



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0003141
(43) 공개일자 2016년01월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/17 (2006.01) A61K 31/337 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) C07K 14/71 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 38/179 (2013.01)
A61K 31/337 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7033756
(22) 출원일자(국제) 2014년04월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2015년11월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/036140
(87) 국제공개번호 WO 2014/179448
국제공개일자 2014년11월06일
(30) 우선권주장
61/818,220 2013년05월01일 미국(US)
61/831,029 2013년06월04일 미국(US)

(71) 출원인
파이버 프라임 테라퓨틱스, 인크.
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 투
코포레이트 드라이브
글락소스미스클라인 인텔렉추얼 프로퍼티 (넘버
2) 리미티드
영국 티더블유8 9지에스 미들섹스 브렌트포드 그
레이트 웨스트 로드 980
(72) 발명자
햄블턴, 줄리
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌프란시스코 투
코포레이트 드라이브
블럼, 모린 알.
영국 티더블유8 9지에스 미들섹스 브렌트포드 그
레이트 웨스트 로드 980
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 심미성

전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 암을 치료하는 방법

(57) 요약

본 발명은 *FGFR1* 유전자 증폭, *FGFR1* 과다발현, *FGFR3* 과다발현, *FGFR3* 증폭, *FGFR2* 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (*FGFR1*) 세포외 도메인 (ECD) 및/또는 *FGFR1* ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 *FGFR1* ECD 및/또는 *FGFR1* ECD 융합 분자를 하나 이상의 추가의 치료제와 조합하여 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* ECD 및/또는 *FGFR1* ECD 융합 분자를 하나 이상의 화학요법제와 조합하는 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/0021 (2013.01)

C07K 14/71 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

(72) 발명자

드영, 모리스 피.

영국 티더블유8 9지एस 미들섹스 브렌트포드 그레이트 웨스트 로드 980

페론-브래디, 제럴딘

영국 티더블유8 9지एस 미들섹스 브렌트포드 그레이트 웨스트 로드 980

쿠마르, 라케시

영국 티더블유8 9지एस 미들섹스 브렌트포드 그레이트 웨스트 로드 980

오테슨, 론

영국 티더블유8 9지एस 미들섹스 브렌트포드 그레이트 웨스트 로드 980

명세서

청구범위

청구항 1

치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여 전에 유방암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, FGFR3 과다발현, 또는 FGF2 과다발현을 갖고, 에스트로겐 수용체 (ER) 양성, 프로게스테론 (PR) 양성, 또는 ER 양성 및 PR 양성인 것으로 결정된 것인, 대상체에서 유방암을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 투여 전에 암이 HER2 양성인 것으로 결정된 것인 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 투여 전에 암이 p95HER2 양성인 것으로 결정된 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 트라스투주맙 또는 라파티닙을 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중인 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 투여 전에 암이 HER2 음성인 것으로 결정된 것인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 유방암이 ER 양성인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 유방암이 PR 양성인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중인 것인 방법.

청구항 9

치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여 전에 전립선암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, FGFR3 과다발현, 또는 FGF2 과다발현을 갖는 것으로 결정되고, 대상체가 고나도트로핀 방출 호르몬 (GnRH) 효능제, GnRH 길항제, 안드로겐 수용체 (AR) 억제제, 및 17-히드록실라제 억제제로부터 선택된 치료제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중인 것인, 대상체에서 전립선암을 치료하는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 대상체가 고나도트로핀 방출 호르몬 (GnRH) 효능제 또는 GnRH 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중인 것인 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 대상체가 GnRH 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중인 것인 방법.

청구항 12

치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여 전에

카르시노이드 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, FGFR3 과다발현, 또는 FGF2 과다발현을 갖는 것으로 결정되고, 대상체가 옥트레오티드를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중인 것인, 대상체에서 카르시노이드 암을 치료하는 방법.

청구항 13

치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서 투여 전에 난소암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, FGFR3 과다발현, 또는 FGF2 과다발현을 갖는 것으로 결정되고, 대상체가 타목시펜 또는 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중인 것인, 대상체에서 난소암을 치료하는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 난소암이 에스트로겐 수용체 (ER) 양성, 프로게스테론 (PR) 양성, 또는 ER 양성 및 PR 양성인 방법.

청구항 15

5 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 135 mg/m² 이상의 파클리탁셀 및 AUC 4 이상의 카르보플라틴을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 폐암을 치료하는 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 135 mg/m²의 파클리탁셀 내지 200 mg/m²의 파클리탁셀, 175 mg/m² 이상의 파클리탁셀, 175 mg/m²의 파클리탁셀 내지 200 mg/m²의 파클리탁셀, 또는 200 mg/m²의 파클리탁셀을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, AUC 4의 카르보플라틴 내지 AUC 6의 카르보플라틴, AUC 5 이상의 카르보플라틴, AUC 5의 카르보플라틴 내지 AUC 6의 카르보플라틴, 또는 AUC 6의 카르보플라틴을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 18

5 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 40 mg/m² 이상의 도세탁셀을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 폐암을 치료하는 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 40 mg/m²의 도세탁셀 내지 75 mg/m²의 도세탁셀, 55 mg/m² 이상의 도세탁셀, 55 mg/m²의 도세탁셀 내지 75 mg/m²의 도세탁셀, 또는 75 mg/m²의 도세탁셀을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 20

제15항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 5 mg/kg 내지 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 10 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 10 mg/kg 내지 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 15 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 15 mg/kg 내지 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 또는 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 21

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 폐암이 비-소세포 폐암인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 비-소세포 폐암이 편평 비-소세포 폐암인 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 것인 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자의 3개 이상의 카피를 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자의 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상 또는 8개 이상의 카피를 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제23항에 있어서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상인 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상 또는 4 이상인 방법.

청구항 28

제26항에 있어서, *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 2 초과인 방법.

청구항 29

제23항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, *FGFR1* 유전자 증폭이 형광 계내 혼성화, 어레이 비교 계층 혼성화, DNA 마이크로어레이, 스펙트럼 핵형분석(spectral karyotyping), 정량적 PCR, 서던 블롯팅(southern blotting), 또는 서열분석으로부터 선택된 방법에 의해 결정된 것인 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 과다발현을 갖는 것인 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, *FGFR1*이 *FGFR1IIIc*인 방법.

청구항 32

제1항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 과다발현을 갖는 것인 방법.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 과다발현을 갖는 것인 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, *FGFR3*이 *FGFR3IIIc*인 방법.

청구항 35

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포의 적어도 일부분이 *DKK3*, *FGF18*, 및 *ETV4*로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상 또는 3개의 마커를 과다발현하는 것인 방법.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포의 적어도 일부분이 *DKK3* 및 *FGF18*로부터 선택된 1개 이상 또는 2개의 마커를 과다발현하는 것인 방법.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 암 세포의 적어도 일부분이 ETV4를 과다발현하는 것인 방법.

청구항 38

제30항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 것인 방법.

청구항 39

제30항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 과다발현이 단백질 과다발현인 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 단백질 과다발현이 면역조직화학을 이용하여 결정되는 것인 방법.

청구항 41

제30항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 과다발현이 mRNA 과다발현인 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, mRNA 과다발현이 정량적 RT-PCR을 이용하여 결정되는 것인 방법.

청구항 43

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, FGFR1 ECD를 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, FGFR1 ECD가 서열 1 내지 4로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 45

제1항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, FGFR1 ECD 융합 분자가 FGFR1 ECD 및 융합 파트너를 포함하고, 융합 파트너가 Fc인 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, FGFR1 ECD 융합 분자가 서열 5 및 서열 6으로부터 선택된 서열을 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

배경 기술

[0001]

가용성 형태의 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1)이 시험관내에서, 그리고 생체내에서 종양 세포 성장을 억제하는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 미국 특허 번호 7,678,890을 참조한다. 일부 경우에, 표적화되는 암의 유전적 구성에 따라 항암 요법의 효능이 좌우된다.

발명의 내용

[0002]

일부 실시양태에서, 대상체에게 치료 유효량의 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1) 세포의 도메인 (ECD) 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함하는, *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, *FGF2* 유전자 증폭 및/또는 FGF2 과다발현을 갖는 유방암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 유방암은 에스트로겐 수용체 (ER) 양성, 프로게스테론 (PR) 양성, 또는 ER 양성 및 PR 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 ER 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 PR 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 ER 양성 및 PR 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 HER2 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 p95HER2 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 HER2 음성인 것으로 결정되었다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 유방암은 전이성 유방암일 수 있다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 폐경-후

이다.

[0003]

일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 트라스투주맙 (예를 들어, 헤르셉틴(Herceptin)®) 및/또는 라파티닙 (예를 들어, 타이커브(Tykerb)®)을 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 아로마타제 억제제는 아미노글루테티미드, 테스토라톤 (예를 들어, 테슬락(Teslac)®), 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미덱스(Arimidex)®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라(Femara)®), 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신(Aromasin)®), 보로졸 (예를 들어, 리비소르(Rivisor)®), 포르메스탄 (예를 들어, 렌타론(Lentaron)®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세(Megase)®), 및 파드로졸 (예를 들어, 아페마(Afema)®)로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 ER 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 이전에 ER 양성 유방암에 걸린 것으로 결정되었다. 비제한적인 예시적인 ER 길항제는 타목시펜 (예를 들어, 놀바덱스(Nolvadex)®, 이스투발(Istubal)®, 및 발로덱스(Valodex)®) 및 폴베스트란트 (예를 들어, 파슬로덱스(Faslodex)®)를 포함한다.

[0004]

일부 실시양태에서, 대상체에게 치료 유효량의 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1) 세포외 도메인 (ECD) 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함하는, *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, *FGF2* 유전자 증폭 및/또는 FGF2 과다발현을 갖는 전립선암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 고나도트로핀 방출 호르몬 (GnRH) 효능제, GnRH 길항제, 안드로겐 수용체 (AR) 억제제, 17-히드록실라제 억제제, 및 디에틸stil베스트롤 (DES)로부터 선택된 치료제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 고나도트로핀 방출 호르몬 (GnRH) 효능제 또는 GnRH 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 GnRH 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, GnRH 효능제는 루프롤리드 (예를 들어, 루프론(Lupron)®, 엘리가드(Eligard)®), 부세렐린 (예를 들어, 수프레팩트(Suprefact)®, 수프레코르(Suprecor)®), 히스트렐린 (예를 들어, 수프레린 LA(Supprelin LA)®, 반타스(Vantas)®), 고세렐린 아세테이트 (예를 들어, 졸라덱스(Zoladex)®), 데솔로렐린 (예를 들어, 수프레로린(Suprelorin)®, 오부플랜트(Ovuplant)®), 나파렐린 (예를 들어, 시나렐(Synarel)®), 및 트립토헤린으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, GnRH 길항제는 세트로렐릭스 (예를 들어, 세트로티드(Cetrotide)®), 가니렐릭스 (예를 들어, 안타곤(Antagon)®), 아바렐릭스 (예를 들어, 플레낙시스(Plenaxis)®), 및 데가렐릭스 (예를 들어, 퍼마곤(Firmagon)®)로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, AR 억제제는 시프로테론 아세테이트 (예를 들어, 안드로쿠르(Androcur)®, 시프로스타트(Cyprostat)®), 플루타미드 (예를 들어, 유렉신(Eulexin)®), 비칼루타미드 (예를 들어, 카소덱스(Casodex)®, 엔잘루타미드 (예를 들어, 엑스탄디(Xtandi)®), 케토코나졸, 및 닐루타미드 (예를 들어, 아난드론(Anandron)®, 닐란드론(Nilandron)®)로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 17-히드록실라제 억제제는 아비라테론 아세테이트 (예를 들어, 자이티가(Zytiga)®)이다.

[0005]

일부 실시양태에서, 대상체에게 치료 유효량의 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1) 세포외 도메인 (ECD) 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함하는, *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, *FGF2* 유전자 증폭 및/또는 FGF2 과다발현을 갖는 카르시노이드 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 옥트레오티드를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 치료 유효량의 옥트레오티드가 대상체에게 이전에 투여되었거나 또는 현재 투여 중이다.

[0006]

일부 실시양태에서, 대상체에게 치료 유효량의 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1) 세포외 도메인 (ECD) 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함하는, *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, *FGF2* 유전자 증폭 및/또는 FGF2 과다발현을 갖는 난소암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 대상체는 ER 길항제 또는 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 아로마타제 억제제는 아미노글루테티미드, 테스토라톤 (예를 들어, 테슬락®), 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미덱스®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라®), 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신®), 보로졸 (예를 들어, 리비소르®), 포르메스탄 (예를 들어, 렌타론®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세®), 및 파드로졸 (예를 들어, 아페마®)로부터 선택된다. 비제한적인 예시적인 ER 길항제는 타목시펜 (예를 들어, 놀바덱스®, 이스투발®, 발로덱스®) 및 폴베스트란트 (예를 들어, 파슬로덱스®)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 난소암은 에스트로겐 수용체 (ER) 양성, 프로게스테론 (PR) 양성, 또는 ER 양성 및 PR 양성이다.

[0007]

일부 실시양태에서, 대상체에서 폐암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 5 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 135 mg/m² 이상의 파클리탁셀 및 AUC 4 이상의 카르보플라틴을 대상체

에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 135 mg/m²의 파클리탁셀 내지 200 mg/m²의 파클리탁셀, 175 mg/m² 이상의 파클리탁셀, 175 mg/m²의 파클리탁셀 내지 200 mg/m²의 파클리탁셀, 또는 200 mg/m²의 파클리탁셀을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 AUC 4의 카르보플라틴 내지 AUC 6의 카르보플라틴, AUC 5 이상의 카르보플라틴, AUC 5의 카르보플라틴 내지 AUC 6의 카르보플라틴, 또는 AUC 6의 카르보플라틴을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폐암은 비-소세포 폐암이다. 일부 실시양태에서, 비-소세포 폐암은 편평 비-소세포 폐암이다.

[0008] 일부 실시양태에서, 폐암을 치료하는 방법이 5 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 40 mg/m² 이상의 도세탁셀을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 40 mg/m²의 도세탁셀 내지 75 mg/m²의 도세탁셀, 55 mg/m² 이상의 도세탁셀, 55 mg/m²의 도세탁셀 내지 75 mg/m²의 도세탁셀, 또는 75 mg/m²의 도세탁셀을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 폐암은 비-소세포 폐암이다. 일부 실시양태에서, 비-소세포 폐암은 편평 비-소세포 폐암이다.

[0009] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 방법은 5 mg/kg 내지 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 10 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 10 mg/kg 내지 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 15 mg/kg 이상의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 15 mg/kg 내지 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자, 또는 20 mg/kg의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0010] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR1* 유전자 증폭을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR1* 유전자의 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상, 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상 또는 4 이상이다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다.

[0011] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR3* 유전자 증폭을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR3* 유전자의 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR3* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상, 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상 또는 4 이상이다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGFR3* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다.

[0012] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGF2* 유전자 증폭을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGF2* 유전자의 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상, 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상 또는 4 이상이다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다.

[0013] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 형광 계내 혼성화, 어레이 비교 계내 혼성화, DNA 마이크로어레이, 스펙트럼 핵형분석(spectral karyotyping), 정량적 PCR, 서던 블롯팅(southern blotting), 또는 서열분석으로부터 선택된 방법에 의해 유전자 증폭이 결정될 수 있다.

[0014] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 FGFR1 과다발현을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1IIIc이다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 FGF2 과다발현을 가질 수 있다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 FGFR3 과다발현을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR3은 FGFR3IIIc이다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 DKK3, FGF18, 및 ETV4로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상 또는 3개의 마커를 과다발현할 수 있다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 DKK3 및 FGF18로부터 선택된 1개 이상 또는 2개의 마커를 과다발현할 수 있다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부가 ETV4를 과다발현할 수 있다. 일부 실시양태에서, 암은 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는다.

[0015] 일부 실시양태에서, 과다발현은 mRNA 과다발현이다. 일부 실시양태에서, 정량적 RT-PCR을 이용하여 mRNA 과다발현이 결정된다. 일부 실시양태에서, 과다발현은 단백질 과다발현이다. 일부 실시양태에서, 면역조직화학을 이용하여 단백질 과다발현이 결정된다.

[0016] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 방법은 FGFR1 ECD를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 일부 이러한 실시양태에서, FGFR1 ECD는 서열 1 내지 4로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 방법은 FGFR1 ECD 및 하나 이상 융합 파트너를 포함하는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하는 것을 포함한다.

일부 실시양태에서, 하나 이상의 융합 파트너는 Fc, 알부민, 및 폴리에틸렌 글리콜로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 융합 파트너는 Fc이다. 일부 실시양태에서, Fc는 서열 8 내지 10으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자는 서열 5 및 서열 6으로부터 선택된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 융합 파트너는 Fc 및 폴리에틸렌 글리콜이다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 융합 파트너는 폴리에틸렌 글리콜이다. 일부 실시양태에서, 융합 분자는 FGFR1 ECD와 하나 이상의 융합 파트너 사이의 링커를 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자는 FGFR1 ECD.339-Fc이다.

[0017] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자는 글리코실화되고/되거나 시알릴화된다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD, 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 폴리펩티드 부분이 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포에서 발현된다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD는 서열 1 및 서열 3으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0018] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자는 약 0.5 mg/체중 kg 내지 약 30 mg/체중 kg 범위의 양, 예컨대 약 5 내지 약 20 mg/체중 kg 범위의 양이다 (예를 들어, 표 1에 제시된 바와 같이 EC = 1.11 mL/mg*cm을 사용함). 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 치료 유효량은 약 5 mg/체중 kg의 용량이다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 치료 유효량은 약 10 mg/체중 kg의 용량이다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 치료 유효량은 약 15 mg/체중 kg의 용량이다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 치료 유효량은 약 20 mg/체중 kg의 용량이다. 일부 실시양태에서, 투여량이 1주일에 2번, 매주, 격주로, 매주 내지 격주 사이의 빈도로, 3주마다, 4주마다 또는 매달 투여될 수 있다.

[0019] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 방법은 하나 이상의 추가의 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 추가의 치료제는 항암제이다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 추가의 치료제는 화학요법제이다. 하나 이상의 추가의 치료제는 항혈관형성제이다. 비제한적인 예시적인 항암제, 화학요법제, 및 항혈관형성제가 본원에서 기재된다.

[0020] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여가 이로울 수 있는 유방암에 걸린 대상체를 확인하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체로부터 획득된 샘플 내의 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, *FGFR1* 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, *FGFR3* 과다발현, *FGF2* 유전자 증폭 및/또는 *FGF2* 과다발현을 포함하는지 여부를 결정하는 것; 및 암이 에스트로겐 수용체 (ER) 양성, 프로게스테론 (PR) 양성, 또는 ER 양성 및 PR 양성인지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암이 *FGFR1* 유전자 증폭, *FGFR1* 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, *FGFR3* 과다발현, *FGF2* 유전자 증폭 및/또는 *FGF2* 과다발현이 있고, 암이 ER 양성 및/또는 PR 양성이면, 이러한 암은 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대해 반응할 것으로 예상된다.

[0021] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여가 이로울 수 있는 암에 걸린 대상체를 확인하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체로부터 획득된 샘플 내의 암 세포의 적어도 일부분이 FGFR1, FGFR3IIIc, FGF2, DKK3, FGF18 및 ETV4로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상의 마커를 과다발현하는지 여부를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 과다발현은 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 암에 의한 치료 반응성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 방법은 대상체로부터 획득된 샘플 내의 암 세포의 적어도 일부분이 FGFR1, FGFR3IIIc, FGF2, DKK3, 및 FGF18로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상 또는 4개 이상의 마커를 과다발현하는지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 대상체로부터 획득된 샘플 내의 암 세포의 적어도 일부분이 ETV4를 과다발현하는지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 임의의 상기 실시양태를 포함하는 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 대상체로부터 획득된 샘플 내의 암 세포의 적어도 일부분이 하기 표 6의 임의의 행으로부터의 유전자 1 및 유전자 2 또는 이들의 임의의 조합을 과다발현하는지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1IIIc이다. 임의의 상기 실시양태를 포함하는 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 대상체로부터 획득된 샘플 내의 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는지 여부를 결정하는 것을 포함한다.

[0022] 임의의 본원에 기재된 실시양태 또는 이의 임의의 조합이 본원에 기재된 본 발명의 임의의 모든 방법에 적용된다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도면의 간단한 설명

도 1은 실시예 1에 기재된 바와 같은, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 종양 세포 및 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은

종양 세포의 마우스 이종이식편에서의 FGFR1-ECD.339-Fc에 의한 종양 성장 억제 %를 보여준다.

