성을 하기와 같이 계산하였다:
- [0653] 특정 용해 % = (실험 방출 - 자연 방출) / (최대 방출 - 자연 방출) x100.

- [0654] 3개 모두의 동종이형의 상이한 공여체로부터의 효과기 세포를 이용한 높은 수준의 HER2(세포 당 $\sim 1 \times 10^6$ 개의 결합 부위)를 발현하는 표적 세포주 SK-BR-3, 및 낮은 HER2 수준(세포 당 $\sim 3 \times 10^4$ 개의 결합 부위)을 발현하는 표적 세포주 MCF-7에 대한 둘 모두의 항체로 수행된 다수의 실험의 결과를 분석하였다.
- [0655] Herceptin[®]에 비해 Fuc- 트라스투주맙의 ADCC 향상의 크기의 어렵셈을 위해, Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]의 농도 곡선을 각각의 공여체에 대해 동일 플레이트 상에서 동시에 측정하였다. GraphPad Prism 5 소프트웨어 버전 5.01에 의해 계산된 4-파라미터(4PL) 로지스틱 플롯(logistic plot)을 이용하여 단독으로 둘 모두의 항체에 대한 곡선 적합화를 수행하였다. 생성된 곡선으로부터, 상한 및 하한 용해 값 및 EC50 값을 계산하였다. 또한, 특정 항체 농도 또는 특정 용해 값에 해당하는 항체 농도에서의 특정 용해 값을 보간(interpolation)하였다. 최대 특정 용해를 상한 및 하한 곡선 값의 차이로 계산하였다.
- [0656] SK-BR-3 세포에 대한 ADCC 활성의 향상
- [0657] 13개의 상이한 공여체(3개의 V/V 공여체, 5개의 F/V 공여체, 5개의 F/F 공여체)를 Fuc- 트라스투주맙 또는 Herceptin[®]에 의해 매개된 SK-BR-3 세포에 대한 이들의 ADCC 활성화에 대해 분석하였다.
- [0658] Fuc- 트라스투주맙은 HER2 고 수준 발현 세포주 SK-BR-3에 대한 모든 공여체 동종이형에 대해 Herceptin[®]에 비해 강하게 향상되는 ADCC 활성을 매개한다. 도 7에서, 상이한 동종이형으로부터의 공여체로 수득된 농도 곡선의 대표 예가 제시된다.
- [0659] Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]로 달성된 최대 용해는 모든 공여체에 대해 동등하였고, 곡선은 Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]에 대해 동등한 특정 용해의 상한 및 하한 값을 나타내었다. 따라서, Fuc- 트라스투주맙의 ADCC 활성의 증가의 크기를, (i) 고정된 항체 농도에서의 특정 용해의 증가, 및 (ii) 둘 모두의 항체의 최대 절반 특정 용해(EC50 값)에 필요한 효과적인 항체 농도의 다른 파라미터에서의 곡선의 비교를 기초로 하여 모든 공여체에 대해 평가하였다.
- [0660] 0.5 ng/ml의 고정된 항체 농도에서, Fuc- 트라스투주맙은 모든 공여체 유형에 대해 특정 용해에서 현저한 증가를 나타낸다(도 7 참조). 모든 13개의 공여체로부터의 평균 Fuc- 트라스투주맙-매개 특정 용해는 12%의 Herceptin[®] 매개 특정 용해에 비해 39%였다. 항체-매개 특정 용해의 평균 차이는 V/V 또는 F/V 동종이형의 공여체(각각 28 및 26%)와 비교하여 F/F 동종이형의 공여체(60%)에서 가장 높았다. 평균 증가 지수는 6이었고, 이는 Fuc- 트라스투주맙에 대해 사멸된 종양 세포 %의 ADCC 활성화에서의 6배 증가를 나타낸다.
- [0661] 또한, 본 발명자는 최대 절반(50%) 특정 용해가 Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]에 대해 달성된 항체 농도(EC50 값)를 비교하였다. 항체의 더 높은 효능은 더 낮은 EC50 값과 서로 관련된다. EC50 값은 둘 모두의 항체에 대해 유의하게 상이하였다(p 값 0.0009; 양측 쌍체 스튜던츠 t-검정(two tailed paired student's t-test)). Fuc- 트라스투주맙은 Herceptin[®]에 비해 9배 더 낮은 EC50 농도 값에서 최대 절반 특정 용해에 도달한다. 개선 지수는 F/F 및 F/V 공여체에 대해 더 높았다.
- [0662] 요컨대, 상이한 동종이형의 13개의 인간 공여체를 이용한 ADCC 검정에서 Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin[®]에 의해 수득된 농도 곡선을 비교하였다. 곡선은 둘 모두의 항체에 의해 매개된 동등한 최대 용해를 나타낸 한편, Fuc- 트라스투주맙은 EC50 값 및 동일 특정 용해를 위해 필요한 농도의 9배 감소에 의해 나타나는 바와 같이 ADCC 활성의 약 9배의 개선을 나타내었다(세부에 대해서는 표 4 참조).

[0663]

표 4: SK-BR-3 세포에 대한 Herceptin®에 비한 Fuc- 트라스투주맙의 ADCC 검정 분석의 개요.

	Fuc- 트라스투주맙	Fuc+ 트라스투주맙	지수	지수의 범위
최대 용해 [%]	73.5	66.9	1	0.9-1.3
EC50 값	0.7	4.9	9	4-17
0.5 ng/ml에서의 특정 용해 [%]	39.4	11.7	6	2-28
Fuc- 트라스투주맙의 EC50에서 동일한 특정 용해에 필요한 농도 [ng/ml]	0.7	5.6	9	4-17
Fuc- 트라스투주맙의 2x EC50에서 동일한 특정 용해에 필요한 농도 [ng/ml]	1.5	11.6	9	4-19
Fuc- 트라스투주맙의 0.5x EC50에서 동일한 특정 용해에 필요한 농도[ng/ml]	0.4	3.0	9	6-17

13 개의 공여체(5 개의 FF, 3 개의 VV, 5 개의 FV) 사이에서의 Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin® 값의 평균 값 및 증가/개선의 개별적 지수의 평균 값 및 상기 지수의 범위가 제공된다.

[0664]

[0665]

MCF-7 세포에 대한 ADCC 활성의 향상

[0666]

12개의 상이한 공여체(3개의 V/V 공여체, 5개의 F/V 공여체, 4개의 F/F 공여체)를 Fuc- 트라스투주맙 및 Herceptin®에 의해 매개된 MCF-7 세포에 대한 이들의 ADCC 활성에 대해 분석하였다.

[0667]

MCF-7 세포에 대해, Fuc- 트라스투주맙은 모든 공여체 동종이형에 대해 Herceptin®에 비해 강하게 향상되는 ADCC 활성을 매개한다. 도 8에서, 상이한 동종이형으로부터의 공여체로 수득된 농도 곡선의 대표 예가 제시된다.

[0668]

MCF-7 세포는 세포 표면 상에서 SK-BR-3 세포보다 약 30배 덜한 HER2 항원을 발현한다. ADCC 활성이 세포 표면 상의 항원 밀도와 서로 관련됨에 따라, SK-BR-3 세포에 비해 MCF-7 세포에 대해 더 낮은 최대 용해가 예상되었다. 실제로, Fuc- 트라스투주맙의 평균 최대 특정 용해는 SK-BR-3 세포에 대한 74%에 비해 단지 40%였다. 이는 MCF-7 세포에 비해 SK-BR-3 세포에 대한 Fuc+ 트라스투주맙의 더 높은 ADCC 활성을 나타내는 스즈키(Suzuki) 및 그의 동료에 의한 보고(2007)와 일치한다. 현저하게, Fuc- 트라스투주맙으로 수득된 MCF-7 세포의 최대 용해는 Herceptin®에 비해 급격히 향상되었다(p 값 <0.0001). Fuc- 트라스투주맙에 의해 매개된 최대 용해는 17% 내지 72%였던 한편, Herceptin® 매개 최대 용해는 6 내지 29%의 범위로 훨씬 낮았다. Fuc- 트라스투주맙에 의해 매개된 평균 최대 용해는 3배(2x 내지 5x)까지 증가되었다.