도 2는 실시예 2에 기재된 바와 같은, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 폐암 세포주 또는 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 폐암 세포주에서의 FGFR1 mRNA 발현의 산점도를 보여준다.

도 3은 실시예 2에 기재된 바와 같은, FGFR1-ECD.339-Fc의 존재 또는 부재 하에 다양한 양의 혈청과 함께 성장된 NCI-H226 세포에서 수행된 (A) 셀타이티글로(CellTiterGlo)® 검정에서의 평균 발광 및 (B) 삼중수소화 티미딘 혼입 검정에서의 분당 카운트의 그래프를 보여준다.

도 4는 실시예 2에 기재된 바와 같은, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 폐암 이종이식편 또는 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 폐암 이종이식편에서의 FGFR1 mRNA 발현의 산점도를 보여준다.

도 5는 실시예 2에 기재된 바와 같은, PDX D35087 세포가 이식되고 FGFR1-ECD.339-Fc 또는 알부민으로 처리된 마우스에서의 다양한 시점의 평균 종양 부피를 보여준다.

도 6은 실시예 3에 기재된 바와 같은, FGFR1-ECD.339-Fc 반응자 및 비-반응자 이종이식편에서의 (A) FGF2 mRNA (GUSB에 대해 정규화됨) 및 (B) FGF2 단백질 발현 (총 단백질에 대해 정규화됨)을 보여준다.

도 7은 실시예 4에 기재된 바와 같은, FGFR1-ECD.339-Fc 반응자 및 비-반응자 이종이식편에서의 DKK3 mRNA 발현 (GUSB에 대해 정규화됨)을 보여준다.

도 8은 실시예 3에 기재된 바와 같은, (A) Caki-1 신세포 암종 이종이식편 모델, 및 (B) MSTO-211H 중피종 이종이식편 모델에서의 FGFR1-ECD.339-Fc의 항종양 활성을 보여준다.

도 9는 실시예 3에 기재된 바와 같은, FGFR1-ECD.339-Fc 반응성 및 비-반응성 이종이식편 모델에서의 (A) FGFR1 및 (B) FGFR3IIIc mRNA 발현을 보여준다.

도 10은 실시예 5에 기재된 바와 같은, 매트릭셀 플러그(matrigel plug) 검정에서의 FGF-2 및 VEGF-A 유도 혈관 신생의 FGFR1-ECD.339-Fc 매개 억제를 보여준다.

도 11은 실시예 5에 기재된 바와 같이, FGFR1-ECD.339-Fc가 VEGF-A 유도 인간 체대 정맥 내피 세포 (HUVEC) 증식을 억제하지 않는다는 것을 나타낸다.

도 12는 실시예 6에 기재된 바와 같은, JIMT-1 유방암 이종이식편에서의 FGFR1 신호전달의 FGFR1-ECD.339-Fc 매개 억제를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 본원에 사용된 섹션 제목은 구조적인 목적만을 위한 것이고, 기재된 주제를 한정하는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0025] 정의

[0026] 달리 정의되지 않는 한, 본 발명과 관련하여 사용된 과학 용어 및 기술 용어는 관련 분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 의미를 지닐 것이다. 추가로, 문맥적으로 달리 요구되지 않는 한, 단수형 용어는 복수를 포함하고, 복수형 용어는 단수를 포함한다.

[0027] 달리 구체적으로 지시되지 않는 한, 본원에서 열거된 모든 화학 엔티티는 이의 제약상 허용되는 형태를 포함한다. 본원에서 열거된 화학 엔티티의 제약상 허용되는 형태는 제약상 허용되는 염, 용매화합물, 결정 형태 (다형체 및 클라트레이트 포함), 킬레이트, 비-공유결합 복합체, 전구약물, 및 이들의 혼합물을 포함한다.

[0028] 재조합 DNA, 올리고뉴클레오타이드 합성, 조직 배양 및 형질전환 (예를 들어, 전기천공, 리포펙션(lipofection)), 효소 반응, 및 정제 기술과 관련하여 사용된 특정 기술이 관련 분야에 공지되어 있다. 다수의 이러한 기술 및 절차가, 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))]에 특히 기술되어 있다. 또한, 화학적 합성, 화학적 분석, 제약학적 제조, 제제화, 및 전달, 및 환자 치료를 위한 특정 기술이 또한 관련 분야에 공지되어 있다.

[0029] 본 출원에서, "또는"의 사용은 달리 언급되지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. 다중 종속항의 상황에서, "또는"의 사용은 1개를 초과하는 선행 독립항 또는 종속항을 택일적으로만 다시 언급한다. 또한, 구체적으로 달리 언급되지 않는 한, "요소" 또는 "성분"과 같은 용어는 1개의 단위를 포함하는 요소 및 성분, 및 1개를 초과하는

하위단위를 포함하는 요소 및 성분을 포함한다.

- [0030] 본원에서 사용된 바와 같이, 모든 숫자는 근사값이고, 측정 오차 및 유효 숫자의 반올림을 설명하기 위해 변할 수 있다. 특정 측정량 앞에서의 "약"의 사용은 샘플 불순물, 측정 오차, 인간의 오차, 및 통계적 변동, 뿐만 아니라 유효 숫자의 반올림으로 인한 변동을 포함한다.
- [0031] 본 개시내용에 따라 사용된 바와 같이, 달리 지시되지 않는 한 하기의 용어들은 하기의 의미를 지니는 것으로 이해되어야 한다:
- [0032] "**핵산 분자**" 및 "**폴리뉴클레오타이드**"라는 용어는 상호교환가능하게 사용될 수 있고, 뉴클레오타이드들의 중합체를 지칭한다. 뉴클레오타이드들의 이러한 중합체는 천연 및/또는 비-천연 뉴클레오타이드를 함유할 수 있고, DNA, RNA, 및 PNA를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. "**핵산 서열**"은 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오타이드를 이루는 뉴클레오타이드들의 선형 서열을 지칭한다.
- [0033] "**폴리펩티드**" 및 "**단백질**"이라는 용어는 아미노산 잔기들의 중합체를 지칭하도록 상호교환가능하게 사용되고, 최소 길이에 제한되지는 않는다. 아미노산 잔기들의 이러한 중합체는 천연 또는 비-천연 아미노산 잔기를 함유할 수 있고, 펩티드, 올리고펩티드, 아미노산 잔기의 이량체, 삼량체 및 다량체를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 전장 단백질 및 이의 단편 양쪽 모두가 이러한 정의에 포함된다. 이러한 용어는 폴리펩티드의 번역-후 변형, 예를 들어, 글리코실화, 시알릴화, 아세틸화, 인산화 등을 또한 포함한다. 추가로, 본 발명의 목적을 위해, "폴리펩티드"는 단백질이 원하는 활성을 유지하는 한, 천연 서열에 대한 변형, 예컨대 결실, 부가 및 치환 (일반적으로 성질 면에서 보존적임)을 포함하는 단백질을 지칭한다. 이러한 변형은 부위-지정 돌연변이유발을 통해서와 같이 의도적일 수 있거나, 또는 단백질을 생산하는 숙주의 돌연변이 또는 PCR 증폭으로 인한 오류를 통해서와 같이 우발적일 수 있다. 폴리펩티드가 특정 아미노산 서열로 "이루어지는" 경우, 이는 번역-후 변형, 예컨대 글리코실화 및 시알릴화를 여전히 함유할 수 있다.
- [0034] "**FGFR1 세포외 도메인**" ("**FGFR1 ECD**")이라는 용어는 전장 FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 단편, 및 FGFR1 ECD 변이체를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "**FGFR1 ECD**"라는 용어는 신호 펩티드가 있는 또는 신호 펩티드가 없는, 세포내 및 막횡단 도메인이 결여된 FGFR1 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD는 서열 1 및 2로부터 선택된 아미노산 서열의 인간 전장 FGFR1 ECD이다. 본원에서 사용된 바와 같은 "**전장 FGFR1 ECD**"라는 용어는 세포외 도메인의 마지막 아미노산까지 걸쳐진 FGFR1 ECD를 지칭하고, N-말단 신호 펩티드를 포함하거나 또는 포함하지 않을 수 있다. 본원에서 정의된 바와 같이, 전장 FGFR1 ECD의 마지막 아미노산은 위치 353에 있다. 따라서, 인간 전장 FGFR1 ECD는 서열 2 (성숙형) 또는 서열 1 (신호 펩티드 있음)에 상응하는 아미노산 서열로 이루어질 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "**FGFR1 ECD 단편**"이라는 용어는 전장 ECD의 N 및/또는 C 말단으로부터 하나 이상의 잔기가 결실되었고 FGF-2에 결합하는 능력을 유지하는 FGFR1 ECD를 지칭한다. FGFR1 ECD 단편은 N-말단 신호 펩티드를 포함하거나 또는 포함하지 않을 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 단편은 서열 4 (성숙형) 또는 서열 3 (신호 펩티드 있음)에 상응하는 아미노산 서열의 인간 FGFR1 ECD 단편이다.
- [0035] 본원에서 사용된 바와 같이, "**FGFR1 ECD 변이체**"라는 용어는 아미노산 부가, 결실 및 치환을 함유하고 여전히 FGF-2에 결합할 수 있는 FGFR1 ECD를 지칭한다. 이러한 변이체는 모 FGFR1 ECD에 대해 적어도 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 또는 99% 동일할 수 있다. 2개의 폴리펩티드의 % 동일성은 유사성을 결정하기 위한 디폴트 (default) 설정으로 베스트핏(Bestfit) 프로그램을 사용하여 2개의 폴리펩티드의 아미노산 서열을 비교함으로써 결정된 유사성 점수에 의해 측정될 수 있다. 베스트핏은 문헌 [Smith and Waterman, Advances in Applied Mathematics 2:482-489 (1981)]의 국소 상동성 알고리즘을 사용하여 2개의 서열 간의 최상의 유사성 분절을 확인한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 변이체는 서열 4의 서열에 대해 95% 이상 동일하다.
- [0036] FGFR1 ECD 폴리펩티드의 참조 아미노산 서열에 대해 적어도 예를 들어 95% 동일한 아미노산 서열의 폴리펩티드는 폴리펩티드 서열이 참조 폴리펩티드의 각 아미노산 100개 당 5개까지의 아미노산 변경을 포함할 수 있는 것을 제외하고는 폴리펩티드의 아미노산 서열이 참조 서열과 동일한 것이다. 달리 말하면, 참조 아미노산 서열과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열의 폴리펩티드를 수득하기 위해, 참조 서열 내의 아미노산 잔기의 5%까지가 결실되거나 또는 또 다른 아미노산으로 치환될 수 있거나, 또는 참조 서열 내의 총 아미노산 잔기의 5%까지의 다수의 아미노산이 참조 서열 내로 삽입될 수 있다. 참조 서열의 이러한 변경은 참조 아미노산 서열의 N- 또는 C-말단 위치에서, 또는 이러한 말단 위치들 사이의 임의의 위치 (참조 서열의 잔기들 사이에 개별적으로 또는 참조 서열 내의 하나 이상의 연속적인 군으로 산재됨)에서 발생할 수 있다.
- [0037] 실제로, 임의의 특정 폴리펩티드가, 예를 들어, 서열 목록에 기재된 아미노산 서열 또는 핵산 서열에 의해 코딩

되는 폴리펩티드 서열에 적어도 70%, 80%, 90%, 또는 95% 동일한지 여부를 통상적으로 공지된 컴퓨터 프로그램, 예컨대 베스트핏 프로그램을 사용하여 결정할 수 있다. 베스트핏 또는 기타 서열 정렬 프로그램을 사용하여 특정 서열이 본 발명에 따른 참조 서열에 대해 예를 들어 95% 동일한지 여부를 결정할 때, 당연히, 참조 아미노산 서열의 전체 길이에 걸쳐 동일성 백분율이 계산되도록, 그리고 참조 서열 내의 아미노산 잔기의 총 개수의 5%까지의 상동성에서의 갭(gap)이 허용되도록 파라미터가 설정된다.

[0038] 본원에서 사용된 바와 같이, "**hFGFR1-ECD.353**" 및 "**hFGFR1.353**"이라는 용어는 서열 1 (신호 펩티드 있음) 또는 서열 2 (신호 펩티드 없음; 성숙형)에 상응하는 전장 인간 FGFR1 ECD를 지칭하도록 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

[0039] 본원에서 사용된 바와 같이, "**hFGFR1-ECD.339**" 및 "**hFGFR1.339**"라는 용어는 서열 3 (신호 펩티드 있음) 또는 서열 4 (신호 펩티드 없음; 성숙형)에 상응하는 인간 FGFR1 ECD를 지칭하도록 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

[0040] 추가의 hFGFR1 ECD가, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,678,890 (모든 목적을 위해 본원에 전문이 참고로 포함됨)에 기술되어 있다.

[0041] "**FGFR1 ECD 융합 분자**"라는 용어는 FGFR1 ECD, 및 하나 이상의 "**융합 파트너**"를 포함하는 분자를 지칭한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 및 융합 파트너는 공유결합으로 연결된다 ("**융합**"된다). 융합 파트너 또한 폴리펩티드 ("**융합 파트너 폴리펩티드**")이면, FGFR1 ECD 및 융합 파트너 폴리펩티드가 연속적인 아미노산 서열의 일부일 수 있고, 융합 파트너 폴리펩티드가 FGFR1 ECD의 N 말단 또는 C 말단에 연결될 수 있다. 이러한 경우에, FGFR1 ECD 및 융합 파트너 폴리펩티드가 FGFR1 ECD 및 융합 파트너 폴리펩티드 양쪽 모두를 코딩하는 코딩 서열로부터 단일 폴리펩티드로서 번역될 수 있다 ("**FGFR1 ECD 융합 단백질**"). 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 및 융합 파트너가 다른 수단, 예를 들어, 펩티드 결합 이외의 화학 결합을 통해 공유결합으로 연결된다. 폴리펩티드를 다른 분자 (예를 들어, 융합 파트너)에 공유결합으로 연결시키는 다수의 공지된 방법을 사용할 수 있다. 다른 실시양태에서, FGFR1 ECD 및 융합 파트너는 하나 이상의 아미노산 또는 화학적 모이어티(moiety)로 구성된 "**링커**"를 통해 융합될 수 있다.

[0042] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 폴리펩티드 및 융합 파트너는 비-공유결합으로 연결된다. 일부 이러한 실시양태에서, 예를 들어, 결합 쌍을 사용하여 이들이 연결될 수 있다. 예시적인 결합 쌍은 비오틴 및 아비딘 또는 스트렙타비딘, 항체 및 이의 항원 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0043] 예시적인 융합 파트너는 면역글로불린 Fc 도메인, 알부민, 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 예시적인 Fc 도메인의 아미노산 서열이 서열 8 내지 10에서 제시된다. 일부 실시양태에서, Fc에 융합된 FGFR1 ECD가 "**hFGFR1 ECD-Fc**"로 지칭된다. 일부 실시양태에서, Fc 도메인은 IgG1 Fc, IgG2 Fc, IgG3 Fc, 및 IgG4 Fc로부터 선택된다.

[0044] 본원에서 사용된 바와 같이, "**hFGFR1-ECD.339-Fc**" 및 "**hFGFR1.339-Fc**"라는 용어는 서열 6 (신호 펩티드 없음, 성숙형) 및 서열 5 (신호 펩티드 있음)로부터 선택된 아미노산 서열을 지칭하도록 상호교환가능하게 사용될 수 있다. hFGFR1-ECD.339-Fc로 치료될 수 있는 비제한적인 예시적인 암은 폐암, 결장암, 유방암, 위암, 두경부암, 전립선암, 자궁내막암, 육종, 소세포 폐암, 난소암, 카포시 육종, 호지킨병, 백혈병, 비-호지킨 림프종, 신경모세포종 (뇌암), 횡문근육종, 윌름 종양, 급성 림프모구성 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 방광암, 고환암, 림프종, 생식 세포 종양, 결장직장암, 위장암, 갑상선암, 다발성 골수종, 췌장암, 중피종, 악성 흉막 중피종, 혈액/림프 암, 악성 복막 중피종, 식도암, 신세포 암종, 다형성 교모세포종, 및 간암을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0045] "**신호 펩티드**"라는 용어는 포유동물 세포로부터의 폴리펩티드의 분비를 용이하게 하는 폴리펩티드의 N 말단에 위치하는 아미노산 잔기들의 서열을 지칭한다. 포유동물 세포로부터 폴리펩티드가 외수송될 때 신호 펩티드가 절단되어, 성숙 단백질이 형성될 수 있다. 신호 펩티드는 천연 또는 합성일 수 있고, 자신이 부착되는 단백질에 대해 이중성 또는 동중성일 수 있다. 예시적인 신호 펩티드는 FGFR1 신호 펩티드, 예를 들어, 서열 7의 아미노산 서열을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 신호 펩티드는 이중성 단백질로부터의 신호 펩티드를 또한 포함한다. "**신호 서열**"은 신호 펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD에서 신호 펩티드가 결여된다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD는 하나 이상의 신호 펩티드를 포함하고, 이는 천연 FGFR1 신호 펩티드 또는 이중성 신호 펩티드일 수 있다.

[0046] "**백터**"라는 용어는 숙주 세포 내에서 증식할 수 있는 클로닝된 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드들을 함

유하도록 조작될 수 있는 폴리뉴클레오티드를 기술하도록 사용된다. 벡터는 하기 요소 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 복제 기점, 관심 폴리펩티드의 발현을 조절하는 하나 이상의 조절 서열 (예를 들어, 프로모터 및/또는 인핸서), 및/또는 하나 이상의 선별성 마커 유전자 (예를 들어, 항생제 저항성 유전자 및 비색 검정에서 사용될 수 있는 유전자, 예를 들어, β -갈락토시다제). "**발현 벡터**"라는 용어는 숙주 세포에서 관심 폴리펩티드를 발현시키는데 사용하는 벡터를 지칭한다.

[0047] "**숙주 세포**"는 벡터 또는 단리된 폴리뉴클레오티드의 수용자일 수 있거나 또는 이의 수용자였던 세포를 지칭한다. 숙주 세포는 원핵생물 세포 또는 진핵생물 세포일 수 있다. 예시적인 진핵생물 세포는 포유동물 세포, 예컨대 영양류 또는 비-영양류 동물 세포; 진균 세포; 식물 세포; 및 곤충 세포를 포함한다. 예시적인 포유동물 세포는 293 및 CHO 세포, 및 이들의 유도체, 예컨대 각각 293-6E 및 DG44 세포를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0048] 본원에서 사용된 바와 같은 "**단리된**"이라는 용어는 자연에서 전형적으로 자신과 함께 발견되는 성분들 중 적어도 일부로부터 분리된 분자를 지칭한다. 예를 들어, 폴리펩티드는 자신이 생산된 세포의 성분 중 적어도 일부로부터 분리된 경우 "단리된" 것으로 지칭된다. 폴리펩티드가 발현 후에 세포에 의해 분비되는 경우, 폴리펩티드를 함유하는 상청액을 이를 생산한 세포로부터 물리적으로 분리하는 것은 폴리펩티드를 "단리"하는 것으로 간주된다. 유사하게, 자신이 자연에서 전형적으로 발견되는 더 큰 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, DNA 폴리뉴클레오티드의 경우 게놈 DNA 또는 미토콘드리아 DNA)의 일부가 아닐 때, 또는 자신이 생산된 세포의 성분 중 적어도 일부로부터 분리되었을 때 (예를 들어, RNA 폴리뉴클레오티드의 경우), 폴리뉴클레오티드가 "단리된" 것으로 지칭된다. 따라서, 숙주 세포 내부의 벡터 내에 함유된 DNA 폴리뉴클레오티드는 이러한 폴리뉴클레오티드가 자연에서 이러한 벡터 내에서 확인되지 않는 한 "단리된" 것으로 지칭될 수 있다.

[0049] "**항신생물 조성물**"이라는 용어는 하나 이상의 활성 치료제, 예를 들어, "**항암제**"를 포함하는, 암을 치료하는데 유용한 조성물을 지칭한다. 치료제 (항암제)의 예는, 예를 들어, 화학요법제, 성장 억제제, 세포독성제, 방사선 요법에 사용되는 작용제, 항혈관신생제, 세포자멸사 작용제, 항-튜블린 작용제, 암을 치료하기 위한 기타 작용제, 예컨대 항-VEGF 항체 (예를 들어, 베바시주맙, 아바스틴(AVASTIN)®), 항-HER-2 항체 (예를 들어, 트라스투주맙, 헤르셉틴(HERCEPTIN)®), 항-CD20 항체 (예를 들어, 리툭시맙, 리툭산(RITUXAN)®), 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 길항제 (예를 들어, 티로신 키나제 억제제), HER1/EGFR 억제제 (예를 들어, 에를로티닙, 타르세바(TARCEVA)®), 혈소판 유래 성장 인자 억제제 (예를 들어, 글리벡(GLEEVEC)®, 이마티닙 메실레이트), COX-2 억제제 (예를 들어, 셀레코시브), 인터페론, 시토키인, ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-베타, BlyS, APRIL, BCMA 또는 VEGF 수용체(들) 표적 중 하나 이상에 결합하는 길항제 (예를 들어, 중화 항체), TRAIL/Apo2, 및 기타 생활성 및 유기 화학 작용제 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 이들의 조합 또한 본 발명에 포함된다.

[0050] "**화학요법제**"는 암 치료에서 유용한 화학적 화합물을 지칭한다. 화학요법제의 예는 알킬화제 예컨대 티오테라 및 시클로스포스파미드 (예를 들어, 시토크스(CYTOXAN)®); 알킬 술포네이트 예컨대 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘 예컨대 벤조도파, 카르보퀴온, 메투레도파, 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리메틸로멜라민이 포함되는, 에틸렌이민 및 메틸렌라멜라민; 아세토게닌 (특히 블라타신 및 블라타시논); 델타-9-테트라히드로카나비놀 (예를 들어, 드로나비놀, 마리놀(MARINOL)®); 베타-라파론; 라파롤; 콜히친; 베톨린산; 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 (예를 들어, 히캄틴(HYCAMTIN)®), CPT-11 (예를 들어, 이리노테칸, 캄프토사르(CAMPTOSAR)®), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포사이드; 크립토파이신 (특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체인 KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕타이인; 스폰기스타틴; 질소 머스타드 예컨대 클로람부실, 클로나파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드, 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라니무스틴; 항생제 예컨대 엔다이인 항생제 (예를 들어, 칼리키아마이신, 특히 칼리키아마이신 감마II 및 칼리키아마이신 오메가II (예를 들어, 문헌 [Nicolaou et al., Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); 경구 알파-4 인테그린 억제제인 CDP323; 다이네미신 A가 포함되는 다이네미신; 에스페라마이신; 뿐만 아니라 네오프로지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 엔다이인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캇티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (아드리아마이신(ADRIAMYCIN)®, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루

비신, 2-피롤리도-독소루비신, 독소루비신 HCl 리포솜 주사 (예를 들어, 독실(DOXIL)®), 리포솜형 독소루비신 TLC D-99 (예를 들어, 미오세트(MYOCET)®), PEG화 리포솜형 독소루비신 (예를 들어, 카엘릭스(CAELYX)®), 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신 예컨대 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페폴로마이신, 포르피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사산물 예컨대 메토평렉세이트, 겐자르(GEMZAR)®, 페메트렉세이드 (예를 들어, 알림타(ALIMTA)®); 테가푸르 (예를 들어, 우프트랄(UFTORAL)®), 카페시타빈 (예를 들어, 젤로다(XELODA)®), 에포틸론, 및 5-플루로우라실 (5-FU); 엽산 유사체 예컨대 데노프테린, 메토평렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자유리딘, 카르모푸르, 사이타라빈, 디데옥시유리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록스유리딘; 안드로겐 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토라톤; 항-부신제 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충제 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK® 다당류 복합체 (JHS 내추럴 프로덕츠(JHS Natural Products), 오리건주 유진); 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2''-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈테신 (예를 들어, 엘디신(ELDISINE)®, 필데신(FILDESIN)®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토라톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀 (예를 들어, 탁솔(TAXOL)®), 파클리탁셀의 알부민-조각 나노입자 제제 (예를 들어, 아브락산(ABRAXANE)™), 및 도세탁셀 (예를 들어, 탁소테레(TAXOTERE)®); 클로람부실; 6-티오구아닌; 메르캅토피린; 메토평렉세이트; 백금 작용제 예컨대 시스플라틴, 옥살리플라틴 (예를 들어, 엘록사틴(ELOXATIN)®), 및 카르보플라틴; 빈블라스틴 (예를 들어, 벨반(VELBAN)®), 빈크리스틴 (예를 들어, 온코빈(ONCOVIN)®), 빈테신 (예를 들어, 엘디신(ELDISINE)®, 필데신 (FILDESIN)®), 및 비노렐빈 (예를 들어, 나벨빈(NAVELBINE)®)을 포함하는, 튜블린 중합으로 미세관이 형성되는 것을 방지하는 빈카; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 류코보린; 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 백사로텐 (예를 들어, 타르그레틴(TARGRETIN)®)을 포함하는, 레티노이드 예컨대 레티노산; 비스포스포네이트 예컨대 클로드로네이트 (예를 들어, 보네포스(BONEFOS)® 또는 오스탁(OSTAC)®), 에티드로네이트 (예를 들어, 디드로칼(DIDROCAL)®), NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트 (예를 들어, 조메타(ZOMETA)®), 알렌드로네이트 (예를 들어, 포사막스(FOSAMAX)®), 파미드로네이트 (예를 들어, 아레디아(AREDIA)®), 탈루드로네이트 (예를 들어, 스킨리드(SKELID)®), 또는 리세드로네이트 (예를 들어, 악토넬(ACTONEL)®); 트록사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오티드, 특히 이상 세포 증식에 연루된 신호전달 경로 내의 유전자, 예를 들어, PKC-알파, Raf, H-Ras, 및 표피 성장 인자 수용체 (EGF-R)의 발현을 억제하는 것; 백신 예컨대 테라토프(THERATOPE)® 백신 및 유전자 요법 백신, 예를 들어, 알로벡틴(ALLOVECTIN)® 백신, 류벡틴(LEUVECTIN)® 백신, 및 박시드(VAXID)® 백신; 토포이소머라제 1 억제제 (예를 들어, 루르토테칸(LURTOTECAN)®); rmRH (예를 들어, 아바렐릭스(ABARELIX)®); BAY439006 (소라페닙, 예를 들어, 넥사바르(NEXAVAR)®; 바이엘(Bayer)); SU-11248 (수니티닙, 예를 들어, 수텐트(SUTENT)®, 화이자); COX-2 억제제인 페리포신 (예를 들어 셀레코시브 또는 에토리록시브), 프로테오솜 억제제 (예를 들어 PS341); 보르테조미 (예를 들어, 벨케이드(VELCADE)®); CCI-779; 티피파르닙 (R11577); 오라페닙, ABT510; Bcl-2 억제제 예컨대 오블리메르센 소듐 (예를 들어, 제나센스(GENASENSE)®); 픽산트론; EGFR 억제제 (하기의 정의 참조); 티로신 키나제 억제제 (하기의 정의 참조); 세린-트레오닌 키나제 억제제 예컨대 라파마이신 (예를 들어, 시플리무스, 라파문(RAPAMUNE)®); 파르네실트랜스퍼라제 억제제 예컨대 로나파르닙 (예를 들어, SCH 6636, 사라사르(SARASAR)™); 및 상기한 것 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 상기한 것 중 2가지 이상의 조합물 예컨대 시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론의 조합 요법에 대한 약어인 CHOP; 및 5-FU 및 류코보린과 조합된 옥살리플라틴 (예를 들어, 엘록사틴®)을 사용한 치료법에 대한 약자인 FOLFOX를 포함한다.

[0051]

본원에서 정의된 바와 같은 화학요법제는 암 성장을 촉진할 수 있는 호르몬의 효과를 조절하거나, 감소시키거나, 차단하거나 또는 억제하는 작용을 하는 "항호르몬제" 또는 "내분비 치료제"를 포함한다. 이는 호르몬 자체일 수 있고, 하기를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다: 타목시펜 (예를 들어, 놀바텍스®), 4-히

드록시타목시펜, 토레미펜 (예를 들어, 파레스톤(FARESTON)®), 이독시펜, 드롤록시펜, 랄록시펜 (예를 들어, 에비스타(EVISTA)®), 트리옥시펜, 케옥시펜, 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM) 예컨대 SERM3을 포함하는, 혼합형 효능제/길항제 프로파일을 갖는 항-에스트로겐; 효능제 성질이 없는 순수한 항-에스트로겐, 예컨대 풀베스트란트 (예를 들어, 파슬로텍스(FASLODEX)®), 및 EM800 (이러한 작용제는 에스트로겐 수용체 (ER) 이량체화를 차단할 수 있고/있거나, DNA 결합을 억제할 수 있고/있거나, ER 턴오버(turnover)를 증가시킬 수 있고/있거나, ER 수준을 억제할 수 있다); 스테로이드성 아로마타제 억제제 예컨대 포르메스탄 및 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신(AROMASIN)®), 및 비-스테로이드성 아로마타제 억제제 예컨대 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미덱스(ARIMIDEX)®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라(FEMARA)®) 및 아미노글루테티미드, 및 기타 아로마타제 억제제 (보로졸 (예를 들어, 리비소르(RIVISOR)®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세(MEGASE)®), 파드로졸, 및 4(5)-이미다졸을 포함함)를 포함하는, 아로마타제 억제제; 류프롤리드 (예를 들어, 루프론(LUPRON)® 및 엘리가드(ELIGARD)®), 고세렐린, 부세렐린, 및 트리프테렐린을 포함하는 황체형성 호르몬-방출 호르몬 효능제; 프로게스틴 예컨대 메게스트롤 아세테이트 및 메드록시프로게스테론 아세테이트, 에스트로겐 예컨대 디에틸stil베스트롤 및 프레마린, 및 안드로겐/레티노이드 예컨대 플루옥시메스테론, 올(all) 트랜스레티노산 및 펜레티니드를 포함하는 성 호르몬; 오나프리스톤; 항-프로게스테론; 에스트로겐 수용체 하향 조절제 (ERD); 항-항드로겐 예컨대 플루타미드, 닐루타미드 및 비칼루타미드; 및 상기한 것 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 상기한 것 중 2가지 이상의 조합물.

[0052]

"혈관신생 인자 또는 작용제"는 혈관 발달을 자극하는, 예를 들어, 혈관신생, 내피 세포 성장, 혈관 안정성, 및/또는 혈관형성 등을 촉진하는 성장 인자를 지칭한다. 예를 들어, 혈관신생 인자는 VEGF 및 VEGF 패밀리의 구성원 (VEGF-B, VEGF-C 및 VEGF-D), PlGF, PDGF 패밀리를 포함하는, 섬유모세포 성장 인자 패밀리를 포함하는 (FGF), TIE 리간드 (안지오포이에틴(Angiopoietin)), 에프린, 델타-유사 리간드 4 (DLL4), del-1, 섬유모세포 성장 인자: 산성 (aFGF) 및 염기성 (bFGF), 폴리스타틴, 과립구 콜로니-자극 인자 (G-CSF), 간세포 성장 인자 (HGF)/산란 인자 (SF), 인터루킨-8 (IL-8), 랩틴, 미드카인, 뉴로필린, 태반 성장 인자, 혈소판-유래 내피 세포 성장 인자 (PD-ECGF), 혈소판-유래 성장 인자, 특히 PDGF-BB 또는 PDGFR-베타, 플레이오토로핀 (PTN), 프로그래놀린, 프로리페린, 전환 성장 인자-알파 (TGF-알파), 전환 성장 인자-베타 (TGF-베타), 종양 괴사 인자-알파 (TNF-알파) 등을 예를 들어 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 이는 상처 치유를 가속화하는 인자, 예컨대 성장 호르몬, 인슐린-유사 성장 인자-I (IGF-I), VEGF, 표피 성장 인자 (EGF), CTGF 및 이의 패밀리의 구성원, 및 TGF-알파 및 TGF-베타를 또한 포함할 것이다. 예를 들어, 문헌 [Klagsbrun and D'Amore (1991) Annu. Rev. Physiol. 53:217-39]; [Streit and Detmar (2003) Oncogene 22:3172-3179]; [Ferrara & Alitalo (1999) Nature Medicine 5(12):1359-1364]; [Tonini et al. (2003) Oncogene 22:6549-6556] (예를 들어, 공지된 혈관신생 인자가 열거된 표 1); 및 [Sato (2003) Int. J. Clin. Oncol. 8:200-206]을 참조한다.

[0053]

"항혈관형성제" 또는 **"혈관신생 억제제"**는 혈관신생, 혈관형성 또는 바람직하지 않은 혈관 투과성을 직접적으로 또는 간접적으로 억제하는 저분자량 물질, 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 억제성 RNA (RNAi 또는 siRNA) 포함), 폴리펩티드, 단리된 단백질, 재조합 단백질, 항체, 또는 이들의 접합체 또는 융합 단백질을 지칭한다. 항혈관형성제가 혈관신생 인자 또는 이의 수용체에 결합하고 이들의 혈관신생 활성을 차단하는 작용제를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 항혈관형성제는 상기 정의된 바와 같은 혈관신생 작용제에 대한 항체 또는 기타 길항제, 예를 들어, VEGF-A에 결합하는 융합 단백질 예컨대 잘트랩(ZALTRAP)TM (아플리버셉트(Aflibercept)), VEGF-A에 대한 항체 예컨대 아바스틴(AVASTIN)® (베바시주맵) 또는 VEGF-A 수용체 (예를 들어, KDR 수용체 또는 Flt-1 수용체)에 대한 항체, VEGF 수용체 길항제 예컨대 VEGFR 티로신 키나제의 소형 분자 억제제 (예를 들어, 파조파닙), 항-PDGFR 억제제 예컨대 글리벡® (이마티닙 메실레이트), VEGF 수용체 신호전달을 차단하는 소형 분자 (예를 들어, PTK787/ZK2284, SU6668, 수텐트®/SU11248 (수니티닙 말레이트), AMG706, 또는 국제 특허 출원 WO 2004/113304에 예를 들어 기재된 것들)이다. 항혈관신생 작용제는 천연 혈관신생 억제제, 예를 들어, 안지오프스타틴, 엔도스타틴 등을 또한 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Klagsbrun and D'Amore (1991) Annu. Rev. Physiol. 53:217-39]; [Streit and Detmar (2003) Oncogene 22:3172-3179] (예를 들어, 악성 흑색종에서의 항혈관신생 요법이 열거된 표 3); [Ferrara & Alitalo (1999) Nature Medicine 5(12):1359-1364]; [Tonini et al. (2003) Oncogene 22:6549-6556] (예를 들어, 공지된 항혈관신생 인자가 열거된 표 2); 및 [Sato (2003) Int. J. Clin. Oncol. 8:200-206] (예를 들어, 임상 시험에서 사용된 항혈관형성제가 열거된 표 1)을 참조한다.

[0054]

"VEGF 길항제"는 VEGF가 하나 이상의 VEGF 수용체에 결합하는 것을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 VEGF 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. VEGF 길항제는, 비제한적으로, 항-VEGF 항체 및 이의 항원-결합 단편, VEGF에 특이적으로 결합함으로써 하나 이

상의 수용체에 대한 이의 결합을 방해하는 수용체 분자 및 유도제, 항-VEGF 수용체 항제, VEGF 수용체 길항제 예컨대 VEGFR 티로신 키나제의 소형 분자 억제제 (예를 들어, 파조파닙), 및 VEGF에 결합하는 이뮤노어드헤신 (immunoadhesin) 예컨대 VEGF 트랩(trap) (예를 들어, 아플리버셉트)을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같은 "VEGF 길항제"라는 용어는 VEGF에 결합하고 VEGF 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자 (항체, 항체 단편, 기타 결합 폴리펩티드, 펩티드, 및 비-펩티드 소형 분자 포함)를 명확하게 포함한다. 따라서, "VEGF 활성"이라는 용어는 VEGF의 VEGF-매개 생물학적 활성을 명확하게 포함한다.

[0055] **"대상체"** 및 **"환자"**라는 용어는 포유동물을 지칭하도록 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 일부 실시양태에서, 대상체 또는 환자는 인간이다. 다른 실시양태에서, 설치류, 유인원, 고양이, 개, 말, 소, 돼지, 양, 염소, 실험용 포유동물, 포유동물 가축, 스포츠용 포유동물, 및 애완용 포유동물을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 기타 포유동물을 치료하는 방법이 또한 제공된다.

[0056] 본원에서 사용된 바와 같은 **"샘플"** 또는 **"환자 샘플"**이라는 용어는 예를 들어 물리적, 생화학적, 화학적 및/또는 생리학적 특징을 기초로 특성화 및/또는 확인된 세포성 및/또는 기타 분자성 엔티티를 함유하는 관심 대상체로부터 수득 또는 유래된 조성물을 지칭한다. 예를 들어, **"질환 샘플"**이라는 구절 및 이의 변형은 특성화될 세포성 및/또는 분자성 엔티티를 함유할 것으로 예상되거나 또는 이를 함유하는 것으로 공지된 관심 대상체로부터 수득된 임의의 샘플을 지칭한다. **"조직 또는 세포 샘플"**은 대상체 또는 환자의 조직으로부터 수득된 유사한 세포들의 수집물을 의미한다. 조직 또는 세포 샘플의 공급원은 신선하고/하거나 동결되었고/되었거나 보존된 장기 또는 조직 샘플 또는 생검 또는 흡인물로부터와 같은 고형 조직; 혈액 또는 임의의 혈액 구성물; 체액 예컨대 뇌척수액, 양수, 복수 또는 장액; 대상체의 임신 또는 발달 중 임의의 시기로부터의 세포일 수 있다. 조직 샘플은 1차 세포 또는 세포주 또는 배양된 세포 또는 세포주일 수도 있다. 임의적으로, 조직 또는 세포 샘플은 질환 조직/장기로부터 수득된다. 조직 샘플은 자연에서는 조직과 자연스럽게 혼합되지 않는 화합물 예컨대 방부제, 항응고제, 완충제, 고정제, 영양소, 항생제 등을 함유할 수 있다.

[0057] 본원에서 사용된 바와 같은 **"참조 샘플"**, **"참조 세포"**, 또는 **"참조 조직"**은 본 발명의 방법 또는 조성물이 이를 확인하기 위해 사용되고 있는 질환 또는 상태에 걸리지 않은 것으로 공지되었거나 또는 여겨지는 공급원으로부터 수득된 샘플, 세포 또는 조직을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 참조 샘플, 참조 세포 또는 참조 조직은 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 질환 또는 상태가 확인되는 동일한 대상체 또는 환자의 신체의 건강한 부분으로부터 수득된다. 일부 실시양태에서, 참조 샘플, 참조 세포 또는 참조 조직은 본 발명의 조성물 또는 방법을 사용하여 질환 또는 상태가 확인되는 대상체 또는 환자가 아닌 하나 이상의 개체의 신체의 건강한 부분으로부터 수득된다.

[0058] 본원에서 사용된 바와 같은 **"암"** 및 **"종양"**은 동물에서의 임의의 비정상적인 세포 또는 조직 성장 또는 증식을 지칭하는 상호교환가능한 용어이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "암" 및 "종양"이라는 용어는 고형 및 혈액/림프 암을 포함하고, 악성, 전암성, 및 양성 성장, 예컨대 형성이상을 또한 포함한다. 암의 예는 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 이러한 암의 더욱 특정한 비제한적인 예는 편평세포암, 소세포 폐암, 뇌하수체암, 식도암, 별아교세포종, 연조직 육종, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평 암종, 복막암, 간세포암, 위장암, 췌장암, 교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암, 신암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 뇌암, 자궁내막암, 고환암, 담관암종, 담낭 암종, 위암, 흑색종, 및 다양한 유형의 두경부암을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0059] **"FGFR1 유전자 증폭을 갖는 세포"**는 *FGFR1* 유전자의 2개를 초과하는 카피를 포함하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 1을 초과하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 형광 계내 혼성화에 의해 이러한 비가 결정된다. 본원에서 사용된 바와 같은, **"FGFR1 유전자 증폭을 갖는 암"**은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자의 4개 이상의 카피를 포함하는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자:8번 염색체 동원체 비가 1을 초과하는 암을 지칭한다. 예시적인 *FGFR1* 유전자 서열을, 예를 들어, 2013년 3월 23일자의 NCBI 참조 서열: NG_007729.1에서 확인할 수 있다.

[0060] 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR1* 유전자의 3개 이상의 카피, 4개 이상의 카피, 5개 이상의 카피, 6개 이상의 카피, 8개 이상의 카피, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서,

FGFR1 유전자 증폭을 갖는 세포는 4개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR1* 유전자:8번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상, 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR1* 유전자:8번 염색체 동원체의 비가 2 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR1* 유전자:8번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포 내의 *FGFR1* 유전자의 각각의 카피는 *FGFR1* 유전자의 완전한 카피일 필요가 없다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포는 상승된 수준의 *FGFR1* 을 갖는다 (즉, 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포는 또한 *FGFR1* 과다발현을 갖는 세포이다).