[0669]

Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙에 의해 수득된 최대 특정 용해에서의 차이로 인해, 항체의 EC50 값의 비교는 정보를 제공하지 않는데, 이는 Fuc- 트라스투주맙의 훨씬 더 높은 특정 용해에도 불구하고 EC50 값이 동일할 수 있기 때문이다. 따라서, Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙의 결합 곡선의 차이를 (i) 10 ng/ml에서 달성된 특정 용해 및 (ii) 동일 특정 용해에 필요한 농도를 비교함으로써 분석하였다.

[0670]

10 ng/ml의 항체 농도에서 Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙에 의해 매개된 특정 용해는 둘 모두의 항체 사이의 유의한 차이를 나타낸다(p 값 < 0.0001). 18%의 특정 용해에서의 평균 증가가 관찰되었고, 이는 Fuc+ 트라스투주맙에 비해 Fuc- 트라스투주맙으로 수득된 10 ng/ml의 항체 농도에서의 3배 더 높은 특정 용해에 해당한다.

[0671]

최대 특정 용해의 95%에 필요한 Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙의 필요한 항체 농도 사이에서 유의한 차이가 있었다(p 값 0.03). 상기 포인트에서 동일한 특정 용해를 달성하기 위해 필요한 항체 농도는 다양한 공여체 사이에서 지수 5 내지 지수 138(개선 지수)까지 감소되었다(도 9 참조). 필요한 항체 농도에서의 감소는 FF 공여체에 대해 가장 높았다(개선 지수: FF 공여체 55, VV 공여체 28, FV 공여체 40).

[0672]

HER2 저 수준 발현 MCF-7 세포에서, 농도 곡선의 3개의 상이한 지점에서의 Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙의 ADCC 활성의 비교는 푸코스-감소된 트라스투주맙 항체에 대한 ADCC 항체의 급격한 증가를 나타내었다. 최대로 달성된 특정 용해(항체가 사멸시킬 수 있는 표적 세포의 백분율에 해당함) 및 10 ng/ml에서의 특정 용해가 5배 이하까지 증가되었다. 동일 특정 용해를 위해, Fuc+ 트라스투주맙과 비교하여 Fuc- 트라스투주맙의 138배 이하의 더 낮은 항체 농도가 필요하였다(표 5 참조).

[0673]

표 5: MCF-7 세포에 대한 Fuc+ 트라스투주맙에 비한 Fuc- 트라스투주맙의 ADCC 검정 분석의 요약.

	Fuc- 트라스투주맙	Fuc+ 트라스투주맙	지수	지수의 범위
최대 용해 [%]	40	16	3	2-5
10ng/ml 에서의 특정 용해 [%]	30	11	3	2-5
Herceptin®의 최대 용해의 95%에서 동일한 특정 용해에 필요한 농도[ng/ml]	2	58	43	5-138

12 개의 공여체(5 개의 FF, 3 개의 VV, 4 개의 FV) 사이에서의 Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙 값의 평균 값 및 증가/개선의 개별적 지수의 평균 값 및 상기 지수의 범위가 제공된다.

[0674]

추가 결과

[0675]

HER2 상태에 따른 세포주의 특징이 하기 표 6에 제공된다:

[0676]

표 6: 다양한 세포주의 HER2 상태

	HER2 (IHC, Hercep시험)	HER2 (WB, BT474 HER2의 %)	FISH	FACS (% 양성 세포)	FACS (1 µg/ml에서의 MFI, BT474의 %)
BT474	3+	100	증폭됨	99	100
SK-BR-3	3+	103	증폭됨	98	83
NCI-N87	2+	241	증폭됨	93	83
SKOV-3	3+	176	증폭됨	99	12
ZR-75-1	2+	21	증폭되지 않음	50	7
PANC-1	1+			22	4
MCF-7	0 - 1+	1.03	증폭되지 않음	31	4

[0678]

[0679]

상기 기재된 것과 유사한 실험에서의 추가 결과가 또한 도 10 내지 12에 제시된다. 도 10은 Fuc- 트라스투주맙 (저 푸코스, 증가된 bisGlcNAc)의 당최적화(glycooptimization)가 모든 환자 서브그룹, 특히 낮은 HER2 발현 종양을 갖는 환자 서브그룹의 치료에 대해 매우 개선된 ADCC 활성을 발생시키는 것을 도시한다. 도 11에 제시된 결과는 증가된 ADCC 반응이 모든 PBMC 공여체를 이용하여 관찰되는 것을 입증한다. 동일 ADCC 반응을 위해 10 내지 140배 덜한 항체 농도가 필요하다. Fuc- 트라스투주맙은 고 HER2 세포(SK-BR-3) 뿐만 아니라 저 HER2 세포(MCF-7)에서 향상된 ADCC 반응을 나타내었다. 도 12는 고 HER2 SK-BR-3 세포를 이용한 실시예 1에 기재된 바와 같은 Fuc- 트라스투주맙(TrasGEX™으로도 언급됨)에 대한 다양한 동종이형의 14개의 공여체를 이용한 ADCC 검정으로부터 수득된 EC50 값을 도시한다. 도 12A는 14개의 개별적 공여체의 EC50 값을 도시한다. 각각의 기호는 개별적 공여체를 나타낸다. 중간 수준이 선으로 제공된다. 도 12B는 공여체의 개선 인자(EC50 Herceptin®/EC50 Fuc- 트라스투주맙)를 도시한다. 각각의 기호는 개별적 공여체를 나타낸다. 평균 값이 선으로 제공된다.

[0680]

Fuc+ 트라스투주맙에 비한 Fuc- 트라스투주맙의 ADCC 검정 분석의 요약

[0681]

Fuc- 트라스투주맙 및 Fuc+ 트라스투주맙(Herceptin®)의 ADCC 활성의 비교는 고 HER2 수준 뿐만 아니라 저 HER2 수준을 발현하는 종양 세포에 대한 푸코스-감소된 트라스투주맙 항체에 대한 ADCC 활성의 급격한 증가를 나타낸다. Fuc- 트라스투주맙에 의해 매개된 ADCC 증가는 특히 저 HER2 수준을 발현하는 종양 세포에서 현저하다.

[0682]

결과에 의해 입증되는 바와 같이, 저 HER2 발현 종양(MCF-7)에 대한 최대 Fuc- 트라스투주맙 매개 ADCC 증가는 평균에서 43배의 증가와 함께 ~140배 이하의 증가였고, 고 HER2 발현 종양(SK-BR-3)에 대해서는 평균에서 9배의

증가와 함께 ~30배 이하의 최대 증가였다. 실제로, 최대 종양 세포 용해 %는 Fuc- 트라스투주맵을 이용하는 경우에 저 HER2 발현 종양에 대해 5배 이하(평균 3배)로 강하게 증가된다. 저 HER2 발현 종양에 대한 높은 효과는 적거나 중간 정도의 양의 HER 과발현만을 나타내는 HER2 양성 암의 치료가 가능해짐에 따라 감소된 푸코스 항-HER2 항체에 대한 중요한 치료 선택을 제공한다. 상기 기재된 바와 같이, 치료 효과는 심지어 IHC에 의해 결정시 단지 1+(HER2 1+)의 HER2 과발현을 나타내는 환자에서 관찰되었다.