[0061]

"FGFR1 과다발현을 갖는 세포" 또는 **"FGFR1을 과다발현하는 세포"**는 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGFR1* mRNA 또는 단백질을 갖는 세포를 지칭한다. **"FGFR1 과다발현을 갖는 암"** 또는 **"FGFR1을 과다발현하는 암"**은 세포의 적어도 일부분이 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGFR1* mRNA 또는 단백질을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 과다발현을 갖는 세포는 참조 세포보다 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7배 또는 적어도 10배 더 많은 수준의 *FGFR1* mRNA 또는 단백질을 갖는다. 본원에 기재된 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 임의의 적절한 방법에 의해 *FGFR1* mRNA 또는 단백질의 수준을 결정할 수 있다. 일부 실시양태에서, *FGFR1*은 *FGFR1IIIc*이다. 예시적인 인간 *FGFR1* 단백질 서열을, 예를 들어, 2012년 3월 21일자의 유니프록트KB(UniProtKB)/스위스-프록트(Swiss-Prot) 참조 서열: P11362 (*FGFR1_HUMAN*)에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *FGFR1* mRNA 서열을, 예를 들어, 2012년 3월 24일자의 NCBI 참조 서열: NM_023110.2에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *FGFR1IIIc* 단백질 서열을, 예를 들어, 2012년 3월 24일자의 NCBI 참조 서열: NP_075598.2에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *FGFR1IIIc* mRNA 서열을, 예를 들어, 2012년 3월 24일자의 NCBI 참조 서열: NM_023110.2에서 확인할 수 있다.

[0062]

"FGFR3 과다발현을 갖는 세포" 또는 **"FGFR3을 과다발현하는 세포"**는 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGFR3* mRNA 또는 단백질을 갖는 세포를 지칭한다. **"FGFR3 과다발현을 갖는 암"** 또는 **"FGFR3을 과다발현하는 암"**은 세포의 적어도 일부분이 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGFR3* mRNA 또는 단백질을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 과다발현을 갖는 세포는 참조 세포보다 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7배 또는 적어도 10배 더 많은 수준의 *FGFR3* mRNA 또는 단백질을 갖는다. 본원에 기재된 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 임의의 적절한 방법에 의해 *FGFR3* mRNA 또는 단백질의 수준을 결정할 수 있다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, *FGFR3*은 *FGFR3IIIc*일 수 있다. 예시적인 인간 *FGFR3IIIc* 단백질 서열을, 예를 들어, 2012년 2월 12일자의 NCBI 참조 서열: NP_000133.1에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *FGFR3IIIc* mRNA 서열을, 예를 들어, 2012년 2월 12일자의 NCBI 참조 서열: NM_000142.4에서 확인할 수 있다.

[0063]

"FGFR3 유전자 증폭을 갖는 세포"는 *FGFR3* 유전자의 2개를 초과하는 카피를 포함하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR3* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 1을 초과하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 형광 계내 혼성화에 의해 이러한 비가 결정된다. 본원에서 사용된 바와 같은, **"FGFR3 유전자 증폭을 갖는 암"**은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자의 4개 이상의 카피를 포함하는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자:4번 염색체 동원체 비가 1을 초과하는 암을 지칭한다. 예시적인 *FGFR3* 유전자 서열을, 예를 들어, 2013년 3월 24일자의 NCBI 참조 서열: NG_012632.1에서 확인할 수 있다.

[0064]

일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR3* 유전자의 3개 이상의 카피, 4개 이상의 카피, 5개 이상의 카피, 6개 이상의 카피, 8개 이상의 카피, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 4개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR3* 유전자:4번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상, 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR3* 유전자:4번 염색체 동원체의 비가 2 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGFR3* 유전자:4번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포 내의 *FGFR3* 유전자의 각각의 카피는 *FGFR3* 유전자의 완전한 카피일 필요가 없다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 상승된 수준의 *FGFR3* 을 갖는다 (즉, 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 세포는 또한 *FGFR3* 과다발현을 갖는 세포이다).

[0065]

"FGF2 유전자 증폭을 갖는 세포"는 *FGF2* 유전자의 2개를 초과하는 카피를 포함하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 1을 초과하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 형광 계내 혼성화에 의해 이러한 비가 결정된다. 본원에서 사용된 바와 같은, **"FGF2 유전자 증폭을 갖는 암"**은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실

시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자의 4개 이상의 카피를 포함하는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자:4번 염색체 동원체 비가 1을 초과하는 암을 지칭한다. 예시적인 *FGF2* 유전자 서열을, 예를 들어, 2013년 3월 26일자의 NCBI 참조 서열: NG_029067.1에서 확인할 수 있다.

[0066]

일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGF2* 유전자의 3개 이상의 카피, 4개 이상의 카피, 5개 이상의 카피, 6개 이상의 카피, 8개 이상의 카피, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 4개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGF2* 유전자:4번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상, 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGF2* 유전자:4번 염색체 동원체의 비가 2 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 *FGF2* 유전자:4번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포 내의 *FGF2* 유전자의 각각의 카피는 *FGF2* 유전자의 완전한 카피일 필요가 없다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 상승된 수준의 *FGF2*를 갖는다 (즉, 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 세포는 또한 *FGF2* 과다발현을 갖는 세포이다).

[0067]

"FGF2 과다발현을 갖는 세포" 또는 **"FGF2를 과다발현하는 세포"**는 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGF2* mRNA 또는 단백질을 갖는 세포를 지칭한다. **"FGF2 과다발현을 갖는 암"** 또는 **"FGF2를 과다발현하는 암"**은 세포의 적어도 일부분이 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGF2* mRNA 또는 단백질을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 과다발현을 갖는 세포는 참조 세포보다 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7배 또는 적어도 10배 더 많은 수준의 *FGF2* mRNA 또는 단백질을 갖는다. 본원에 기재된 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 임의의 적절한 방법에 의해 *FGF2* mRNA 또는 단백질의 수준을 결정할 수 있다. 예시적인 인간 *FGF2* 단백질 서열을, 예를 들어, 2012년 2월 12일자의 NCBI 참조 서열: NP_001997.5에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *FGF2* mRNA 서열을, 예를 들어, 2012년 2월 12일자의 NCBI 참조 서열: NM_002006.4에서 확인할 수 있다.

[0068]

"DKK3 과다발현을 갖는 세포" 또는 **"DKK3을 과다발현하는 세포"**는 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *DKK3* mRNA 또는 단백질을 갖는 세포를 지칭한다. **"DKK3 과다발현을 갖는 암"** 또는 **"DKK3을 과다발현하는 암"**은 세포의 적어도 일부분이 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *DKK3* mRNA 또는 단백질을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *DKK3* 과다발현을 갖는 세포는 참조 세포보다 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7배 또는 적어도 10배 더 많은 수준의 *DKK3* mRNA 또는 단백질을 갖는다. 본원에 기재된 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 임의의 적절한 방법에 의해 *DKK3* mRNA 또는 단백질의 수준을 결정할 수 있다. 예시적인 인간 *DKK3* 단백질 서열을, 예를 들어, 2012년 1월 22일자의 NCBI 참조 서열: NP_001018067.1에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *DKK3* mRNA 서열을, 예를 들어, 2012년 1월 22일자의 NCBI 참조 서열: NM_001018057.1에서 확인할 수 있다.

[0069]

"FGF18 과다발현을 갖는 세포" 또는 **"FGF18을 과다발현하는 세포"**는 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGF18* mRNA 또는 단백질을 갖는 세포를 지칭한다. **"FGF18 과다발현을 갖는 암"** 또는 **"FGF18을 과다발현하는 암"**은 세포의 적어도 일부분이 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *FGF18* mRNA 또는 단백질을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *FGF18* 과다발현을 갖는 세포는 참조 세포보다 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7배 또는 적어도 10배 더 많은 수준의 *FGF18* mRNA 또는 단백질을 갖는다. 본원에 기재된 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 임의의 적절한 방법에 의해 *FGF18* mRNA 또는 단백질의 수준을 결정할 수 있다. 예시적인 인간 *FGF18* 단백질 서열을, 예를 들어, 2012년 6월 27일자의 NCBI 참조 서열: NP_003853에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *FGF18* mRNA 서열을, 예를 들어, 2012년 6월 27일자의 NCBI 참조 서열: NM_003862.2에서 확인할 수 있다.

[0070]

"ETV4 과다발현을 갖는 세포" 또는 **"ETV4를 과다발현하는 세포"**는 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *ETV4* mRNA 또는 단백질을 갖는 세포를 지칭한다. **"ETV4 과다발현을 갖는 암"** 또는 **"ETV4를 과다발현하는 암"**은 세포의 적어도 일부분이 참조 세포보다 적어도 2배 더 많은 수준의 *ETV4* mRNA 또는 단백질을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, *ETV4* 과다발현을 갖는 세포는 참조 세포보다 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 7배 또는 적어도 10배 더 많은 수준의 *ETV4* mRNA 또는 단백질을 갖는다. 본원에 기재된 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 임의의 적절한 방법에 의해 *ETV4* mRNA 또는 단백질의 수준을 결정할 수 있다. 예시적인 인간 *ETV4* 단백질 서열을, 예를 들어, 2012년 9월 8일자의 NCBI 참조 서열: NP_001977.1에서 확인할 수 있다. 예시적인 인간 *ETV4* mRNA 서열을, 예를 들어, 2012년 9월 8일자의 NCBI 참조 서열: NM_001986.2에서 확인할 수 있다.

인할 수 있다.

[0071] **"에스트로겐 수용체 (ER) 양성인 암"** 또는 **"ER 양성인 암"**은 ER 양성인 것으로 결정된 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 문헌 [American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer, J. Clin. Oncol., 2010, 28: 2784-2795]에 따라 암이 ER 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 종양 세포 핵의 $\geq 1\%$ 가 에스트로겐 수용체에 대한 면역조직화학 (IHC) 검정에서 면역반응성인 경우에 암이 ER 양성인 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, 검정 제조사 또는 검정 실험실의 지침에 따라 암이 ER 양성인 것으로 간주된다.

[0072] **"프로게스테론 수용체 (PR) 양성인 암"** 또는 **"PR 양성인 암"**은 PR 양성인 것으로 결정된 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 문헌 [American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer, J. Clin. Oncol., 2010, 28: 2784-2795]에 따라 암이 PR 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 종양 세포 핵의 $\geq 1\%$ 가 프로게스테론 수용체에 대한 면역조직화학 (IHC) 검정에서 면역반응성인 경우에 암이 PR 양성인 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, 검정 제조사 또는 검정 실험실의 지침에 따라 암이 PR 양성인 것으로 간주된다.

[0073] **"HER2 양성인 암"**은 HER2 양성인 것으로 결정된 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, HER2 단백질에 대한 면역조직화학 (IHC) 검정 및/또는 HER2 유전자 증폭을 검출하기 위한 형광 계내 혼성화 (FISH) 검정을 사용하여 암이 HER2 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, IHC 세포막 염색 강도가 0점 내지 3+점 등급에서 3+인 경우에 암이 HER2 양성인 것으로 특성화된다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자가 증폭되는지 여부를 결정하기 위해 HER2 FISH 검정이 사용된다. 일부 이러한 실시양태에서, HER2 유전자의 카피 대 17번 염색체 동원체의 비가 2 초과인 경우에 HER2 유전자가 증폭된 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자가 증폭되면, IHC 검정의 결과와 관계없이 유방암이 HER2 양성인 것으로 간주된다. 일부 실시양태에서, 검정 제조사 또는 검정 실험실의 지침에 따라 암이 HER2 양성인 것으로 간주된다.

[0074] **"HER2 유전자 증폭을 갖는 세포"**는 HER2 유전자의 2개를 초과하는 카피를 포함하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 HER2 유전자 대 17번 염색체 동원체의 비가 1을 초과하는 세포를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 형광 계내 혼성화에 의해 이러한 비가 결정된다. 본원에서 사용된 바와 같은, **"HER2 유전자 증폭을 갖는 암"**은 암 세포의 적어도 일부분이 HER2 유전자 증폭을 갖는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 HER2 유전자의 4개 이상의 카피를 포함하는 암을 지칭한다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 암은 암 세포의 적어도 일부분이 HER2 유전자:17번 염색체 동원체 비가 1을 초과하는 암을 지칭한다. 예시적인 HER2 유전자 서열을, 예를 들어, 2013년 4월 22일자의 NCBI 참조 서열: NG_007503.1에서 확인할 수 있다. 일부 실시양태에서, 문헌 [Persons, et al. "Fluorescence in situ hybridization (FISH) for detection of HER-2/neu amplification in breast cancer: a multicenter portability study." Ann Clin Lab Sci 30: 41-48 (2000)] (모든 목적을 위해 본원에 전문이 참고로 포함됨)에 따라 HER2 유전자 증폭이 결정된다.

[0075] 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 HER2 유전자의 3개 이상의 카피, 4개 이상의 카피, 5개 이상의 카피, 6개 이상의 카피, 8개 이상의 카피, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 4개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 HER2 유전자:17번 염색체 동원체의 비가 1.5 이상, 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상이다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 HER2 유전자:17번 염색체 동원체의 비가 2 이상이다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 HER2 유전자:17번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포 내의 HER2 유전자의 각각의 카피는 HER2 유전자의 완전한 카피일 필요가 없다. 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 상승된 수준의 HER2가 있다 (즉, 일부 실시양태에서, HER2 유전자 증폭을 갖는 세포는 또한 HER2 과다발현을 갖는 세포이다). 일부 실시양태에서, 세포의 적어도 일부분이 HER2 유전자 증폭 및/또는 HER2 과다발현을 갖는 암은 HER2 양성인 것으로 간주된다.

[0076] **"p95HER2 양성인 암"**은 면역조직화학 (IHC), 웨스턴 블롯, 또는 베라태그(VeraTag)® 검정 (모노그램 바이오사이언시즈(Monogram Biosciences))에 의해 결정되었을 때 암 세포의 적어도 일부분이 p95HER2를 함유하는 암을 지칭한다. 예를 들어, 문헌 [Han et al., PLoS One, 2012, 7(7): e39943]; [Parra-Palau et al., Cancer Res., 2010, 70: 8537-8546]; [Saez et al., Clin. Cancer Res., 2006, 12(2): 424-431]; [Sperinde et al.,

Clin. Canc. Res., 2010, 16(16): 4226-4235]; 및 미국 특허 번호 8,389,227 B2를 참조한다. 일부 실시양태에서, IHC에 의해 암이 p95HER2 양성인 것으로 결정된다. 일부 이러한 실시양태에서, 문헌 [Sperinde et al., Clin. Canc. Res., 2010, 16(16): 4226-4235]에 기재된 방법, 예컨대 베라태그 검정에서 항-p95 항체 클론 D9를 사용하는 방법을 사용하여 암이 p95HER2 양성인 것으로 결정된다. 일부 실시양태에서, 미국 특허 번호 8,389,227 B2에 기재된 방법, 예컨대 수탁 번호 DSM ACC2904 또는 DSM ACC2980 하에 독일 미생물 및 세포 협회 (Deutschland Sammlung von Mikroorganismen und Zellen)에 기탁된 하이브리도마 세포주에 의해 생산된 항체를 사용하는 방법을 사용하여 암이 p95HER2 양성인 것으로 결정된다. 일부 실시양태에서, 검정 제조사 또는 검정 실험실의 지침에 따라 암이 p95HER2 양성인 것으로 결정된다. p95HER2는 카르복시-말단 HER2 단편들의 수집물을 지칭하고, 일부 실시양태에서, 이는 95- 내지 100-kDa 단편 및 100- 내지 115-kDa 단편으로 나눌 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Arribas et al., Cancer Res., 2011, 71: 1515-1519]를 참조한다. 일부 실시양태에서, p95HER2 양성인 암은 HER2의 100- 내지 115-kDa 단편을 함유한다.

[0077] **"아로마타제 억제제"**는 안드로겐 (예컨대 테스토스테론 및 안드로스텐디온)을 에스트로겐 (예컨대 에스트라디올 및 에스트론)으로 전환시키는 능력을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 아로마타제 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. 비제한적인 예시적인 아로마타제 억제제는 아미노글루테티미드, 테스토락톤 (예를 들어, 테슬락®), 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미덱스®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라®), 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신®), 보로졸 (예를 들어, 리비소르®), 포르메스탄 (예를 들어, 렌타론®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세®), 파드로졸 (예를 들어, 아페마®), 4-히드록시안드로스텐디온 (4-OHA), 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온 (ATD), 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온 (6-EXO)을 포함한다.

[0078] **"고나도트로핀-방출 호르몬 효능제"** 및 **"GnRH 효능제"**는 뇌하수체로부터의 황체형성 호르몬 (LH) 및/또는 난포-자극 호르몬 (FSH)의 방출을 유도하는 것을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 고나도트로핀-방출 호르몬 수용체 활성을 자극하거나 또는 강화할 수 있는 분자를 지칭한다. 비제한적인 예시적인 고나도트로핀-방출 호르몬 효능제는 류프롤리드 (예를 들어, 루프론®, 엘리가드®), 부세렐린 (예를 들어, 수프레팩트®, 수프레코르®), 히스트렐린 (예를 들어, 수프렐린 LA®, 반타스®), 고세렐린 아세테이트 (예를 들어, 줄라덱스®), 데슬로렐린 (예를 들어, 수프렐로린®, 오부플렌트®), 나파렐린 (예를 들어, 시나렐®), 및 트립토텐린을 포함한다.

[0079] **"고나도트로핀-방출 호르몬 길항제"** 및 **"GnRH 길항제"**는 황체형성 호르몬 (LH) 및/또는 난포-자극 호르몬 (FSH)의 방출을 유도하는 것을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 고나도트로핀-방출 호르몬 수용체 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. 비제한적인 예시적인 고나도트로핀-방출 호르몬 길항제는 세트로렐릭스 (예를 들어, 세트로티드®), 가니렐릭스 (예를 들어, 안타곤®), 아바렐릭스 (예를 들어, 플레낙시스®), 및 데가렐릭스 (예를 들어, 퍼마곤®)를 포함한다.

[0080] **"안드로겐 수용체 억제제"** 및 **"AR 억제제"**는 전사 인자로서 작용하는 (즉, 유전자 발현을 조절하는) 능력을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 안드로겐 수용체 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. 비제한적인 예시적인 안드로겐 수용체 억제제는 시프로테론 아세테이트 (예를 들어, 안드로쿠르®, 시프로스탯®), 플루타미드 (예를 들어, 유렉신®), 비칼루타미드 (예를 들어, 카소텍스®), 엔잘루타미드 (예를 들어, 엑스탄디®), 케토코나졸, 및 닐루타미드 (예를 들어, 아난드론®, 닐란드론®)를 포함한다.

[0081] **"17-히드록실라제 억제제"**는 히드록실 기를 프레그네놀론 또는 프로게스테론의 스테로이드 D 고리의 17번 탄소에 부가하는 능력을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 시토크롬 P450 17A1 (스테로이드 17-알파-모노옥시게나제로 또한 지칭됨) 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. 비제한적인 예시적인 17-히드록실라제 억제제는 아비라테론 아세테이트 (예를 들어, 자이티가®)이다.

[0082] **"에스트로겐 수용체 길항제"** 및 **"ER 길항제"**는 전사 인자로서 작용하는 (즉, 유전자 발현을 조절하는) 능력을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 에스트로겐 수용체 활성을 중화하거나, 차단하거나, 억제하거나, 폐지시키거나, 감소시키거나 또는 방해할 수 있는 분자를 지칭한다. 비제한적인 예시적인 ER 길항제는 타목시펜 (예를 들어, 놀바텍스®, 이스투발®, 및 발로텍스®) 및 풀베스트란트 (예를 들어, 파슬로텍스®)를 포함한다.

[0083] 본원에서 사용된 바와 같은 **"치료"**는 인간을 포함하는 포유동물에서의 상태에 대한 치료제의 임의의 투여 또는 적용을 포함하고, 상태 또는 상태의 진행을 억제하는 것, 상태 또는 이의 진행을 억제하거나 느리게 하는 것, 이의 발달을 정지시키는 것, 상태를 부분적으로 또는 완전히 경감시키는 것, 또는 상태를 치유하는 것 (예를 들어,

어, 퇴행을 야기하거나, 또는 상실되거나 빠지거나 결함이 있는 기능을 회복시키거나 수리함으로써); 또는 불충분한 프로세스를 자극하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, "치료"는 치료되는 개체 또는 세포의 자연스러운 과정을 변경시키려는 시도의 임상적 개입을 지칭하고, 예방을 위해 또는 임상 병리의 과정 동안에 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과는 질환의 발생 또는 재발을 방지하는 것, 증상 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적 병리학적 결과의 축소, 전이를 방지하는 것, 질환 진행 속도를 감소시키는 것, 질환 상태의 호전 또는 고식, 및 완화 또는 개선된 예후를 포함한다.