[0683] 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 종양 작용의 주요 방식인 ADCC 활성화에서 높은 증가를 나타낸다. 또한, 최적화된 당화로 인해 달성된 효과는 적합한 환자 스펙트럼을 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체로부터 이제까지 이익을 얻지 못한 환자까지 확장시킨다. 본원에 제시된 바와 같이, 고 푸코스 항-HER2 항체, 예를 들어, Herceptin®에 대한 20% 미만 대신 모든 FcγRIIIa 동종이형에 대해 치료 효과가 관찰된다. 또한, 더 낮은 HER2 발현을 갖는 환자가 또한 기재된 치료로 이익을 얻을 수 있다. 이는 특히 전이, 특히 케양성 피부 전이 및 내장 전이, 예를 들어, 폐 및 간 전이에 대해 관찰된 신규한 치료 효과를 고려하여 중요한 효과이다.

[0684] 상기 시험관내 실험에 의해 입증된 Fuc- 트라스투주맵의 증가된 ADCC 활성화는 특히 저 푸코스 함량(10% 미만)을 기초로 하며, 또한, Fc 단편의 당화의 양분성 GlcNAc의 향상된 양(10% 초과)에 의해 뒷받침된다.

[0685] **도 16: 다양하게 푸코실화된 항체 변이체의 생체내 약리학**

[0686] Fuc- 트라스투주맵의 약리학적 효과를 연구하기 위해 마우스 및 시노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey)에서 여러 생체내 연구를 수행하였고, 이중 일부는 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin®)과 비교하여 수행하였다.

[0687] Fuc+ 트라스투주맵을 이용한 조직 상호반응성 연구는 항체가 오직 인간 및 시노몰구스 원숭이 조직과 반응하고, 설치류 조직 또는 임의의 다른 동물 종의 조직과 반응하지 않는 것을 나타내었다. Fuc- 트라스투주맵이 Fuc+ 트라스투주맵과 동일한 항원 결합 특이성, 친화성 및 작용 방식을 나타냄에 따라, 이의 조직 반응성이 Herceptin®과 동일한 것이 예상된다. 따라서, 인간 종양 세포의 이중이식 모델을 이용한 설치류 연구는 중요한 효능 연구로 간주된다.

[0688] 설치류와 달리, 시노몰구스 원숭이는 Fuc+ 트라스투주맵의 안전성 및 독성 시험에 적절한 종으로 간주되었고, 따라서 또한 Fuc- 트라스투주맵의 독성 시험과 관련성이 있다.

[0689] **동물 모델에서의 항종양 활성**

[0690] 다양한 종양 모델에서 Fuc- 트라스투주맵의 효능을 분석하는 누드 마우스에서의 약리학 연구를 수행하였고, 또한 Fuc+ 트라스투주맵과 비교하였다. 인간 세포주 BT474 또는 환자 유래 암종으로부터의 HER2 양성 종양 세포가 이중이식된 무흉선 누드 마우스를 이용하였다.

[0691] 상기 연구에서, 1×10^7 개의 종양 세포를 누드 마우스(N = 그룹 당 8마리)에 피하(s.c.) 이식하였고, 촉진가능한 크기에 종양이 도달할 때까지 성장시켰고, 이는 이식 약 7-13일 후에 달성되었다. 표적 종양 크기는 $\sim 0.1 \text{ cm}^3$ 였다. 이 시점에서, 항체 처리를 시작하였다. 종양 크기를 측정기-유사 기구를 이용하여 매주 2회 측정하였다. 개별적 종양 부피를 계산($V = (\text{길이} + \text{폭}^2)/2$)하고, 치료 첫째날의 값과 관련시켰다(상대 종양 부피). 일차 종양 성장 억제와 관련하여 치료 효과를 결정하였다.

[0692] Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵(N = 8f/그룹)을 3 mg/kg 및 30 mg/kg의 용량 수준으로 4주 동안 매주 2회 정맥내 투여하였다. 적용 부피는 둘 모두의 항체 제형에 대해 체중 g 당 10 μl 였다. 주사 용액 내의 농도의 조정을 PBS를 이용한 희석에 의해 수행하였다. 실험 설정을 위해, 처리 기간 동안 투여 정확성 및 동등성을 향상시키기 위해 체중 기반 투여를 선택하였다(Fichtner et al. 2008, Steiner et al. 2007). Mabthera® (Roche)을 관계 없는 항체 대조군으로 제공하였고, 30 mg/kg의 용량 수준으로만 투여하였다. 이중이식된 마우스를 종양이 촉진가능한 크기에 도달한 경우 지정된 투여량 수준으로 처리하였다. 각각의 기호는 8마리의 동물 그룹의 평균 값 및 SEM을 나타낸다. 처리된 동물의 평균 상대 종양 부피가 도 13A에 제시된다.

[0693] 둘 모두의 항체 Fuc- 트라스투주맵 뿐만 아니라 Fuc+ 트라스투주맵은 PBS 처리된 동물에 비해 BT474 종양 성장을 강하게 억제한다($p < 0.001$). 용량 수준 사이에 유의한 차이가 관찰되지 않았다. Fuc- 트라스투주맵은 8개의 종양 중 8개에서 종양 완화를 야기시켰고, Herceptin®은 8개의 종양 중 7개에서 종양 완화를 야기시켰다. Fuc- 트라스투주맵 처리된 군 및 Fuc+ 트라스투주맵 처리된 군에서의 상대 종양 부피 및 종양 완화의 수 사이의

유의한 차이가 상기 용량 그룹에서 발견되지 않았다. 따라서, 본 실험은 Fuc- 트라스투주맵이 강한 용량 의존성 항-종양 활성을 나타내는 것을 입증한다. Fuc- 트라스투주맵 및 Fuc+ 트라스투주맵의 동등한 효능이 상기 모델에서 예상되었는데, 이는 마우스가 수행된 당최적화, 즉, 푸코스의 감소 및 bisGlcNAc의 증가에 대해 민감하지 않기 때문이다. 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체의 개선 및 신규한 치료 선택은 특히 본원에 제시된 임상 데이터에 의해 입증된다. 동물의 체중에서의 유의한 변화가 관찰되지 않았고, 이는 독성이 발생하지 않은 것을 나타낸다.

[0694] Fuc- 트라스투주맵의 항종양 효과의 용량 의존성을 연구하기 위한 이차 연구를 수행하였다. 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg의 Fuc- 트라스투주맵 범위의 5개의 상이한 용량 수준을 연구하였다. Fuc- 트라스투주맵(N=8)을 4주 동안 매주 2회 정맥내 투여하였다. 동물의 평균 상대 종양 부피가 도 13B에 제시된다. Fuc- 트라스투주맵은 비히클 처리된 동물에 비해 BT474 종양 성장을 강하고 용량 의존적으로 억제하였다($p < 0.001$).

[0695] 동물의 체중에서의 유의한 변화가 관찰되지 않았고, 이는 독성이 발생하지 않은 것을 나타낸다.

[0696] **실시예 17: 환자 유래 종양 모델**

[0697] Fuc- 트라스투주맵의 항종양 활성을 위 기원의 인간 환자 유래 암종 이종이식편을 갖는 면역 결핍성 누드 마우스에서 연구하였다. 환자 유래 종양 세포의 이종이식편은 종양 세포주보다 본래의 조직과 더 유사한 것으로 추정되며, 따라서 더 높은 임상적 관련성이 있는 것으로 간주된다. 종양 모델을 면역조직학적으로 평가된 이의 양성 HER2 발현 상태에 따라 선택하였다. 위 암종 기원의 종양은 면역조직화학에 의해 중간 정도의 수준의 HER2를 발현하는 것으로 밝혀졌다.