[0084]

분자 또는 분자들의 조합물의 **"유효량"** 또는 **"치료 유효량"**은 단독으로 또는 다른 치료와 조합되어 제공되었을 때 적어도 대상체의 부분집합에서 상태를 치료하는데 및/또는 종양 세포의 성장을 억제하는데 충분한 양을 의미한다. 특정 실시양태에서, 치료 유효량은 원하는 치료 또는 예방 결과를 달성하는데 필요한 투여량 및 기간으로 이를 달성하는데 효과적인 양을 지칭한다. 본 발명의 FGFR1 융합 단백질의 치료 유효량은 질환 상태, 개체의 연령, 성 및 체중, 및 개체에서 원하는 반응을 도출하는 FGFR1 융합 단백질의 능력과 같은 요인에 따라 다를 수 있다. 또한 치료 유효량은 치료적으로 이로온 효과가 FGFR1 융합 단백질의 임의의 독성이거나 해로운 효과보다 더 많은 것이다. 암의 경우, 유효량의 약물은 암 세포의 개수를 감소시킬 수 있고/있거나; 종양 크기를 감소시킬 수 있고/있거나; 주변 장기 내로의 암 세포 침윤을 억제할 수 있고/있거나 (즉, 어느 정도 느리게 하고 전형적으로는 정지시킴); 종양 전이를 억제할 수 있고/있거나 (즉, 어느 정도 느리게 하고 전형적으로는 정지시킴); 종양 성장을 어느 정도 억제할 수 있고/있거나; 종양 치료를 허용할 수 있고/있거나, 장애와 연관된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 완화할 수 있다. 약물이 기존의 암 세포의 성장을 방지할 수 있고/있거나 이를 사망시킬 수 있다는 점에서, 이는 세포증식억제성 및/또는 세포독성일 수 있다.

[0085]

"예방 유효량"은 원하는 예방 결과를 달성하는데 필요한 투여량 및 기간으로 이를 달성하는데 효과적인 양을 지칭한다. 필수적이지는 않지만 전형적으로, 예방 용량은 대상체에서 질환 이전에 또는 질환의 초기 단계에 사용되기 때문에, 예방 유효량은 치료 유효량보다 적을 것이다.

[0086]

"억제" 또는 **"억제하다"**라는 용어는 임의의 표현형적 특징의 감소 또는 중지, 또는 이러한 특징의 발생률, 정도 또는 가능성의 감소 또는 중지를 지칭한다. 비제한적인 예시적인 억제는 종양 성장의 억제를 포함한다.

[0087]

치료제의 투여로부터의 이로움 또는 치료제의 투여에 대한 반응의 정황에서 본원에서 사용된 바와 같은 **"이로움"**, **"임상 이로움"**, **"반응성"**, 및 **"치료 반응"**이라는 용어는 다양한 중점, 예를 들어, 질환 진행이 어느 정도 억제되는 것 (저속화 및 완전한 정지 포함); 질환 에피소드 및/또는 증상의 수의 감소; 병변 크기의 감소; 인접한 주변 장기 및/또는 조직 내로의 질환 세포 침윤의 억제 (즉, 감소, 저속화 또는 완전한 정지); 질환 확산의 억제 (즉, 감소, 저속화 또는 완전한 정지); 자가면역 반응의 감소 (이는 질환 병변의 퇴행 또는 제거를 초래할 수 있지만 그럴 필요는 없다); 장애와 연관된 하나 이상의 증상이 어느 정도 완화되는 것; 치료 후의 무병을 나타내는 기간, 예를 들어, 무진행 생존의 증가; 전체 생존 증가; 더 높은 반응률; 및/또는 치료 후의 소정의 시점에서의 사망률 감소를 평가함으로써 측정될 수 있다.

[0088]

하나 이상의 추가의 치료제 **"와 조합하여"** 투여하는 것은 공동 투여 (동시 투여 포함) 및 임의 순서의 연속적 투여 (즉, 순차적 투여)를 포함한다.

[0089]

"제약상 허용되는 담체"는 대상체에게 투여하기 위한 **"제약 조성물"**을 함께 이루는 치료제와 함께 사용하기 위한 관련 분야에서 통상적인 비독성 고체, 반고체 또는 액체 충전제, 희석제, 캡슐화 물질, 제형 보조제, 또는 담체를 지칭한다. 제약상 허용되는 담체는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 제제의 다른 성분들과 혼화성이다. 제약상 허용되는 담체는 사용된 제형에 적합하다. 예를 들어, 치료제가 경구 투여되는 경우, 담체는 겔 캡슐일 수 있다. 치료제가 피하 투여되는 경우, 담체는 이상적으로는 피부에 자극성이 없고, 주사 부위 반응을 야기하지 않는다.

[0090]

치료 조성물 및 방법

[0091]

FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 사용하여 암을 치료하는 방법

[0092]

일부 실시양태에서, 본 발명은 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 이러한 암은 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1) 세포의 도메인 (ECD) 또는 FGFR1 ECD 융합 분자로의 치료에 대해 특히 반응성인 것으로 발견되었다. 따라서, 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암을 치료하는 방법은 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

일부 실시양태에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법은 치료 유효량의 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1) 세포의 도메인 (ECD) 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여 전에, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 것으로 결정되었다. 이러한 방법에서, 암에서의 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭은 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 암에 의한 치료 반응성을 나타낸다.

[0093]

일부 실시양태에서, 본 발명은 암 세포의 적어도 일부분이 FGFR1, FGFR3, FGF2, DKK3, FGF18, 및 ETV4로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 또는 4개 이상의 마커의 과다발현을 갖는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1IIIc이다. 일부 실시양태에서, FGFR3은 FGFR3IIIc이다. 일부 실시양태에서, 과다발현은 mRNA 과다발현이다. 일부 실시양태에서, 과다발현은 단백질 과다발현이다. 일부 실시양태에서, FGFR1, FGFR3, FGF2, DKK3, FGF18, 및 ETV4로부터 선택된 하나 이상의 마커를 과다발현하는 암을 치료하는 방법은 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 대상체에서 암을 치료하는 방법은 치료 유효량의 섬유모세포 성장 인자 수용체 1 (FGFR1) 세포의 도메인 (ECD) 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 여기서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여 전에, 암 세포의 적어도 일부분이 FGFR1, FGFR3, FGF2, DKK3, FGF18, 및 ETV4로부터 선택된 하나 이상의 마커의 과다발현을 갖는 것으로 결정되었다. 이러한 방법에서, 암에서의 FGFR1, FGFR3, FGF2, DKK3, FGF18, 및/또는 ETV4 과다발현은 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 암에 의한 치료 반응성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1IIIc이다. 일부 실시양태에서, FGFR3은 FGFR3IIIc이다.

[0094]

일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자의 4개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자의 5개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. *FGFR1* 유전자 카피수의 결정은 관련 분야의 임의의 적절한 방법으로 수행될 수 있다. 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 논의된다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 2 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상이다. 이러한 비의 결정은 관련 분야의 임의의 적절한 방법으로 수행될 수 있다. 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 논의된다.

[0095]

일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자의 4개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자의 5개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. *FGF2* 유전자 카피수의 결정은 관련 분야의 임의의 적절한 방법으로 수행될 수 있다. 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 논의된다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다. 일부 실시양태에서, *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상이다. 이러한 비의 결정은 관련 분야의 임의의 적절한 방법으로 수행될 수 있다. 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 논의된다.

[0096]

일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자의 4개 이상의 카피를 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자의 5개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피를 포함한다. *FGFR3* 유전자 카피수의 결정은 관련 분야의 임의의 적절한 방법으로 수행될 수 있다. 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 논의된다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2 이상이다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2를 초과한다. 일부 실시양태에서, *FGFR3* 유전자 증폭을 갖는 암에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR3* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상이다. 이러한 비의 결정은 관련 분야의 임의의 적절한 방법으로 수행될 수 있다. 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 논의된다.

[0097]

일부 실시양태에서, 암은 전립선암, 유방암, 난소암, 카르시노이드 암, 결장직장암, 폐암, 뇌암, 자궁내막암,

두경부암, 후두암, 간암, 신암, 교모세포종, 및 췌장암으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 암은 전립선암, 유방암, 난소암, 및 카르시노이드 암으로부터 선택된다.

[0098]

일부 실시양태에서, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 유방암에 걸린 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 유방암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 유방암은 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 추가로 에스트로겐 수용체 (ER) 양성 및/또는 프로게스테론 (PR) 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 HER2 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 p95HER2 양성인 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 유방암은 HER2 음성인 것으로 결정되었다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 유방암은 전이성 유방암일 수 있다. 일부 실시양태에서, ER 양성 및 HER2 음성인 유방암은 전이성 유방암이다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 폐경후이다.

[0099]

일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 트라스투주맙 및/또는 라파티닙을 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 이전에 트라스투주맙 및/또는 라파티닙으로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 트라스투주맙 및/또는 라파티닙 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다.

[0100]

일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 이전에 아로마타제 억제제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 아로마타제 억제제 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 아로마타제 억제제는 아미노글루테티미드, 테스토락톤 (예를 들어, 테슬락®), 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미텍스®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라®), 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신®), 보로졸 (예를 들어, 리비소르®), 포르메스탄 (예를 들어, 렌타론®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세®), 파드로졸 (예를 들어, 아페마®), 4-히드록시안드로스텐디온 (4-OHA), 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온 (ATD), 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온 (6-OXO)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 아미노글루테티미드, 테스토락톤 (예를 들어, 테슬락®), 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미텍스®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라®), 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신®), 보로졸 (예를 들어, 리비소르®), 포르메스탄 (예를 들어, 렌타론®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세®), 및 파드로졸 (예를 들어, 아페마®)로부터 선택된 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다.

[0101]

일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 ER 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 ER 양성 유방암에 걸린 것으로 결정되었다. 즉, 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 이전에 ER 길항제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 유방암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 ER 길항제 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 ER 길항제는 타목시펜 (예를 들어, 놀바텍스®, 이스투발®, 발로텍스®) 및 플베스트란트 (예를 들어, 파슬로텍스®)를 포함한다.

[0102]

일부 실시양태에서, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 전립선암에 걸린 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 전립선암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 전립선암은 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 것으로 결정되었다. 일부 이러한 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 고나도트로핀 방출 호르몬 (GnRH) 효능제, GnRH 길항제, 안드로겐 수용체 (AR) 억제제, 17-히드록실라제 억제제, 및 디에틸stil베스트롤 (DES)로부터 선택된 치료제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 이러한 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 고나도트로핀 방출 호르몬 (GnRH) 효능제 또는 GnRH 길항제로부터 선택된 치료제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다.

[0103]

일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 GnRH 효능제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중

이다. 즉, 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 이전에 GnRH 효능제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 GnRH 효능제 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 GnRH 효능제는 류프롤리드 (예를 들어, 류프론®, 엘리가드®), 부세렐린 (예를 들어, 수프레펙트®, 수프레코르®), 히스트렐린 (예를 들어, 수프렐린 LA®, 반타스®), 고세렐린 아세테이트 (예를 들어, 졸라텍스®), 데슬로렐린 (예를 들어, 수프렐로린®, 오부플렌트®), 나파렐린 (예를 들어, 시나렐®), 및 트립토텐린을 포함한다.

[0104]

일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 GnRH 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 이전에 GnRH 길항제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 GnRH 길항제 요법. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 GnRH 길항제는 세트로렐릭스 (예를 들어, 세트로티드®), 가니렐릭스 (예를 들어, 안타곤®), 아바렐릭스 (예를 들어, 플레낙시스®), 및 데가렐릭스 (예를 들어, 퍼마곤®)를 포함한다.

[0105]

일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 AR 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 이전에 AR 억제제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 AR 억제제 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 AR 억제제는 시프로테론 아세테이트 (예를 들어, 안드로쿠르®, 시프로스텍®), 플루타미드 (예를 들어, 유렉신®), 비칼루타미드 (예를 들어, 카소텍스®), 엔잘루타미드 (예를 들어, 엑스탄디®), 케토코나졸, 및 닐루타미드 (예를 들어, 아난드론®, 닐란드론®)를 포함한다.

[0106]

일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 17-히드록실라제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 이전에 17-히드록실라제 억제제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 17-히드록실라제 억제제 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 17-히드록실라제 억제제는 아비라테론 아세테이트 (예를 들어, 자이티가®)이다.

[0107]

일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 디에틸stil베스트롤 (DES)을 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 이전에 DES로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 DES 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다.

[0108]

일부 실시양태에서, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 카르시노이드 암에 걸린 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 카르시노이드 암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 카르시노이드 암은 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 카르시노이드 암에 걸린 대상체는 옥트레오티드 (산도스타틴(Sandostatatin)®)를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 카르시노이드 암에 걸린 대상체는 이전에 치료 유효량의 옥트레오티드로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 전립선암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 옥트레오티드 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다.

[0109]

일부 실시양태에서, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 난소암에 걸린 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 난소암을 치료하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 난소암은 *FGFR1* 유전자

증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 갖는 것으로 결정되었다. 일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 ER 길항제 또는 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 일부 실시양태에서, 난소암은 추가로 에스트로겐 수용체 (ER) 양성 및/또는 프로게스테론 (PR) 양성인 것으로 결정되었다.

[0110]

일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 ER 길항제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 이전에 ER 길항제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 ER 길항제 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 ER 길항제는 타목시펜 (예를 들어, 놀바텍®, 이스투발®, 발로텍스®) 및 풀베스트란트 (예를 들어, 파슬로텍스®)를 포함한다.

[0111]

일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다. 즉, 일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 이전에 아로마타제 억제제로의 요법을 받았지만, 치료 유효량의 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여받기 전에 이러한 요법을 완료 또는 종료하였다. 일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법과 공동으로 아로마타제 억제제 요법을 받는다. "공동으로"는 양쪽 (또는 모든) 작용제가 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다는 것을 의미한다. 비제한적인 예시적인 아로마타제 억제제는 아미노글루테티미드, 테스토락톤 (예를 들어, 테슬락®), 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미텍스®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라®), 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신®), 보로졸 (예를 들어, 리비소르®), 포르메스탄 (예를 들어, 렌타론®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세®), 파드로졸 (예를 들어, 아페마®), 4-히드록시안드로스텐디온 (4-OHA), 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온 (ATD), 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온 (6-EXO)을 포함한다. 일부 실시양태에서, 난소암에 걸린 대상체는 아미노글루테티미드, 테스토락톤 (예를 들어, 테슬락®), 아나스트로졸 (예를 들어, 아리미텍스®), 레트로졸 (예를 들어, 페마라®), 엑스메스탄 (예를 들어, 아로마신®), 보로졸 (예를 들어, 리비소르®), 포르메스탄 (예를 들어, 렌타론®), 메게스트롤 아세테이트 (예를 들어, 메가세®), 및 파드로졸 (예를 들어, 아페마®)로부터 선택된 아로마타제 억제제를 이전에 투여받았거나 또는 현재 투여받고 있는 중이다.

[0112]

임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭 및/또는 *FGFR3* 유전자 증폭 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 세포의 적어도 일부분이 각각의 유전자의 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 또는 8개 이상의 카피를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부분이 각각의 유전자 대 이의 염색체 동원체의 비가 2 이상, 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상 또는 4 이상일 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부분이 각각의 유전자 대 이의 염색체 동원체의 비가 2를 초과할 수 있다. 형광 계내 혼성화 (FISH)를 포함하는 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는, 관련 분야의 임의의 방법에 의해 유전자 증폭이 결정될 수 있다. 유전자 증폭을 결정하는 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 기재된다.

[0113]

임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부분이 FGFR1 과다발현 및/또는 FGFR3 과다발현 및/또는 FGF2 과다발현을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1IIIc이다. 일부 실시양태에서, FGFR3은 FGFR3IIIc이다. 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 암 세포의 적어도 일부분이 DKK3 과다발현 및/또는 FGF18 과다발현 및/또는 ETV4 과다발현을 가질 수 있다. 이러한 과다발현은 mRNA 과다발현 및/또는 단백질 과다발현일 수 있다. 정량적 RT-PCR를 포함하는 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는, 관련 분야의 임의의 방법에 의해 mRNA 과다발현이 결정될 수 있다. 면역조직화학을 포함하는 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는, 관련 분야의 임의의 방법에 의해 단백질 과다발현이 결정될 수 있다. mRNA 및/또는 단백질 과다발현을 결정하는 특정한 비제한적인 예시적인 방법이 본원에서 기재된다.

[0114]

일부 실시양태에서, FGFR1 ECD는 서열 1 내지 4로부터 선택된 아미노산 서열을 지닌다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD는 서열 2 및 4로부터 선택된 아미노산 서열을 지닌다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자는 서열 5 및 6으로부터 선택된 아미노산 서열을 지닌다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자는 서열 6의 아미노산 서열의 FGFR1 ECD.339-Fc이다.

[0115]

일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자가 하나 이상의 추가의 항암 요법과 함께 투여된다. 추가의 항암 요법의 예는, 비제한적으로, 수술, 방사선조사 요법 (방사선요법), 생물요법, 면역요법, 및 화학요법, 또는 이러한 요법들의 조합을 포함한다. 또한, 세포독성제, 항혈관신생 작용제 및 항증식제가 FGFR1 ECD

또는 FGFR1 ECD 융합 분자와 조합되어 사용될 수 있다. 임의의 방법 및 용도의 특정 측면에서, 본 발명은 치료 유효량의 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 하나 이상의 화학요법제를 대상체에게 투여하는 것에 의해, 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, *FGF2* 유전자 증폭 및/또는 FGF2 과다발현을 포함하고/하거나 DKK3, FGF18, 및 ETV4로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상 또는 3개의 마커를 과다발현하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 대상체의 암은 이전에 치료된 적이 없다. 일부 실시양태에서, 대상체의 암은 하나 이상의 화학요법제로 이전에 치료되었거나 또는 현재 치료 중이다. 다양한 화학요법제가 본 발명의 조합 치료 방법 및 용도에서 사용될 수 있다. 구상되는 화학요법제의 예시적이고 비제한적인 목록이 본원에서 "정의" 하에, 그리고 "발명의 개요"에서 제공된다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 하나 이상의 항혈관형성제(들)를 대상체에게 투여하는 것에 의해 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 하나 이상의 VEGF 길항제를 대상체에게 투여하는 것에 의해 암을 치료하는 것을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 치료 유효량의 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 및 하나 이상의 VEGF 길항제를 하나 이상의 화학요법제와 조합하여 대상체에게 투여하는 것에 의해 암을 치료하는 것을 제공한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 VEGF 길항제는 VEGFR 티로신 키나제의 소형 분자 억제제 및/또는 항-VEGF 항체 및/또는 VEGF 트랩이다.

[0116]

일부 실시양태에서, 도세탁셀, 파클리탁셀, 빈크리스틴, 카르보플라틴, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 독소루비신, 5-플루오로우라실 (5-FU), 류코보린, 페메트렉세드, 소라페닙, 에토포시드, 토포테칸, VEGF 길항제, 항-VEGF 항체, VEGF 트랩, 및 베바시주맙으로부터 선택된 하나 이상의 추가의 치료제와 조합하여 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법이 제공된다. 또 다른 예에서, 도세탁셀, 파클리탁셀, 빈크리스틴, 카르보플라틴, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 독소루비신, 5-플루오로우라실 (5-FU), 류코보린, 페메트렉세드, 소라페닙, 에토포시드, 토포테칸, VEGF 길항제, 항-VEGF 항체, VEGF 트랩, 및 베바시주맙으로부터 선택된 선택된 하나 이상의 추가의 치료제와 조합하여 FGFR1-ECD.339-Fc를 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, FGFR1-ECD.339-Fc 및 도세탁셀을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 암 치료 방법이 제공된다.