[0698] 위 모델에서, Fuc- 트라스투주맵(N = 8 m/그룹)을 1 mg/kg 및 10 mg/kg의 용량 수준으로 4주 동안 매주 2회 i.v. 투여하였다. 주사 용액 내의 농도의 조정을 제형 완충액을 이용한 희석에 의해 수행하였다. 적용 부피를 체중 g 당 10 μ l로 일정하게 유지시켰다. 동물의 평균 상대 종양 부피가 도 14에 제시되어 있다.

[0699] Fuc- 트라스투주맵은 종양 성장을 유의하게 억제($p < 0.001$)하였고, 이에 의해 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 중간 정도의 수준의 HER2를 또한 발현하는 HER2 양성 종양의 치료에 적합한 것이 입증된다. 효능에서의 주요 차이가 2개의 시험된 용량 수준 사이에서 관찰되지 않았고, 이는 다시 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체가 이미 작은 투여량에서 매우 효과적인 것을 입증한다. 동물은 조기 사망하지 않았다. 동물의 체중에서의 유의한 변화가 관찰되지 않았고, 이는 독성이 발생하지 않은 것을 나타낸다.

[0700] **실시예 18: 약동학**

[0701] Fuc- 트라스투주맵의 PK/TK 프로파일을 Herceptin[®]과 비교한 누드 마우스에서의 Fuc- 트라스투주맵의 혈청 반감기를 평가하기 위한 단일 용량 PK 연구에서 연구하였다.

[0702] 또한, Fuc- 트라스투주맵의 PK/TK 프로파일을 Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 PK 프로파일을 비교하는 단일 용량 시노물구스 원숭이 연구에서 특성규명하였다. 본 연구에서 수거된 혈장 샘플을 ELISA 방법에 의해 분석하였다.

[0703] 누드 마우스에서의 혈청 반감기

[0704] Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 약동학 거동을 체중 kg 당 10 ml의 적용 부피의 체중 kg 당 30mg의 단일 정맥내(i.v.) 볼루스 투여 후의 누드 마우스(N = 3 f/그룹)에서 연구하였다. 1 mg/kg 내지 100 mg/kg의 용량 수준을 효과적인 범위 내인 것으로 간주(Fujimoto-Ouchi et al., 2007; Baselga et al., 1998; Pietras et al., 1998)하였고, 또한 Herceptin[®](EMEA, Herceptin[®]에 대한 EPAR)과의 단일 용량 약동학 연구에서 사용하였다. 혈액 샘플을 투여 전(-1d), 투여 후 5분, 1시간, 6시간, 24시간 및 3일, 5일, 7일, 10일, 15일, 21일에 수집하였다. 항체 혈청 수준을 시판되는 역가 ELISA 검정에 의해 결정하였다. 검정의 교정 범위는 혈청 ml 당 1 내지 1000 ng의 항체였다. 결과는 도 15A에 제시된다.

[0705] Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 주사 용액의 농도를 PBS를 이용한 희석에 의해 조정하였다.

[0706] Fuc- 트라스투주맵 뿐만 아니라 Herceptin[®]은 각각 3.5시간 및 3.0시간의 최초 반감기와 함께 2상 지수 감소를 나타냈다. Fuc- 트라스투주맵의 말단 반감기는 5.4일(130시간과 동등함)이고, Herceptin[®]은 5.5일(132시간과

동등함)이다. 최대 혈장 농도는 Fuc- 트라스투주맵에 대해 $801 \pm 151 \mu\text{g/ml}$ 였고, Herceptin[®]에 대해서는 $868 \pm 84 \mu\text{g/ml}$ 였다. 혈장 농도 및 반감기에서의 상기 차이는 통계적으로 유의하지 않고, 따라서, 둘 모두의 항체의 약동학 거동은 유사한 것으로 간주된다. 이들 결과는 공개된 데이터와 양호하게 일치한다(Palm et al., 2003; $t_{1/2} = 110 \text{ h}$).

- [0707] 시노물구스 원숭이로의 단일 정맥내 1-h 주입 후의 Herceptin[®] 과 비교한 Fuc- 트라스투주맵의 약동학 연구
- [0708] 본 연구의 목적은 시노물구스 원숭이로의 단일한 1시간의 i.v. 주입 후 20일의 관찰 기간 후에 참조 생성물 Herceptin[®] 과 비교한 Fuc- 트라스투주맵의 약동학을 평가하는 것이었다.
- [0709] 3마리의 수컷 시노물구스 원숭이를 각각 포함하는 2개의 그룹에 단일한 1시간의 i.v. 주입에 의해 체중 kg 당 40 mg의 용량(bw)의 Fuc- 트라스투주맵 또는 Fuc+ 트라스투주맵(Herceptin[®])을 처리하였다. 1-47 mg/kg Herceptin[®] (EMA, Herceptin[®]에 대해 EPAR)의 용량으로 사용된 레서스(rhesus) 및 시노물구스 원숭이에서의 약동학 및 독성학 연구를 참조하여 용량을 선택하였다.
- [0710] 동물을 거동 변화, 처리에 대한 반응 또는 질병의 임의의 징후에 대해 각각의 투여 시점에서 투여 전 및 투여 후에 개별적으로 관찰하였다. 케이지 측 관찰은 피부/모피, 눈, 점막, 호흡계 및 순환계, 몸운동 활동 및 거동 패턴을 포함하였다. 주입 부위에서의 시험 또는 참조 항목의 국소적 용인성에 특히 관심을 두었다. 각각의 원숭이의 체중을 투여전, 연구 개시 및 이후 하루 중 동일 시간에서 주중 동일한 날짜에 항상 매주 간격으로 기록하였다.
- [0711] 혈액 표본추출을 주입 전, 1시간의 주입 종료 직후(2분 이내) 및 주입 종료 후 2, 4, 6, 8, 12 및 24시간에서 수행하였다. 또한, 주입 종료 후 시험일 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 및 20일에 혈액 샘플을 수집하였다. 표준 독성역학 파라미터를 평가하였다.
- [0712] 연구 과정 동안 어떠한 동물도 조기 사망하지 않았거나, 전신 독성의 임상적 징후를 나타내지 않았다. 시험 항목-관련 영향 또는 국소적 불내성이 인지되지 않았다. $C_{\max}$ 수준을 Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®] 둘 모두에 대해 1시간의 주입 직후(2분 이내)에 관찰하였고, 동일 범위 내인 것으로 밝혀졌다. 시험 1일에 각각, Fuc- 트라스투주맵의 말단 평균 혈청 제거 반감기는 170시간이었던 한편, Herceptin[®]의 말단 평균 혈청 제거 반감기는 195시간이었다. Herceptin[®]에 비한 Fuc- 트라스투주맵의 독성역학 파라미터 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없었다($p \leq 0.01$ 에서)(도 15B). 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체는 상응하는 고 푸코스 항-HER2 항체와 유사한 약동학 거동을 나타낸다. 이는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-HER2 항체를 이용하여 관찰되는 개선되고 신기한 치료 효과가 실제로 변화된 당화로 인해 변화되는 종양 활성에 기인되고, 약동학 거동에서의 변화에 기인되는 것이 아님을 입증한다.
- [0713] 원숭이 혈청에서의 평균 독성역학 파라미터가 표 7에 제공된다.

[0714] 표 7: 단일 항체 주입 후에 계산된 독성역학 파라미터.

투여량		$C_{\max}^{\#}$ [$\mu\text{g/mL}$]	$t_{\max}^{\#, \#\#}$ [h]	$t_{1/2}$ [h]	$AUC_{0-t \text{ last}}$ [$\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$]	$AUC_{0-\infty}$ [$\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$]
40 mg Fuc- 트라스투주맵 /kg	평균	970.6	1.67	170.27	92877.5	108755.3
	SD	192.9	1.15	33.89	13427.9	20822.2
40 mg Herceptin [®] /kg	평균	958.2	2.33	194.97	107565.2	131068.3
	SD	72.0	1.15	8.98	3184.5	4254.7

SD 표준 편차; # Fuc- 트라스투주맵 및 Herceptin[®]의 혈청 분석으로부터 취득된 값, 모든 다른 값은 독성역학 분석에 의해 계산됨; ## 주입 종료 후의 시간

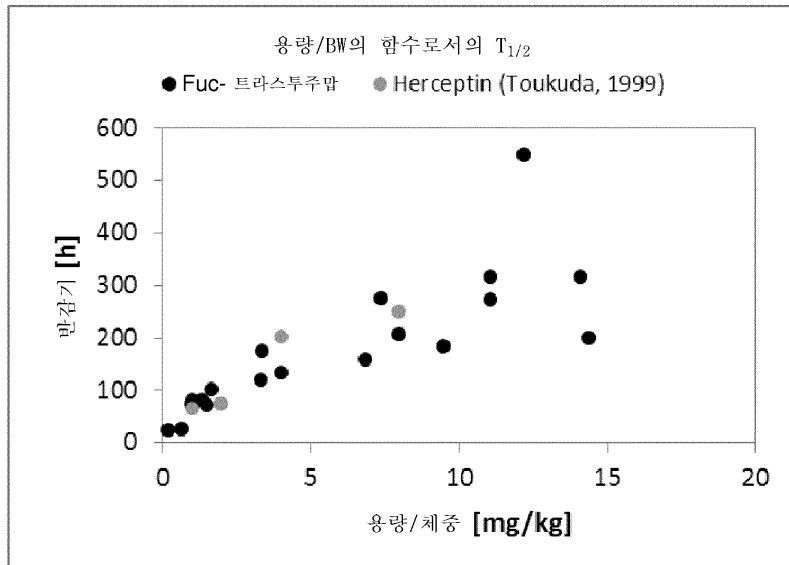
- [0715]
- [0716] 반복 용량 독성연구를 시노물구스 원숭이에서 수행하였다. 용량 범위 발견 연구에서, 다음과 같은 용량 수준을 시험하였다: 5, 20, 및 40 mg/kg bw/일의 Fuc-트라스투주맵. 투여 스케줄은 2주 동안 매주 2회였고, 전체 5회 투여였다. 투여 경로는 1시간의 iv 주입이었다. 표준 독성학 파라미터를 연구하였고, 처리-관련 효과가 관찰되지 않았다.

[0717]

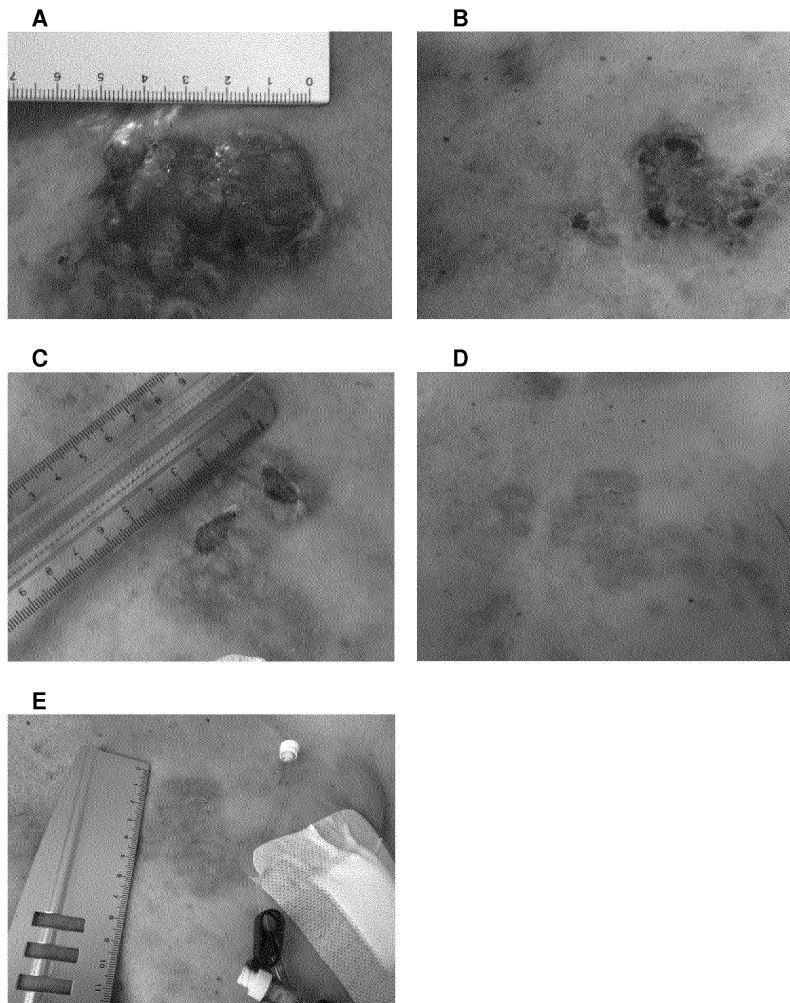
주요 4주 반복 용량 연구에서, 다음과 같은 용량 수준을 시험하였다: 40, 20 및 5 mg/kg Fuc- 트라스투주맙. 투여 스케줄은 4주 동안 매주였고, 전체 5회 투여였다. 투여 경로는 1시간의 iv 주입이었다. 면역원성 및 안전성 약리학적 파라미터를 포함하는 표준 독성학 파라미터를 연구하였다. 유해 효과 및 40 mg/kg b.w./용량 초과에서의 관찰 유해 효과 수준이 발견되지 않았다. 또한, 인간 및 시노물구스 원숭이 조직에서의 조직 상호반응성을 수행하였고, 조직 상호반응성은 Fuc+ 트라스투주맙(Herceptin[®])과 동등한 것으로 밝혀졌다.