[0117]

FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)를 포함하는 제약 조성물이 특정 적응증에 대해 치료 유효량으로 투여된다. 전형적으로 치료 유효량은 치료되는 대상체의 체중, 대상체의 신체적 또는 건강 상태, 치료될 상태의 광범위성, 및/또는 치료되는 대상체의 연령에 좌우된다. 일반적으로, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)는 용량 당 약 50 μg /체중 kg 내지 약 100 mg/체중 kg 범위의 양으로 투여될 것이다. 임의적으로, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)는 용량 당 약 100 μg /체중 kg 내지 약 30 mg/체중 kg 범위의 양으로 투여될 수 있다. 또한 임의적으로, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)는 용량 당 약 0.5 mg/체중 kg 내지 약 20 mg/체중 kg 범위의 양으로 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)는 약 5 mg/체중 kg 내지 약 20 mg/체중 kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)는 1.11 mL/mg*cm의 흡광 계수 (표 1 참조)를 사용하여 계산된 약 10 mg/체중 kg 내지 약 20 mg/체중 kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)는 약 10 mg/체중 kg, 약 11 mg/체중 kg, 약 12 mg/체중 kg, 약 13 mg/체중 kg, 약 14 mg/체중 kg, 약 15 mg/체중 kg, 약 16 mg/체중 kg, 약 17 mg/체중 kg, 약 18 mg/체중 kg, 약 19 mg/체중 kg, 또는 약 20 mg/체중 kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, FGFR1 융합 단백질은 1.11 mL/mg*cm의 흡광 계수를 사용하여 계산된 바와 같은 약 10 mg/체중 kg의 용량으로 투여된다. 다른 실시양태에서, FGFR1 융합 단백질은 1.11 mL/mg*cm의 흡광 계수를 사용하여 계산된 바와 같은 약 20 mg/체중 kg의 용량으로 투여된다. FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자는 상기 용량 중 하나에서 또다른 용량까지의 범위로 투여될 수도 있다. 일부 실시양태에서, 투여량이 1주일에 2번, 매주, 격주로, 매주 내지 격주 사이의 빈도로, 3주마다, 4주마다 또는 매달 투여될 수 있다.

[0118]

특정 실시양태에서, 사용된 흡광 계수 (EC)에 따라 2가지 방식으로 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여량이 계산될 수 있다. 흡광 계수는 단백질의 글리코실화가 고려되는지 여부에 따라 상이하다. 한 실시양태에서, FGFR1-ECD.339-Fc의 아미노산 조성을 기초로 하는 흡광 계수는, 예를 들어, 1.42 mL/mg*cm이다. 또 다른 실시양태에서, FGFR1-ECD.339-Fc의 아미노산 부분뿐만 아니라 탄수화물 부분도 고려되는 경우, 흡광 계수는 1.11 mL/mg*cm이다. 표 1에 제시된 바와 같이, 1.11 mL/mg*cm의 EC를 사용하는 FGFR1-ECD.339-Fc 용량의 계산은 계산된 용량을 28%만큼 증가시킨다. 2가지 흡광 계수를 사용하여 계산된 용량이 상이하지만, 투여된 약물의 몰 농도 또는 실제 양은 동일하다. 달리 언급되지 않는 한, 본원에서 개시된 용량은 글리코실화를 고려

하지 않은 흡광 계수를 사용하여 각각 계산된다. 이러한 투여량을 FGFR1-ECD.339-Fc에 대한 글리코실화를 고려하는 흡광 계수를 사용하여 계산된 것과 비교하는 방법이 표 1에서 제시된다. 표 1에서 볼 수 있듯이, 본원에서의 1.11 mL/mg*cm의 EC를 사용한 5 mg/kg의 투여량은 1.42 mL/mg*cm의 EC를 사용하여 계산했을 때 약 3.9 mg/kg의 투여량에 상응한다. 본원에서의 1.11 mL/mg*cm의 EC를 사용한 10 mg/kg의 투여량은 1.42 mL/mg*cm의 EC를 사용하여 계산했을 때 약 7.8 mg/kg의 투여량에 상응한다. 본원에서의 1.11 mL/mg*cm의 EC를 사용한 20 mg/kg의 투여량은 1.42 mL/mg*cm의 EC를 사용하여 계산했을 때 약 15.6 mg/kg의 투여량에 상응한다. 상기 "정의" 섹션에서 언급된 바와 같이, 본원에서 제공된 측정된 수는 근사값이고, 반올림된 추가의 유효 숫자가 있는 값을 포함한다. 예를 들어, 8 mg/kg은 각각 8로 반올림된 유효 숫자가 2개인 값 예컨대 7.6, 7.8, 8.0, 8.2, 8.4, 및 8.45를 포함한다. 마찬가지로, 16 mg/kg과 같은 값은 16으로 반올림된 유효 숫자가 3개인 값, 예를 들어 15.6 및 16.4를 포함한다.

[표 1]

FGFR1-ECD.339-FC 용량의 변환

| 용량 ^a EC = 1.11 mL/mg*cm | 용량 ^a EC = 1.42 mL/mg*cm |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 0.5 | 0.4 |
| 0.75 | 0.6 |
| 1.0 | 0.8 |
| 2.0 | 1.6 |
| 3.0 | 2.3 |
| 4.0 | 3.1 |
| 5.0 | 3.9 |
| 6.0 | 4.7 |
| 7.0 | 5.5 |
| 8.0 | 6.2 |
| 9.0 | 7.0 |
| 10.0 | 7.8 |
| 11.0 | 8.6 |
| 12.0 | 9.4 |
| 13.0 | 10.2 |
| 14.0 | 10.9 |
| 15.0 | 11.7 |
| 16.0 | 12.5 |
| 17.0 | 13.3 |
| 18.0 | 14.1 |
| 19.0 | 14.8 |
| 20.0 | 15.6 |
| 30.0 | 23.4 |

| 용량 ^a EC = 1.42 mL/mg*cm | 용량 ^a EC = 1.11 mL/mg*cm |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 0.5 | 0.6 |
| 0.75 | 1.0 |
| 1.0 | 1.3 |
| 2.0 | 2.6 |
| 4.0 | 5.1 |
| 8.0 | 10.2 |
| 16.0 | 20.5 |

^a mg/kg으로 제시된 용량

FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 융합 분자, 및/또는 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 제약 조성물이 필요하다면 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 유효 용량의 치료 분자가 대상체에게 1회 이상 투여된다. 다양한 실시양태에서, 유효 용량의 치료 분자가 대상체에게 2개월마다 1회 이상, 1개월에 1회 이상, 1개월에 2회 이상, 1주일에 1회, 1주일에 2회, 또는 1주일에 3회로 투여된다. 다양한 실시양태에서, 유효 용량의 치료 분자가 대상체에게 1주일 이상, 1개월 이상, 3개월 이상, 6개월 이상 또는 1년 이상 동안 투여된다.

특정 실시양태에서, FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 융합 분자 및 하나 이상의 추가의 치료제의 조합 투여는 별도의 제제 또는 단일 제약 제제를 사용하는 공동 투여 (동시 투여 포함), 뿐만 아니라 임의 순서의 연속 투여를 포함한다. 임의적으로, 양쪽 (모든) 활성 작용제가 동시에 이들의 생물학적 활성을 발휘하는 기간이 있다. FGFR1 ECD 및/

또는 FGFR1 ECD 융합 분자 (예를 들어, FGFR1-ECD.339-Fc)와 조합되어 투여되는 치료제의 치료 유효량은 의사 또는 수의사의 재량일 것이다. 치료될 상태의 최대 관리가 달성되도록 투여량 투여 및 조정이 행해진다. 용량은 사용될 치료제의 유형, 치료되는 특정 환자, 질환 단계, 및 치료 체계의 원하는 공격성과 같은 요인들에 추가적으로 좌우될 것이다.

[0125] 임의의 본원에 기재된 실시양태에서, 치료적 처치를 승인하는 것을 담당하는 기관, 예컨대 식품의약청에 의해 승인된 투여량으로 또는 제조사의 권장 투여량으로 치료제가 투여될 수 있다.

[0126] **투여 경로 및 담체**

[0127] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자가 정맥내 및/또는 피하 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자가 또 다른 경로, 예컨대 동맥내, 비경구, 비내, 근육내, 심장내, 뇌실내, 기관내, 볼, 직장, 복막내, 피내, 국소, 경피 또는 경막내 경로에 의해 또는 다르게는 이식 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 다양한 실시양태에서, 하나 이상의 추가의 치료제가 정맥내, 동맥내, 피하, 비경구, 비내, 근육내, 심장내, 심실내, 기관내, 볼, 직장, 복막내, 피내, 국소, 경피 및 경막내 경로를 포함하는 다양한 경로에 의해 또는 다르게는 이식 또는 흡입에 의해 생체내에서 투여될 수 있다. 각각의 조성물이 단독으로 또는 조합되어 고체, 반고체, 액체 또는 기체 형태의 제제, 예컨대 정제, 캡슐, 분말, 과립, 연고, 용액, 좌약, 관장제, 주사, 흡입제 및 에어로졸로 제제화될 수 있다.

[0128] 다양한 실시양태에서, FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 융합 분자, 및/또는 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 조성물이 제약상 허용되는 담체를 갖는 제제로 제공되고, 다양한 이러한 담체가 관련 분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20th ed. (2003)]; [Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004)]; [Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)] 참조). 비히클, 아주반트, 담체 및 희석제를 포함하는 다양한 제약상 허용되는 담체가 공개적으로 이용가능하다. 또한, 다양한 제약상 허용되는 보조 물질, 예컨대 pH 조정 및 완충 작용제, 장성 조정제, 안정화제, 습윤화제 등이 또한 공개적으로 이용가능하다. 특정한 비제한적인 예시적인 담체는 염수, 완충 염수, 텍스트로스, 물, 글리세롤, 에탄올, 및 이들의 조합물을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료제는 상기 정의 섹션에서 지시된 상표명 약물 또는 제네릭(generic) 등가물로서 제제화된다. 일부 실시양태에서, 도세탁셀은 탁소테레® (사노피 아벤티스(Sanofi Aventis)) 또는 제네릭 등가물로서 제제화된다.

[0129] 다양한 실시양태에서, FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 융합 분자, 및/또는 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 조성물이 이들을 수성 또는 비-수성 용매, 예컨대 식물성 또는 기타 오일, 합성 지방족 산 글리세리드, 고급 지방족 산의 에스테르, 또는 프로필렌 글리콜에, 원한다면 통상적인 첨가제 예컨대 용해제, 등장성 작용제, 현탁제, 유화제, 안정화제 및 방부제와 함께, 용해, 현탁 또는 유화시킴으로서 주사용으로 제제화될 수 있다. 다양한 실시양태에서, 예를 들어, 가압된 허용되는 추진제 예컨대 디클로로디플루오로메탄, 프로판, 질소 등을 사용하여, 조성물이 흡입용으로 제제화될 수 있다. 다양한 실시양태에서, 예컨대 생물분해성 또는 비-생물분해성 중합체로, 조성물이 지속 방출 마이크로캡슐 내로 제제화될 수도 있다. 비제한적인 예시적인 생물분해성 제제는 폴리락트산-글리콜산 중합체를 포함한다. 비제한적인 예시적인 비-생물분해성 제제는 폴리글리세린 지방산 에스테르를 포함한다. 이러한 제제를 제조하는 특정 방법들이, 예를 들어, EP 1 125 584 A1에 기술되어 있다.

[0130] FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 융합 분자, 및/또는 하나 이상의 추가의 치료제의 1회 이상의 용량을 각각 함유하는 하나 이상의 용기를 포함하는 제약적 투약 팩이 또한 제공된다. 특정 실시양태에서, 단위 투여량이 제공되고, 이때 단위 투여량은 하나 이상의 추가의 작용제와 함께 또는 이러한 작용제 없이 FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 융합 분자, 및/또는 하나 이상의 추가의 치료제를 포함하는 조성물을 미리 정해진 양으로 함유한다. 특정 실시양태에서, 이러한 단위 투여량은 주사용으로 미리 충전된 1회용 주사기에서 공급된다. 다양한 실시양태에서, 단위 투여량 내에 함유된 조성물은 염수, 수크로스 등, 완충제, 예컨대 포스페이트 등을 포함할 수 있고/있거나, 안정적이고 효과적인 pH 범위 내에서 제제화될 수 있다. 대안적으로, 특정 실시양태에서, 조성물이 동결건조 분말로서 제공될 수 있고, 이는 적합한 액체, 예를 들어, 무균수의 첨가 시 재구성될 수 있다. 특정 실시양태에서, 조성물은 수크로스 및 아르기닌을 포함하지만 이에 제한되지는 않는, 단백질 응집을 억제하는 하나 이상의 물질을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 헤파린 및/또는 프로테오글리칸을 포함한다.

[0131] 일부 실시양태에서, 투약 팩은 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 투여하기 전에 암이 *FGFR1* 유전자 증

폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 FGF2 유전자 증폭을 포함하고/하거나 DKK3, FGF18 및 ETV4로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상 또는 3개의 마커를 과다발현하는지 여부를 결정하기 위한 설명서를 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1IIIc이다. 일부 실시양태에서, FGFR3은 FGFR3IIIc이다. 일부 이러한 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 FGF2 유전자 증폭의 존재, 및/또는 DKK3, FGF18 및 ETV4로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상 또는 3개의 마커의 과다발현이 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다.

[0132]

일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGFR1* 유전자의 4개 이상의 카피의 존재가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGFR1* 유전자의 4개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피의 존재가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 2 이상의 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 2를 초과하는 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 폐암 세포의 적어도 일부분에서의 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상의 *FGFR1* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다.

[0133]

일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGF2* 유전자의 4개 이상의 카피의 존재가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGF2* 유전자의 4개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피의 존재가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 2 이상의 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 2를 초과하는 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 폐암 세포의 적어도 일부분에서의 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상의 *FGF2* 유전자 대 4번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다.

[0134]

일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGFR3* 유전자의 4개 이상의 카피의 존재가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGFR3* 유전자의 4개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 또는 10개 이상의 카피의 존재가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 2 이상의 *FGFR3* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 암 세포의 적어도 일부분에서의 2를 초과하는 *FGFR3* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다. 일부 실시양태에서, 설명서는 폐암 세포의 적어도 일부분에서의 2.5 이상, 3 이상, 3.5 이상, 또는 4 이상의 *FGFR3* 유전자 대 8번 염색체 동원체의 비가 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 치료 반응성을 나타낸다는 것을 설명한다.

[0135]

본원에서 사용된 바와 같은 "설명서"라는 용어는 표지, 포장 삽입물, 전자 형태로 이용가능한 설명서 예컨대 컴퓨터 판독가능 매체 (예를 들어, 디스켓, 컴팩트 디스크, 또는 DVD), 인터넷을 통하는 것과 같이 원격으로 이용가능한 설명서 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 투약 팩이 설명서에 대한 액세스, 설명서에 대한 링크 (예컨대 유니폼 리소스 로케이터(uniform resource locator), 또는 url), 또는 설명서의 사본을 수득하기 위한 기타 메커니즘 (예컨대 리턴 리플라이 카드(return reply card), 설명서를 요청할 수 있는 물리적 주소, 설명서를 요청할 수 있는 이메일 주소, 설명서를 수득하기 위해 걸 수 있는 전화 번호 등)을 제공하는 경우, 투약 팩이 설명서를 포함하는 것으로 간주된다.

[0136]

FGFR1 ECD 및 FGFR1 ECD 융합 분자

[0137]

비제한적인 예시적인 FGFR1 ECD는 전장 FGFR1 ECD, FGFR1 ECD 단편, 및 FGFR1 ECD 변이체를 포함한다. FGFR1 ECD는 신호 펩티드를 포함할 수 있거나 또는 신호 펩티드가 결여될 수 있다. 예시적인 FGFR1 ECD는 서열 1, 2, 3, 및 4로부터 선택된 아미노산 서열의 FGFR1 ECD를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

- [0138] 비제한적인 예시적인 FGFR1 ECD 단편은 아미노산 339 (신호 펩티드 없이, 성숙형의 제1 아미노산으로부터 계수됨)에서 종결되는 인간 FGFR1 ECD를 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 단편은 아미노산 339과 아미노산 360 (신호 펩티드 없이, 성숙형의 제1 아미노산으로부터 계수됨) 사이의 아미노산에서 종결된다. 예시적인 FGFR1 ECD 단편은 서열 3 및 4로부터 선택된 아미노산 서열의 FGFR1 ECD 단편을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0139] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD는 서열 1 내지 4로부터 선택된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD는 서열 1 내지 4로부터 선택된 서열로 이루어진다. FGFR1 ECD가 서열 1 내지 4로부터 선택된 서열로 "이루어지는" 경우, FGFR1 ECD는 다양한 번역후 변형, 예컨대 글리코실화 및 시알릴화를 함유하거나 또는 함유하지 않을 수 있다. 달리 말하면, FGFR1 ECD가 특정 아미노산 서열로 이루어지는 경우, 이는 연속적인 아미노산 서열 내에 추가의 아미노산을 함유하지 않지만, 아미노산 측쇄, N-말단 아미노기, 및/또는 C-말단 카르복시기에 대한 변형을 함유할 수 있다.
- [0140] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자는 신호 펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자는 신호 펩티드가 결여된다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자의 FGFR1 ECD 부분은 서열 1 내지 4로부터 선택된 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 융합 분자의 FGFR1 ECD 부분은 서열 1 내지 4로부터 선택된 서열로 이루어진다. FGFR1 ECD 융합 분자의 FGFR1 ECD 부분이 서열 1 내지 4로부터 선택된 서열로 "이루어지는" 경우, FGFR1 ECD 융합 분자의 FGFR1 ECD 부분은 다양한 번역후 변형, 예컨대 글리코실화 및 시알릴화를 함유하거나 또는 함유하지 않을 수 있다. 달리 말하면, FGFR1 ECD 융합 분자의 FGFR1 ECD 부분이 특정 아미노산 서열로 이루어지는 경우, 이는 연속적인 아미노산 서열 내에 FGFR1로부터의 추가의 아미노산을 함유하지 않지만, 아미노산 측쇄, N-말단 아미노기, 및/또는 C-말단 카르복시기에 대한 변형을 함유할 수 있다. 추가로, FGFR1 ECD가 융합 분자에 연결되기 때문에, FGFR1 ECD의 N- 및/또는 C-말단에 추가의 아미노산을 가질 수 있지만, 이러한 아미노산들은 FGFR1 서열로부터의 것이 아니라, 예를 들어 링커 서열 또는 융합 파트너 서열로부터의 것일 수 있다.
- [0141] 일부 실시양태에서, Fc, 알부민, 및 폴리에틸렌 글리콜로부터 FGFR1 ECD 융합 분자의 융합 파트너 부분이 선택된다. 비제한적인 예시적인 융합 파트너가 본원에서 논의된다.
- [0142] **융합 파트너 및 접합체**
- [0143] 본원에서 논의된 바와 같이, FGFR1 ECD가 하나 이상의 융합 파트너와 조합되어 FGFR1 ECD 융합 분자가 초래될 수 있다. 이러한 융합 파트너는 정제를 용이하게 할 수 있고, FGFR1 ECD 융합 분자는 생체내에서 증가된 반감기를 나타낼 수 있다. FGFR1 ECD의 적절한 융합 파트너는, 예를 들어, 중합체, 예컨대 수용성 중합체, 면역 글로불린의 불변 도메인; 전체적인 인간 혈청 알부민 알부민 (HSA) 또는 이의 일부분; 페투인 A; 페투인 B; 류신 지퍼 도메인; 테트라넥틴 삼량체화 도메인; 만노스 결합 단백질 (만노스 결합 력틴으로 또한 공지됨), 예를 들어, 만노스 결합 단백질 1; 및 Fc 영역 (본원에서 논의되고 미국 특허 번호 6,686,179에서 추가로 기재된 바와 같음)을 포함한다. 비제한적인 예시적인 FGFR1 ECD 융합 분자가, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,678,890에 기술되어 있다.
- [0144] 폴리아미노산 또는 분지점 아미노산을 FGFR1 ECD에 부착시킴으로써 FGFR1 ECD 융합 분자가 제조될 수 있다. 예를 들어, 폴리아미노산은 (융합 분자를 통해 달성된 장점에 더하여) FGFR1 ECD의 순환 반감기를 증가시키는 역할을 하는 담체 단백질일 수 있다. 본 발명의 치료적 목적을 위해, 이상적으로는 이러한 폴리아미노산은 중화 항원성 반응 또는 기타 유해 반응이 없거나 또는 이를 일으키지 않는 것이어야 한다. 이러한 폴리아미노산은 혈청 알부민 (예컨대 HSA), 추가의 항체 또는 이의 일부분, 예를 들어 Fc 영역, 페투인 A, 페투인 B, 류신 지퍼 인자 에리트로이드 유도체-2 (NFE2), 신경망막 류신 지퍼, 테트라넥틴, 또는 기타 폴리아미노산, 예를 들어, 리신으로부터 선택될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 폴리아미노산의 부착 위치는 N 말단 또는 C 말단, 또는 이들 사이의 기타 장소일 수 있고, 선택된 분자에 화학적 링커 모이어티에 의해 연결될 수도 있다.
- [0145] **중합체**
- [0146] 중합체, 예를 들어, 수용성 중합체가 생리적 환경에서 전형적으로 발견되는 것과 같은 수성 환경에서의 FGFR1 ECD 융합 분자의 침전을 감소시키는 융합 파트너로서 유용할 수 있다. 본 발명에서 사용되는 중합체는 치료 제품 또는 조성물의 제조를 위해 제약상 허용될 것이다.
- [0147] 적절한 임상적으로 허용되는 수용성 중합체는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 모노메톡시-폴리에틸렌 글리콜, 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란,

폴리비닐 알콜 (PVA), 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레인 무수물 공중합체, 폴리 (β -아미노산) (동중중합체 또는 무작위 공중합체), 폴리(n-비닐 피롤리돈) 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 동중중합체 (PPG) 및 기타 폴리알킬렌 옥시드, 폴리프로필렌 옥시드/에틸렌 옥시드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올 (POG) (예를 들어, 글리세롤) 및 기타 폴리옥시에틸화 폴리올, 폴리옥시에틸화 소르비톨, 또는 폴리옥시에틸화 글루코스, 콜론산(colonic acid) 또는 기타 탄수화물 중합체, 피콜(Ficoll), 또는 덱스트란 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0148] 본원에서 사용된 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)은 다른 단백질을 유도체화시키는데 사용된 임의의 형태, 예컨대 모노-(C₁-C₁₀) 알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜을 포함하도록 의도된다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데하이드는 이의 물에서의 안정성으로 인해 제작에서의 장점이 있을 수 있다.

[0149] 본원에서 사용된 중합체, 예를 들어 수용성 중합체는 임의의 분자량의 중합체일 수 있고, 분지형 또는 비-분지형일 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 평균 분자량이 약 2 kDa 내지 약 100 kDa이다 ("약"이라는 용어는 중합체 제제 내에서 일부 분자는 언급된 분자량보다 분자량이 더 크고 일부는 더 적을 것임을 가리킴). 각각의 중합체의 평균 분자량은 약 5 kDa 내지 약 50 kDa, 또는 약 12 kDa 내지 약 25 kDa일 수 있다. 일반적으로, 분자량이 더 높을수록 또는 분지가 더 많을수록, 중합체:단백질 비가 더 높다. 원하는 치료 프로파일, 예를 들어, 지속 방출 기간, 생물학적 활성에 대한 효과 (존재하는 경우), 취급 용이성, 항원성의 정도 또는 결여, 및 FGFR1 ECD에 대한 중합체의 기타 공지된 효과에 따라 다른 크기가 또한 사용될 수 있다.

[0150] 전형적으로, 본 발명에서 사용된 중합체는 폴리펩티드의 기능성 또는 항원성 도메인에 대한 효과를 고려하여 FGFR1 ECD에 부착된다. 일반적으로, 화학적 유도체화는 단백질을 활성화된 중합체 분자와 반응시키기 위해 사용되는 임의의 적절한 조건 하에 수행될 수 있다. 중합체를 활성 모이어티에 연결하는데 사용될 수 있는 활성화 기는 술포, 말레이미드, 술포히드릴, 티올, 트리플레이트, 트레실레이트, 아지리딘, 옥시란 및 5-피리딜을 포함한다.

[0151] 전형적으로 본 발명의 중합체는 아미노산의 알파 (α) 또는 엡실론 (ϵ) 아미노기 또는 반응성 티올기에서 이중 폴리펩티드에 부착되지만, 적절한 반응 조건 하에 중합체 기에 부착되도록 충분히 반응성인 단백질의 임의의 반응성 기에 중합체 기가 부착될 수 있는 것이 또한 구상된다. 따라서, 중합체가 반응성 기, 예컨대 유리 아미노 또는 카르복실 기를 통해 FGFR1 ECD에 공유결합으로 결합될 수 있다. 유리 아미노기를 갖는 아미노산 잔기는 리신 잔기 N-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 유리 카르복실기를 갖는 것은 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기, 및 C-말단 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 반응성 티올기를 갖는 것은 시스테인 잔기를 포함한다.

[0152] 중합체, 예컨대 수용성 중합체와 접합된 융합 분자의 제조 방법은 각각 일반적으로 (a) 폴리펩티드가 하나 이상의 중합체에 부착되는 조건 하에 FGFR1 ECD를 중합체와 반응시키는 단계, 및 (b) 반응 생성물을 수득하는 단계를 수반할 것이다. 각각의 접합에 대한 반응 조건은 관련 분야에 공지된 조건 중 임의의 것 또는 이후에 개발되는 것으로부터 선택될 수 있지만, 변형된 단백질을 불활성화시킬 반응 조건 예컨대 온도, 용매 및 pH 수준에 대한 노출을 피하거나 제한하도록 선택되어야 한다. 일반적으로, 반응을 위한 최적의 반응 조건은 공지된 파라미터 및 원하는 결과를 기초로 경우에 따라 결정될 것이다. 예를 들어, 중합체:폴리펩티드 접합체의 비가 클수록, 접합된 생성물의 백분율이 더 크다. 최적의 비 (과량의 미반응 폴리펩티드 또는 중합체가 없는 반응 효율면에서는) 원하는 유도체화 정도 (예를 들어, 모노-, 디-, 트리- 등), 선택된 중합체의 분자량, 중합체가 분지되었는지 또는 분지되지 않았는지 여부, 및 사용된 반응 조건과 같은 인자에 의해 결정될 수 있다. 중합체 (예를 들어, PEG) 대 폴리펩티드의 비는 일반적으로 1:1 내지 100:1의 범위일 것이다. 투석, 염석, 초미세여과, 이온-교환 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피 및 전기영동을 특히 포함하는 표준 정제 기술에 의해 각각의 혼합물로부터 하나 이상의 정제된 접합체가 제조될 수 있다.

[0153] N-말단이 화학적으로 변형된 FGFR1 ECD를 구체적으로 원할 수 있다. 분자량, 분지 등, 반응 혼합물 내의 중합체 대 FGFR1 ECD 분자의 비율, 수행될 반응의 유형, 및 선택된 N-말단이 화학적으로 변형된 FGFR1 ECD를 수득하는 방법에 의해 중합체를 선택할 수 있다. N-말단이 화학적으로 변형된 FGFR1 ECD 체제를 수득하는 방법 (필요하다면 이러한 모이어티를 다른 모노-유도체화 모이어티로부터 분리함)은 화학적으로 변형된 단백질 분자들의 집단으로부터의 N-말단이 화학적으로 변형된 FGFR1 ECD 물질의 정제에 의한 것일 수 있다.

[0154] 특정 단백질 내의 유도체화에 이용가능한 상이한 유형의 1차 아미노기 (리신 대 N-말단)의 차별적인 반응성을 이용하는 환원적 알킬화에 의해 선택적인 N-말단 화학적 변형이 달성될 수 있다. 적합한 반응 조건 하에, 카르보닐기-함유 중합체로의 N-말단에서의 단백질의 실질적으로 선택적인 유도체화가 달성된다. 예를 들어, 리신 잔기의 ϵ -아미노기와 단백질의 N-말단 잔기의 α -아미노기 사이의 pKa 차이를 이용하도록 허용하는 pH에서 반

응을 수행함으로써 중합체를 단백질의 N 말단에 선택적으로 부착시킬 수 있다. 이러한 선택적 유도체화에 의해, 단백질에 대한 중합체의 부착이 제어된다; 중합체와의 접합이 단백질의 N 말단에서 우세하게 일어나고, 다른 반응성 기, 예컨대 리신 측쇄 아미노기의 유의한 변형이 발생하지 않는다. 환원적 알킬화를 사용할 때, 중합체는 상기 기재된 유형의 것일 수 있고, 단백질에 대한 커플링을 위한 단일 반응성 알데히드가 있어야 한다. 단일 반응성 알데히드를 함유하는 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드가 또한 사용될 수 있다.

[0155] 한 실시양태에서, 본 발명은 모노- 또는 폴리- (예를 들어, 2-4개) PEG 모이어티를 포함하는 화학적으로 유도체화된 FGFR1 ECD를 구상한다. 이용가능한 PEG 반응 중 임의의 것에 의해 PEG화가 수행될 수 있다. PEG 단백질 생성물을 제조하는 방법은 일반적으로 (a) 단백질이 하나 이상의 PEG 기에 부착되는 조건 하에 폴리펩티드를 폴리에틸렌 글리콜 (예컨대 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체)과 반응시키는 단계; 및 (b) 반응 생성물(들)을 수득하는 단계를 포함할 것이다. 일반적으로, 최적의 반응 조건은 공지된 파라미터 및 원하는 결과를 기초로 경우에 따라 결정될 것이다.

[0156] 다수의 PEG 부착 방법이 관련 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, EP 0 401 384; 문헌 [Malik et al., Exp. Hematol., 20:1028-1035 (1992)]; [Francis, Focus on Growth Factors, 3(2):4-10 (1992)]; EP 0 154 316; EP 0 401 384; WO 92/16221; WO 95/34326; 및 PEG화와 관련된 본원에서 언급된 기타 간행물을 참조한다.

[0157] 예를 들어, 반응성 폴리에틸렌 글리콜 분자와의 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 통해 PEG화가 수행될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 단백질 생성물은 PEG 기(들)가 아실 또는 알킬 기를 통해 부착된 PEG화 단백질을 포함한다. 이러한 생성물은 모노-PEG화 또는 폴리-PEG화 (예를 들어, 2-6개 또는 2-5개의 PEG 기를 함유하는 것)될 수 있다. 일반적으로 PEG 기는 아미노산의 α - 또는 ϵ -아미노기에서 단백질에 부착되지만, 적절한 반응 조건 하에 PEG 기에 부착되기에 충분히 반응성인 단백질에 부착된 임의의 아미노기에 PEG 기가 부착될 수 있는 것이 또한 구상된다.

[0158] 아실화에 의한 PEG화는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)의 유도체의 활성 에스테르 유도체를 FGFR1 ECD와 반응시키는 것을 일반적으로 수반한다. 아실화 반응을 위해, 선택된 중합체(들)는 전형적으로 단일 반응성 에스테르 기가 있다. 임의의 공지된 또는 이후에 발견된 반응성 PEG 분자가 PEG화 반응을 수행하는데 사용될 수 있다. 적절한 활성화된 PEG 에스테르의 예는 N-히드록시수소이미드 (NHS)로 에스테르화된 PEG이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 아실화는 치료적 단백질과 중합체 예컨대 PEG 사이의 하기 유형의 결합을 비제한적으로 포함하는 것으로 구상된다: 아마이드, 카르바메이트, 우레탄 등 (예를 들어, 문헌 [Chamow, Bioconjugate Chem., 5:133-140 (1994)] 참조). 반응 조건은 현재 사용되는 것들 또는 이후에 개발되는 것들 중 임의의 것으로부터 선택될 수 있지만, 변형된 폴리펩티드를 불활성화시킬 조건 예컨대 온도, 용매 및 pH를 피해야 한다.

[0159] 아실화에 의한 PEG화는 일반적으로 폴리-PEG화 단백질을 초래할 것이다. 연결 결합은 아마이드일 수 있다. 생성물은 실질적으로 (예를 들어, > 95%) 모노-, 디-, 또는 트리-PEG화뿐일 수 있다. 그러나, 사용된 특정 반응 조건에 의존적인 양으로 PEG화 정도가 더 높은 일부 종이 형성될 수 있다. 원한다면, 투석, 염석, 초미세여과, 이온-교환 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피 및 전기영동을 특히 포함하는 표준 정제 기술에 의해 더욱 정제된 PEG화 종이 혼합물 (특히 미반응 종)로부터 분리될 수 있다.

[0160] 알킬화에 의한 PEG화는 환원제의 존재 하에 PEG의 말단 알데히드 유도체를 폴리펩티드와 반응시키는 것을 일반적으로 수반한다. 환원적 알킬화 반응을 위해, 선택된 중합체(들)는 단일 반응성 알데히드 기가 있어야 한다. 예시적인 반응성 PEG 알데히드는 수-안정성인 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드, 또는 이의 모노 C₁-C₁₀ 알콕시 또는 아릴옥시 유도체이다 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,252,714 참조).

[0161] 마커

[0162] 또한, 본 발명의 FGFR1 ECD가 마커 서열, 예컨대 융합된 폴리펩티드의 정제를 용이하게 하는 펩티드에 융합될 수 있다. 마커 아미노산 서열은 특히 pQE 벡터 (퀴아젠(Qiagen), 캐나다 온타리오주 미시소거)에서 제공되는 태그와 같은 헥사-히스티딘 펩티드일 수 있고, 다수의 이러한 것이 시판된다. 문헌 [Gentz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 86:821-824 (1989)]에 기재된 바와 같이, 예를 들어, 헥사-히스티딘은 융합 단백질의 편리한 정제를 제공한다. 정제에 유용한 또 다른 펩티드 태그인 헤마글루티닌 (HA) 태그는 인플루엔자 HA 단백질로부터 유래된 에피토프에 상응한다. (Wilson et al., Cell 37:767 (1984)). 이러한 상기 융합체 중 임의의 것이 본원에 기재된 FGFR1 ECD를 사용하여 조작될 수 있다.

[0163] 올리고머화 도메인 융합 파트너

[0164] 다양한 실시양태에서, 올리고머화는 다가성, 증가된 결합 강도, 및 상이한 도메인들의 조합된 기능을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 일부 기능성 장점을 융합 단백질에 제공한다. 따라서, 일부 실시양태에서, 융합 파트너는 올리고머화 도메인, 예를 들어, 이량체화 도메인을 포함한다. 예시적인 올리고머화 도메인은 알파-나선형 코일드-코일(coiled-coil) 도메인을 포함하는 코일드-코일 도메인; 콜라겐 도메인; 콜라겐-유사 도메인; 및 특정 면역글로불린 도메인을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 코일드-코일 폴리펩티드 융합 파트너는 테트라넥틴 코일드-코일 도메인; 연골 올리고머 매트릭스 단백질의 코일드-코일 도메인; 안지오펙티에틴 코일드-코일 도메인; 및 류신 지퍼 도메인을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 콜라겐 또는 콜라겐-유사 올리고머화 도메인은 콜라겐, 만노스 결합 렉틴, 폐 계면활성제 단백질 A 및 D, 아디포넥틴, 피쿨린, 코글루티닌, 대식세포 스캐빈저 수용체, 및 에밀린에서 발견되는 것들을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0165] 항체 Fc 면역글로불린 도메인 융합 파트너

[0166] 융합 파트너로서 사용될 수 있는 다수의 Fc 도메인이 관련 분야에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 융합 파트너는 Fc 면역글로불린 도메인이다. Fc 융합 파트너는 천연 발생 항체에서 발견되는 야생형 Fc, 이의 변이체 또는 이의 단편일 수 있다. 비제한적인 예시적인 Fc 융합 파트너는 인간 IgG, 예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 힌지 및 CH2 및 CH3 불변 도메인을 포함하는 Fc를 포함한다. 추가의 예시적인 Fc 융합 파트너는 인간 IgA 및 IgM을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, Fc 융합 파트너는, 예를 들어, IgG1 내에, C237S 돌연변이를 포함한다 (예를 들어, 서열 8 참조). 일부 실시양태에서, Fc 융합 파트너는 미국 특허 번호 6,900,292에 기재된 바와 같은, P331S 돌연변이가 있는 인간 IgG2의 힌지, CH2, 및 CH3 도메인을 포함한다. 특정한 예시적인 Fc 도메인 융합 파트너가 서열 8 내지 10에서 제시된다.

[0167] 알부민 융합 파트너 및 알부민-결합 분자 융합 파트너

[0168] 일부 실시양태에서, 융합 파트너는 알부민이다. 예시적인 알부민은 인간 혈청 알부민 (HSA) 및 HSA의 단편을 포함하지만, 이에 제한되지는 않고, 이는 자신이 융합되는 폴리펩티드의 혈청 반감기 또는 생체이용률을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 융합 파트너는 알부민-결합 분자, 예를 들어, 알부민에 결합하는 펩티드, 또는 알부민에 결합하는 지질 또는 기타 분자와 결합된 분자이다. 일부 실시양태에서, 예를 들어, 미국 특허 번호 6,686,179에 기재된 바와 같이, HSA를 포함하는 융합 분자가 제조된다.

[0169] **융합 파트너의 예시적인 부착**

[0170] 공유결합으로 또는 비-공유결합으로 융합 파트너가 FGFR1 ECD의 N 말단 또는 C 말단에 부착될 수 있다. 예를 들어, 아미노산 측쇄 (예를 들어, 시스테인, 리신, 세린 또는 트레오닌의 측쇄)를 통해, N 말단 또는 C 말단 이외의 FGFR1 ECD 내의 장소에서 부착이 일어날 수도 있다.

[0171] 공유결합 또는 비-공유결합 부착 실시양태에서, 융합 파트너와 FGFR1 ECD 사이에 링커가 포함될 수 있다. 이러한 링커는 하나 이상의 아미노산 또는 화학적 모이어티로 구성될 수 있다. 융합 파트너를 FGFR1 ECD에 공유결합으로 부착시키는 예시적인 방법은 융합 파트너 및 FGFR1 ECD가 단일 아미노산 서열로서 번역되는 것 및 FGFR1 ECD에 대한 융합 파트너의 화학적 부착을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 융합 파트너 및 FGFR1 ECD가 단일 아미노산 서열로서 번역되는 경우, 추가의 아미노산이 링커로서 융합 파트너와 FGFR1 ECD 사이에 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단일 발현 구축물 내로 융합 파트너 및/또는 FGFR1 ECD를 클로닝하는 것을 용이하게 하도록, 링커가 이를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 기초로 선택된다 (예를 들어, 특정 제한 부위를 함유하는 폴리뉴클레오티드가 융합 파트너를 코딩하는 폴리뉴클레오티드와 FGFR1 ECD를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 사이에 놓일 수 있고, 이때 제한 부위를 함유하는 폴리뉴클레오티드가 짧은 아미노산 링커 서열을 코딩한다). 융합 파트너 및 FGFR1 ECD가 화학적 수단에 의해 공유결합으로 커플링되는 경우, 커플링 반응 동안에 다양한 크기의 링커가 전형적으로 포함될 수 있다.

[0172] 융합 파트너를 FGFR1 ECD에 비-공유결합으로 부착시키는 예시적인 방법은, 결합 쌍을 통한 부착을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 결합 쌍은 비오틴 및 아비딘 또는 스트렙타비딘, 항체 및 이의 항원 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0173] **번역과 동시의 변형 및 번역후 변형**

[0174] 본 발명은, 예를 들어 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 공지된 보호/차단 기에 의한 유도체화, 단백질 분해성 절단, 또는 항체 분자 또는 기타 세포 리간드에 대한 결합에 의해, 번역 동안에 또는 번역 후에 차별적으로 변형된 FGFR1 ECD 및 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여를 포함한다. 시아노젠 브로마이드, 트립신,

키모트립신, 파파인, V8 프로테아제에 의한 특이적 화학적 절단; NABH_4 ; 아세틸화; 포르밀화; 산화; 환원; 및/또는 튜니카마이신의 존재 하에서의 대사적 합성을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 공지된 기술에 의해 수많은 화학적 변형 중 임의의 것이 수행될 수 있다.

[0175] 본 발명에 포함되는 추가의 번역후 변형은, 예를 들어, N-연결 또는 O-연결 탄수화물 쇄, N-말단 또는 C-말단 끝부분의 프로세싱, 아미노산 골격으로의 화학적 모이어티의 부착, N-연결 또는 O-연결 탄수화물 쇄의 화학적 변형, 및 원핵생물 숙주 세포 발현의 결과로서의 N-말단 메티오닌 잔기의 부가 또는 결실을 포함한다. FGFR1 ECD 및 FGFR1 ECD 융합 분자의 다양한 번역후 변형의 비제한적인 논의를, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,678,890에서 확인할 수 있다.

[0176] **FGFR1 ECD 및 FGFR1 ECD 융합 분자 발현 및 생산 벡터**

[0177] FGFR1 ECD를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터가 제공된다. FGFR1 ECD 융합 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터가 또한 제공된다. 이러한 벡터는 DNA 벡터, 파지 벡터, 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0178] 일부 실시양태에서, CHO 또는 CHO-유래 세포에서의 폴리펩티드의 발현에 최적화된 벡터가 선택된다. 예시적인 이러한 벡터가, 예를 들어, 문헌 [Running Deer et al., Biotechnol. Prog. 20:880-889 (2004)]에 기술되어 있다.