도면

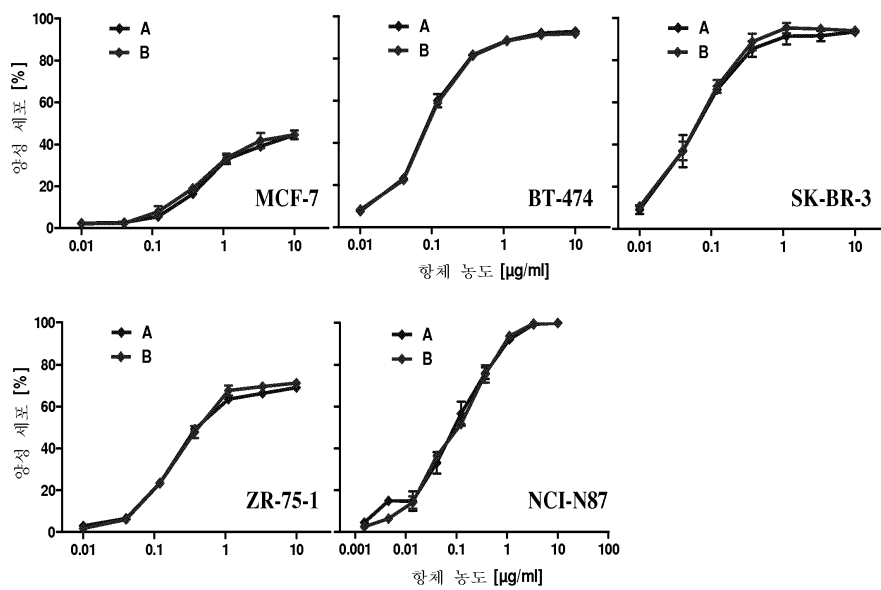
도면1



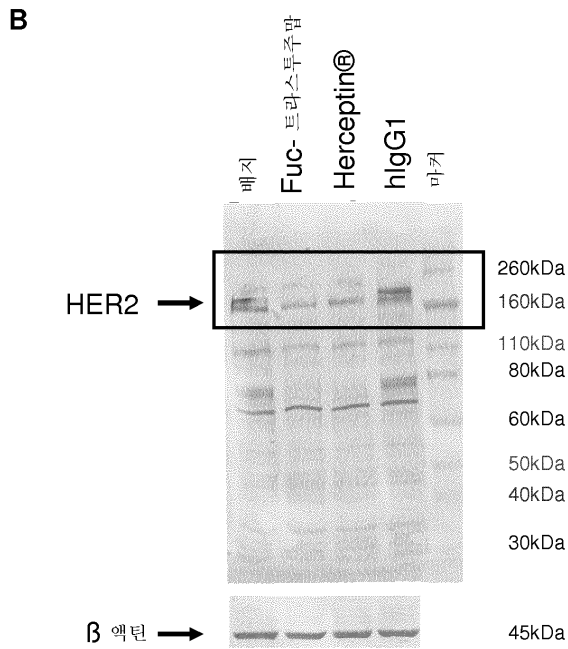
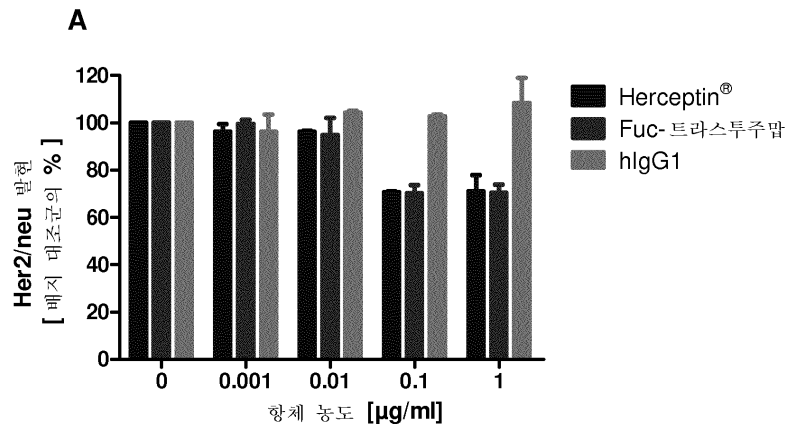
도면2



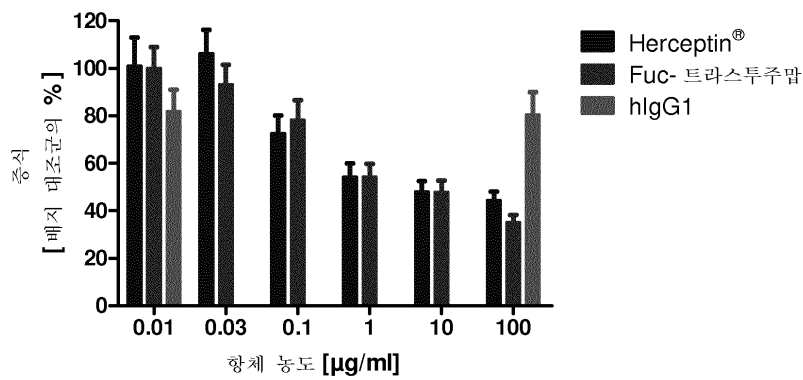
도면3



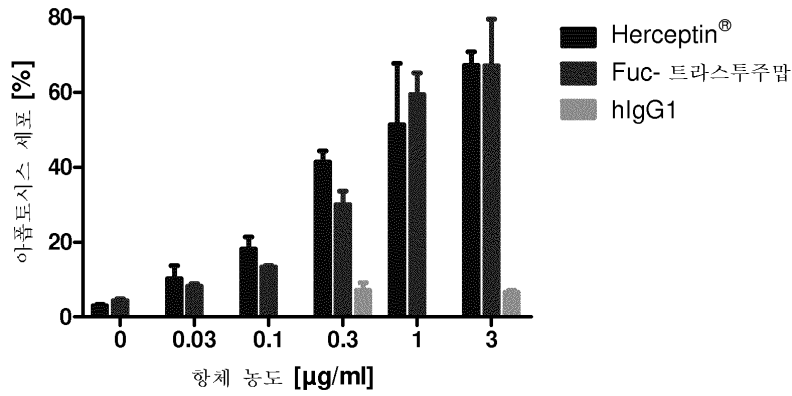
도면4



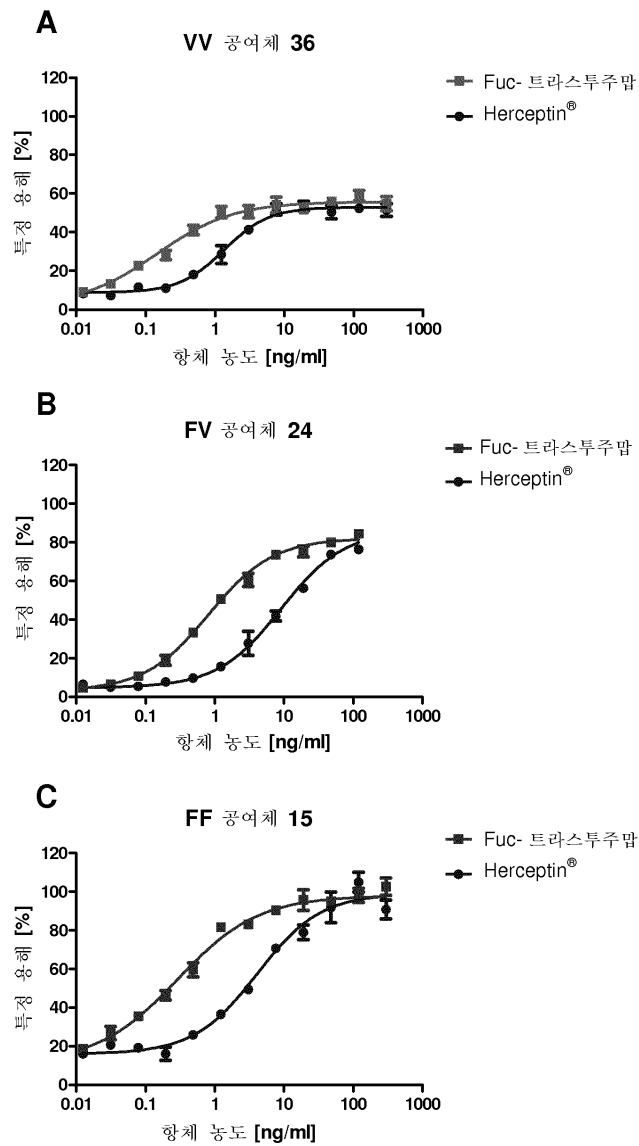
도면5



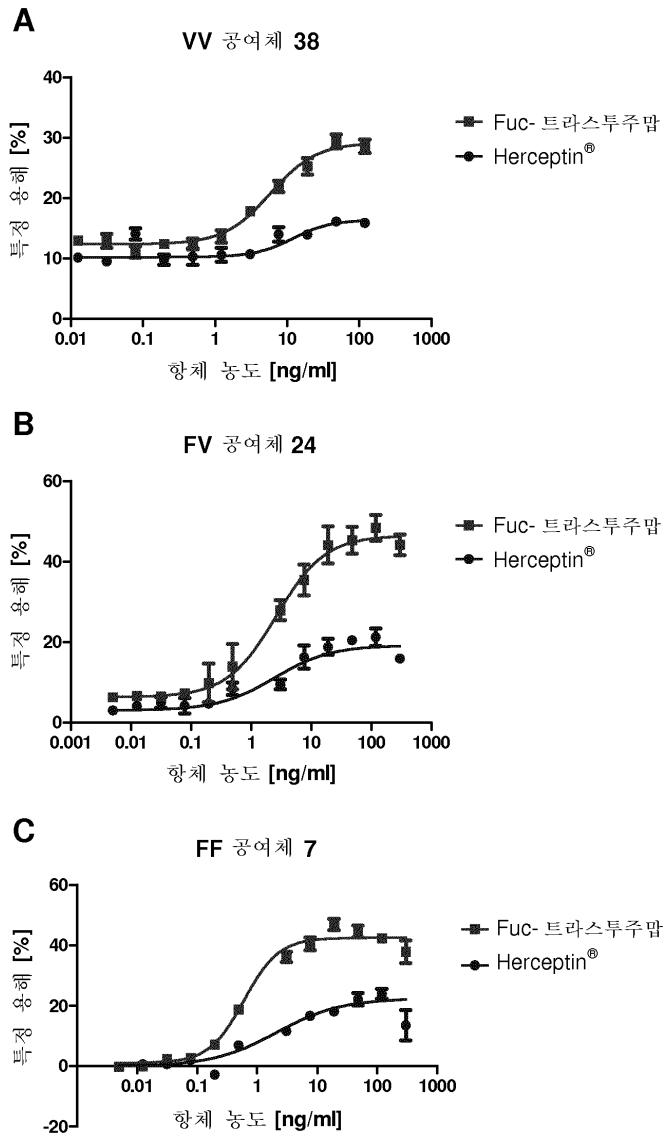
도면6



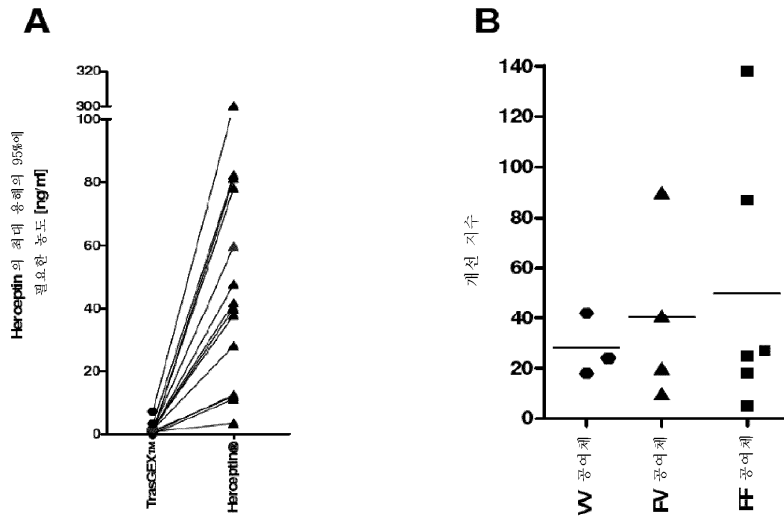
도면7



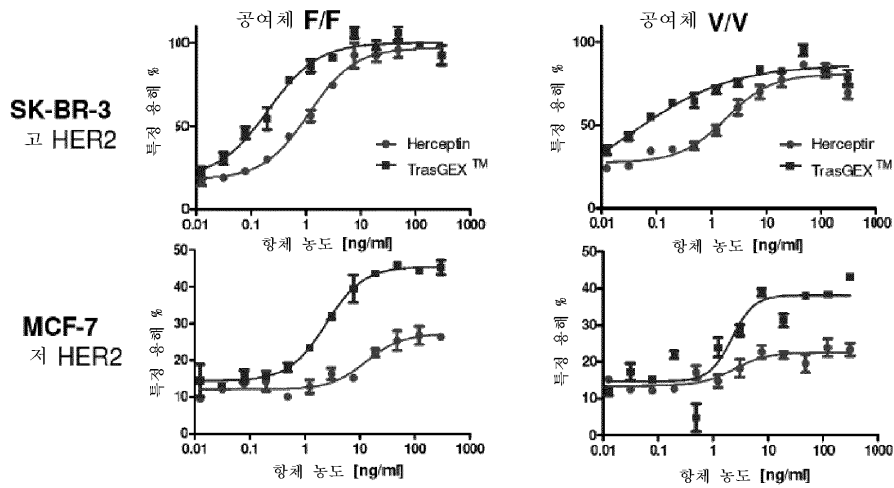
도면8



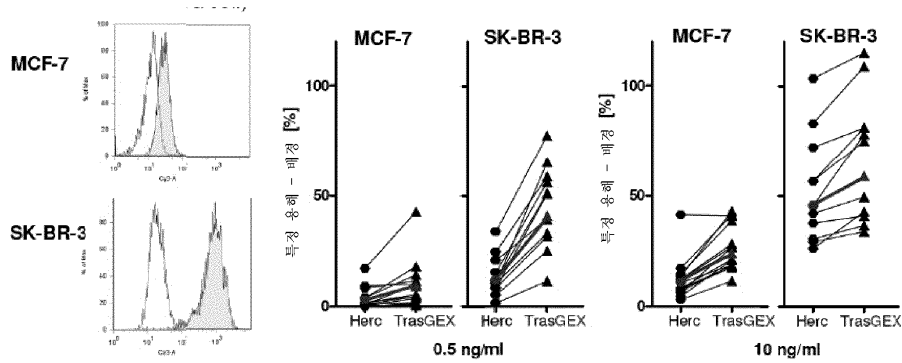
도면9



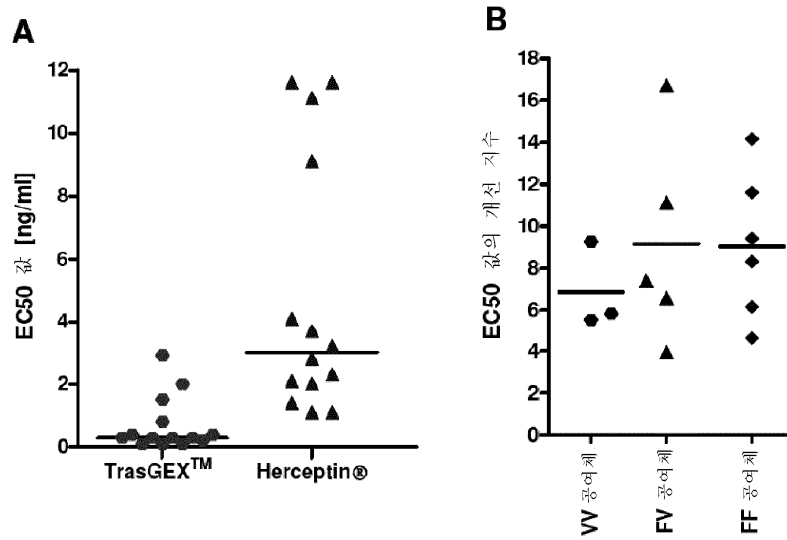
도면10



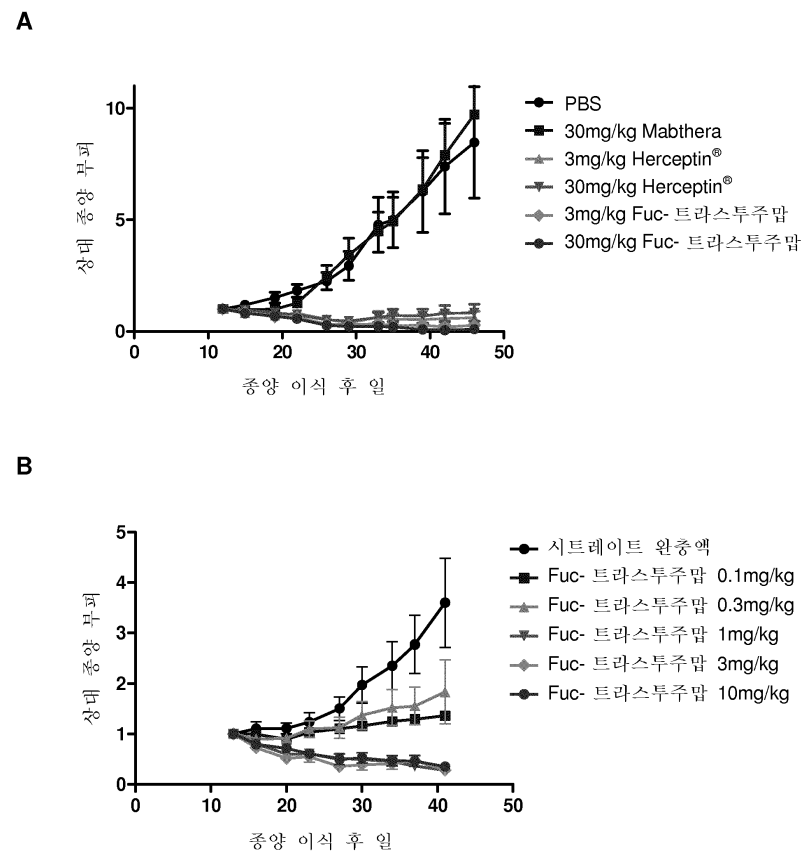
도면11



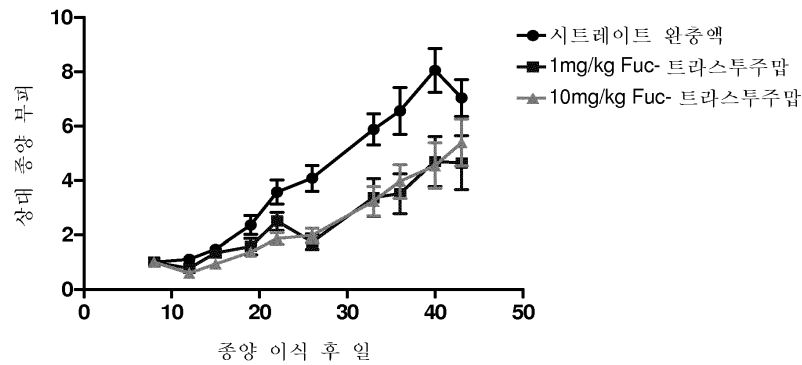
도면12



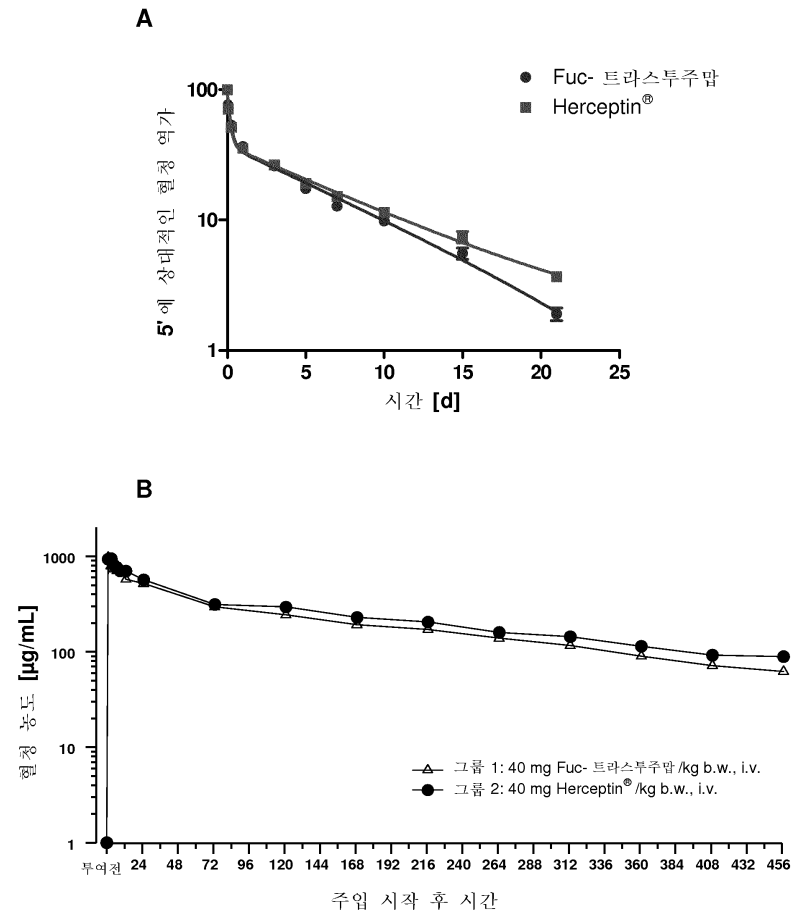
도면13



도면14



도면15



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Glycotope GmbH

<120> Novel therapeutic treatments with anti-HER2 antibodies having a low fucosylation

<130> 54 662 K

<150> US 61/673,216

```

<151> 2012-07-18
<150> US 61/673,201
<151> 2012-07-18
<150> US 61/673,229
<151> 2012-07-18
<150> EP 12 197 768.0
<151> 2012-12-18
<160> 10
<170> BiSSAP 1.0
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> artificial sequences
<220>
<221> SOURCE
<222> 1..5
<223> /mol_type="protein"
        /note="CDR-H1"
        /organism="artificial sequences"

<400> 1
Asp Thr Tyr Ile His
1             5

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> artificial sequences
<220>
<221> SOURCE
<222> 1..17
<223> /mol_type="protein"
        /note="CDR-H2"
        /organism="artificial sequences"

<400> 2
Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1             5             10             15

```

Gly

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequences

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..11

<223> /mol_type="protein"

/note="CDR-H3"

/organism="artificial sequences"

<400> 3

Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> artificial sequences

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..11

<223> /mol_type="protein"

/note="CDR-L1"

/organism="artificial sequences"

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> artificial sequences

<220>

```

<221> SOURCE
<222> 1..7
<223> /mol_type="protein"
      /note="CDR-L2"
      /organism="artificial sequences"
<400> 5
Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1           5
<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> artificial sequences
<220>
<221> SOURCE
<222> 1..9
<223> /mol_type="protein"
      /note="CDR-L3"
      /organism="artificial sequences"
<400> 6
Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1           5
<210> 7
<211> 119
<212> PRT
<213> artificial sequences

<220>
<221> SOURCE
<222> 1..119
<223> /mol_type="protein"
      /note="heavy chain variable region"
      /organism="artificial sequences"
<400> 7
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1           5           10           15

```

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> artificial sequences

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..108

<223> /mol_type="protein"

/note="light chain variable region"

/organism="artificial sequences"

<400> 8

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

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

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

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

50 55 60
 Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95

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

<210> 9

<211> 450

<212> PRT

<213> artificial sequences

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..450

<223> /mol_type="protein"

/note="heavy chain"

/organism="artificial sequences"

<400> 9

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

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

```

          355              360              365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
          370              375              380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385              390              395              400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
          405              410              415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
          420              425              430
Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
          435              440              445
Gly Lys
          450
<210> 10
<211> 214
<212> PRT
<213> artificial sequences
<220>
<221> SOURCE
<222> 1..214
<223> /mol_type="protein"
        /note="light chain"
        /organism="artificial sequences"
<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

```

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210