[0179] 일부 실시양태에서, 인간을 포함하는 동물에서의 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 생체내 발현을 위해 벡터가 선택된다. 일부 이러한 실시양태에서, 폴리펩티드의 발현이 조직-특이적 방식으로 기능하는 프로모터의 제어 하에 놓인다. 예를 들어, 간-특이적 프로모터가, 예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2006/076288에 기술되어 있다. 다양한 발현 벡터의 비제한적인 논의를, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,678,890에서 확인할 수 있다.

[0180] **숙주 세포**

[0181] 다양한 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자가 원핵생물 세포, 예컨대 박테리아 세포; 또는 진핵생물 세포, 예컨대 진균 세포, 식물 세포, 곤충 세포, 및 포유동물 세포에서 발현될 수 있다. 예를 들어, 관련 분야에 공지된 절차에 따라 이러한 발현이 수행될 수 있다. 폴리펩티드를 발현시키는데 사용될 수 있는 예시적인 진핵생물 세포는 COS 세포 (COS 7 세포 포함); 293 세포 (293-6E 세포 포함); CHO 세포 (CHO-S 및 DG44 세포 포함); 및 NSO 세포를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 특정한 원하는 번역후 변형을 일으키는 능력을 기초로 특정한 진핵생물 숙주 세포가 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, CHO 세포는 293 세포에서 생산된 동일한 폴리펩티드보다 시알릴화 수준이 더 높은 FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 생산한다.

[0182] 인산칼슘 형질감염, DEAE-덱스트란 매개 형질감염, 양이온성 지질-매개 형질감염, 전기천공, 형질도입, 감염 등을 포함하지만 이에 제한되지는 않는, 관련 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 원하는 숙주 세포 내로의 핵산의 도입이 달성될 수 있다. 비제한적인 예시적인 방법이, 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)]에 기술되어 있다. 관련 분야에 공지된 방법에 따라 원하는 숙주 세포 내에 핵산이 일시적으로 또는 안정적으로 형질감염될 수 있다. 숙주 세포 및 숙주 세포에서 폴리펩티드를 제조하는 방법의 비제한적인 논의를, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,678,890에서 확인할 수 있다.

[0183] 일부 실시양태에서, 관련 분야에 공지된 방법에 따라, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 분자로 조작된 또는 이러한 핵산 분자가 형질도입된 동물에서 생체내에서 폴리펩티드가 생산될 수 있다.

[0184] **FGFR1 ECD 폴리펩티드의 정제**

[0185] FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 관련 분야에 공지된 다양한 방법으로 정제할 수 있다. 이러한 방법은 친화력 매트릭스 또는 소수성 상호작용 크로마토그래피를 사용하는 것을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 적절한 친화력 리간드는 FGFR1 ECD 또는 융합 파트너의 임의의 리간드를 포함한다. FGFR1에 결합하는 항체의 경우의 적절한 친화력 리간드는 FGFR1 자체 및 이의 단편을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 추가로, 단백질 A, 단백질 G, 단백질 A/G, 또는 항체 친화력 칼럼이 Fc 융합 파트너에 결합하여 FGFR1 ECD 융합 분자를 정제하는데 사용될 수 있다. FGFR1 ECD에 대한 항체가 또한 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자를 정제하는데 사용될 수 있다. 소수성 상호작용 크로마토그래피, 예를 들어, 부틸 또는 페닐 칼럼 또한 일부 폴리펩티드를 정제하는데 적절할 수 있다. 다수의 폴리펩티드 정제 방법이 관련 분야에 공지되어 있다. 다양한 폴리펩티드 정

제 방법의 비제한적인 논의를, 예를 들어, 미국 특허 번호 7,678,890에서 확인할 수 있다.

[0186] **FGFR1 ECD 및/또는 FGFR1 ECD 융합 분자가 이로울 환자를 확인하는 방법**

[0187] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여가 이로울 수 있는 암에 걸린 환자를 확인하는 방법이 제공된다. 일부 이러한 실시양태에서, 이러한 방법은 대상체로부터 획득된 샘플에서 암 세포의 적어도 일부분이 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭을 포함하는지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭은 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 암에 의한 치료 반응성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 암에 걸린 또는 암에 걸린 것으로 추정되는 환자로부터 샘플이 취해진다. 암 세포의 적어도 일부분에서의 *FGFR1* 유전자 증폭, FGFR1 과다발현, *FGFR3* 유전자 증폭, FGFR3 과다발현, FGF2 과다발현, 및/또는 *FGF2* 유전자 증폭의 확인은 암에 걸린 또는 암에 걸린 것으로 추정되는 환자에게 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법이 이로울 수 있다는 것을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 환자는 폐암에 걸렸거나 또는 폐암에 걸린 것으로 추정된다.

[0188] 일부 실시양태에서, 이러한 방법은 대상체로부터 획득된 샘플에서 암 세포의 적어도 일부분이 FGFR1, FGFR3 (예컨대 FGFR3IIIc), FGF2, DKK3, FGF18, 및 ETV4로부터 선택된 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상 또는 4개 이상의 마커의 과다발현을 포함하는지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 과다발현은 mRNA 과다발현이다. 일부 실시양태에서, 과다발현은 단백질 과다발현이다. 일부 실시양태에서, FGFR1, FGFR3 (예컨대 FGFR3IIIc), FGF2, DKK3, FGF18, 및/또는 ETV4 과다발현은 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자에 대한 암에 의한 치료 반응성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 암에 걸린 또는 암에 걸린 것으로 추정되는 환자로부터 샘플이 취해진다. 암 세포의 적어도 일부분에서의 FGFR1, FGFR3 (예컨대 FGFR3IIIc), FGF2, DKK3, FGF18, 및/또는 ETV4 과다발현의 확인은 암에 걸린 또는 암에 걸린 것으로 추정되는 환자에게 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법이 이로울 수 있다는 것을 나타낸다. 일부 실시양태에서, FGFR1은 FGFR1IIIc이다. 일부 실시양태에서, FGFR3은 FGFR3IIIc이다. 일부 실시양태에서, 환자는 유방암, 난소암, 전립선암, 및 카르시노이드 암으로부터 선택된 암에 걸렸거나 또는 이러한 암에 걸린 것으로 추정된다.

[0189] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여가 이로울 수 있는 암에 걸린 유방암 환자를 확인하는 방법은 유방암이 에스트로겐 수용체 (ER) 양성, 프로게스테론 (PR) 양성, 또는 ER 양성 및 PR 양성인지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여가 이로울 수 있는 암에 걸린 유방암 환자를 확인하는 방법은 유방암이 HER2 양성 또는 HER2 음성인지 여부를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 방법은 암이 p95HER2 양성인지 여부를 결정하는 것을 포함한다.

[0190] 일부 실시양태에서, FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자의 투여가 이로울 수 있는 암에 걸린 난소암 환자를 확인하는 방법은 난소암이 에스트로겐 수용체 (ER) 양성, 프로게스테론 (PR) 양성, 또는 ER 양성 및 PR 양성인지 여부를 결정하는 것을 포함한다.

[0191] 일부 실시양태에서, 유전자 증폭 및/또는 발현이 실험실에 의해 결정된다. 실험실은 병원 실험실 또는 병원과 독립적인 실험실일 수 있다. 일부 실시양태에서, 유전자 증폭 및/또는 발현의 결정 후, 결정 결과가 의료진에게 전달된다. 일부 이러한 실시양태에서, 환자에게 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법이 이로울지 또는 환자가 FGFR1 ECD 또는 FGFR1 ECD 융합 분자 요법에 대해 반응할지 여부를 결정하기 위한 목적으로 결과가 전달된다. 일부 실시양태에서, 의료진은 의사, 간호사, 병원 관리자 및 직원 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0192] 유전자 증폭을 결정하는 임의의 적절한 방법이 본원에 기재된 방법에서 사용될 수 있다. 비제한적인 예시적인 이러한 방법은 형광 계내 혼성화 (FISH; 예를 들어, 문헌 [Monni et al. (2001) PNAS 98: 5711-5716] 참조), 어레이 비교 게놈 혼성화 (aCGH), DNA 마이크로어레이 (예를 들어, 문헌 [Carter et al. (2007) Nat. Genet. 39: S16-21] 참조), 스펙트럼 핵형분석 (SKY; 예를 들어 문헌 [Liyanage et al. (1996) Nat. Genet. 14: 312-5] 참조), 실시간 정량적 PCR (예를 들어, 문헌 [Dhaene et al. (2010) Methods 50: 262-270]) 참조, 서던 블롯팅, 및 서열분석 (고처리량 서열분석 (HTS; 예를 들어 문헌 [Medvedev et al. (2010) Genome Res. 20: 1613-22] 참조), 및 차세대 서열분석 기술 예컨대 RNA-seq ("전체 전사체 샷건 서열분석(Whole Transcriptome Shotgun Sequencing)" ("WTSS"))으로 또한 지칭됨), 어플라이드 바이오시스템즈 솔리드(Applied Biosystems SOLiD)TM 시스템, 일루미나(Illumina) (솔렉사(Solexa)) 서열분석, 이온 반도체 서열분석, DNA 나노볼 서열분석, 헬리오스코프(Helioscope)(TM) 단일 분자 서열분석, 단일 분자(Single Molecule) SMRT(TM) 서열분석, 단일 분자 실시간 (RNAP) 서열분석, 나노포어(Nanopore) DNA 서열분석, 비지젠 바이오테크놀로지

(VisiGen Biotechnologies) 접근법, 및 454 파이로시퀀싱(pyrosequencing)을 포함하지만 이에 제한되지는 않음)을 포함한다.

[0193]

형광 계내 혼성화 (FISH)는 염색체 상의 특정 DNA 서열의 존재 또는 부재를 검출 및 국소화하기 위한 세포유전학 기술이다. 일부 실시양태에서, FISH는 형광 프로브를 사용하여 서열-특이적 방식으로 염색체 상의 특정 영역을 검출한다. 따라서, 일부 실시양태에서, FISH를 사용하여 암에서 유전자 증폭을 검출하기 위해, 일부 실시양태에서, 비제한적으로 *FGFR1* 유전자, *FGFR3* 유전자, *FGF2* 유전자, 또는 *HER2* 유전자와 같은 관심 유전자에 특이적으로 결합하는 형광 프로브가 개발된다. 일부 이러한 실시양태에서, 이러한 유전자 특이적 프로브가 암 샘플에 혼성화되고, 형광 현미경을 사용하여 세포 당 존재하는 형광 신호의 수를 카운팅함으로써 카피수가 결정된다. 정상적인 이배체 세포의 경우, 대부분의 유전자는 카피수가 2일 것이다 (유전자가 보통염색체 이외의 성염색체 중 하나에 존재하거나 또는 세포가 분열 중이고 게놈이 복제되는 경우는 예외이다). 특정 경우에, 2를 초과하는 신호가 세포에서 검출되면, 유전자가 증폭될 수 있다.

[0194]

이중 색상 FISH가 암에서의 유전자 증폭을 평가하는데 또한 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 관심 유전자가 위치하는 염색체의 동원체 영역에 결합하는 참조 프로브가 대조군으로서 사용될 수 있다. 일부 경우에, 염색체의 동원체 (CEN) 영역은 유전체학적으로 안정한 것으로 간주되고, 따라서 전체 염색체를 대표하는 것으로 가정된다. 따라서, 일부 실시양태에서, CEN 카피수가 초점성 유전자 증폭을 염색체의 못염색체 (염색체 동원체의 ≥ 3 개 카피)로부터 초래된 유전자 카피수 증가로부터 구별하는 것을 보조할 수 있다. 일부 실시양태에서, 관심 유전자 프로브로부터의 신호 / 동원체 프로브로부터의 신호의 비를 계산함으로써, 유전자 증폭이 못염색체로부터 구별될 수 있다. 관심 유전자가 1개의 상염색체 상에 위치하는 정상적인 이배체 세포의 경우, 이러한 비는 전형적으로 1이다. 일부 실시양태에서, >1 의 비는 유전자 증폭을 지시한다. 일부 실시양태에서, 염색체 참조 유전자에 대한 프로브가 동원체 프로브 대신에 또는 이에 더하여 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Tse et al. (2011) J. Clin. Oncol. 29: 4168-74] 참조). 일부 실시양태에서, 선택된 참조 유전자는 8번 염색체 또는 4번 염색체이다. 일부 실시양태에서, 참조 유전자는 8번 염색체 또는 4번 염색체의 동원체에 인접하여 위치한다. 일부 실시양태에서, 참조 서열은 8번 염색체 또는 4번 염색체 상의 비-코딩 DNA를 포함한다.

[0195]

일부 실시양태에서, FISH는 증폭된 유전자를 갖는 세포의 분율, 다양한 세포 하위집단 내에서의 증폭 수준, 및 세포 내에서의 증폭 패턴 (예를 들어, 군집된 신호 대 다중 산재 신호)를 포함하지만 이에 제한되지는 않는, 유전자 증폭의 다중 파라미터의 결정을 허용한다. 일부 실시양태에서, 각각의 암 세포에 대한 관심 유전자 대 동원체 참조물의 카피수의 비가 결정된다. 일부 이러한 실시양태에서, 그 후, 특정 샘플 또는 샘플 내의 세포의 부분집합에 대한 평균 비가 계산된다. 2를 초과하는 평균 비는 일반적으로 유전자 증폭을 가리키는 것으로 간주되는 반면, 1.5 내지 2의 신호는 낮은 수준의 증폭을 가리킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 관심 유전자의 카피수가 참조 대조 프로브보다 큰 세포는 증폭된 것으로 간주된다 (예를 들어, 문헌 [Kobayashi et al. (2002) Hum. Pathol. 33: 21-8]; 및 [Kunitomo et al. (2002) Pathol. Int. 52: 451-7] 참조). 일부 실시양태에서, 단일-색상 FISH가 염색체 참조 프로브 대조군 없이 관심 유전자의 카피수를 결정하는데 사용된다. 일부 이러한 실시양태에서, 핵 당 유전자의 4개 이상의 카피가 유전자 증폭인 것으로 간주된다 (예를 들어, 문헌 [Couturier et al. (2000) Mod. Pathol. 13: 1238-43]; [Jacobs et al. (1999) J. Clin. Oncol. 17: 1974-82]; [Wang et al. (2000) J. Clin. Pathol. 53: 374-81] 참조).

[0196]

단백질 발현 (예를 들어, *FGFR1* (FGFR1IIIc 포함), *FGFR3* (FGFR3IIIc 포함), *FGF2*, *DKK3*, *FGF18*, *ETV4*, *ER*, *PR*, 및/또는 *HER2* 발현)을 결정하는 임의의 적절한 방법이 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 면역조직화학 ("IHC") 및 염색 프로토콜을 사용하여 샘플 내의 단백질의 발현을 검사한다. 조직 절편의 면역조직화학적 염색이 샘플 내의 단백질의 존재를 평가 또는 검출하는 신뢰할 수 있는 방법인 것으로 나타났다. 면역조직화학 기술은, 일반적으로 발색 또는 형광 방법에 의해, 계내에서 세포 항원에 프로빙되어 이를 가시화하는 항체를 사용한다. 단백질 발현을 결정하는 비제한적인 예시적인 방법은 텍스트란-코팅 차플 (DCC) 또는 리간드-결합 검정 (LBA), 효소 면역검정 (EIA), 효소-결합 면역흡착 검정 (ELISA), 및 유동 세포측정법을 또한 포함한다.

[0197]

통상적인 방법에 의해 조직 샘플이 고정될 수 있다 (즉, 보존될 수 있다) (예를 들어, 문헌 ["Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology," 3rd edition (1960) Lee G. Luna, HT (ASCP) Editor, The Blakston Division McGraw-Hill Book Company, New York]; [The Armed Forces Institute of Pathology Advanced Laboratory Methods in Histology and Pathology (1994) Ulreka V. Mikel, Editor, Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology, Washington, D.C.] 참조). 관련 분야의 기술자는 고정제의 선택이 샘플이 조직학적으로 염색되거나 또는 다른 방식으로 분석되는 목적에

의해 결정된다는 것을 이해할 것이다. 관련 분야의 기술자는 고정 기간이 조직 샘플의 크기 및 사용된 고정제에 좌우된다는 것을 또한 이해할 것이다. 예를 들어, 중성 완충 포르말린, 보우인(Bouin) 또는 파라포르말데히드가 샘플을 고정시키는데 사용될 수 있다.

[0198] 일반적으로, 먼저 샘플이 고정된 후, 상승되는 농도의 일련의 알콜을 통해 탈수되고, 조직 샘플이 절편화될 수 있도록 파라핀 또는 기타 절편화 매질로 침윤되고 이에 포매된다. 대안적으로, 조직을 절편화하고, 수득된 절편을 고정시킬 수 있다. 예를 들어, 통상적인 방법으로 조직 샘플을 파라핀에 포매하여 프로세싱할 수 있다 (예를 들어, 상기 문헌 ["Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology"] 참조). 사용될 수 있는 파라핀의 예는 파라플라스트(Paraplast), 브롤로이드(Brolloid), 및 티슈메이(Tissuemay)를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 조직 샘플이 포매되었으면, 마이크로톰 등으로 샘플을 절편화할 수 있다 (예를 들어, 상기 문헌 ["Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology"] 참조). 이러한 목적을 위한 예로서, 절편은 두께가 약 3 마이크로미터 내지 약 5 마이크로미터 범위일 수 있다. 절편화되었으면, 절편을 여러 표준 방법에 의해 슬라이드에 부착시킬 수 있다. 슬라이드 접착제의 예는 실란, 젤라틴, 폴리-L-리신 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 파라핀에 포매된 절편이 양성으로 하전된 슬라이드 및/또는 폴리-L-리신이 코팅된 슬라이드에 부착될 수 있다.

[0199] 파라핀이 포매 물질로 사용되었으면, 일반적으로 조직 절편에서 파라핀이 제거되고, 절편이 물에 재수화된다. 여러 통상적인 표준 방법에 의해 조직 절편에서 파라핀을 제거할 수 있다. 예를 들어, 크실렌 및 점진적으로 감소되는 농도의 일련의 알콜이 사용될 수 있다 (예를 들어, 상기 문헌 ["Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology"] 참조). 대안적으로, 시판되는 파라핀 제거 비-유기 작용제 예컨대 Hemo-De7 (CMS, 텍사스주 휴스턴)이 사용될 수 있다.

[0200] 일부 실시양태에서, 샘플 제조 이후에, IHC를 사용하여 조직 절편이 분석될 수 있다. 추가의 기술 예컨대 형태학적 염색 및/또는 형광 계내 혼성화와 조합되어 IHC가 수행될 수 있다. 2가지 일반적인 IHC 방법이 이용가능하다; 직접적 및 간접적 검정. 제1 검정에 따르면, 표적 항원에 대한 항체의 결합이 직접적으로 결정된다. 이러한 직접적 검정은 표지된 시약, 예컨대 형광 태그 또는 효소-표지 1차 항체를 사용하고, 이는 추가의 항체 상호작용없이 가시화될 수 있다. 전형적인 간접적 검정에서는, 미접합 1차 항체가 항원에 결합한 후, 표지된 2차 항체가 1차 항체에 결합한다. 2차 항체가 효소 표지에 접합된 경우, 발색 또는 형광 기질이 첨가되어 항원 가시화를 제공한다. 여러 2차 항체가 1차 항체 상의 상이한 에피토프와 반응할 수 있기 때문에 신호 증폭이 발생한다.

[0201] 면역조직화학에 사용되는 1차 및/또는 2차 항체는 검출가능한 모이어티로 전형적으로 표지될 것이다. 하기의 카테고리로 일반적으로 분류될 수 있는 다수의 표지가 이용가능하다: (a) 방사성동위원소, 예컨대 ³⁵S, ¹⁴C, ¹²⁵I, ³H, 및 ¹³¹I. 예를 들어 문헌 [Current Protocols in Immunology, Volumes 1 and 2, Coligen et al., Ed. Wiley-Interscience, New York, N.Y., Pubs. (1991)]에 기재된 기술을 사용하여 항체를 방사성동위원소로 표지할 수 있고, 섬광 카운팅을 사용하여 방사능을 측정할 수 있다. (b) 콜로이드성 금 입자. (c) 회도류 킬레이트 (유로퓸 킬레이트), 텍사스 레드(Texas Red), 로다민, 플루오레세인, 단실, 리사민(Lissamine), 움벨리페론, 피코트리테린, 피코시아닌, 또는 시판되는 형광단 예컨대 스펙트럼 오렌지7(SPECTRUM ORANGE7) 및 스펙트럼 그린7(SPECTRUM GREEN7) 및/또는 상기의 것들 중 임의의 하나 이상의 유도체를 포함하지만 이에 제한되지는 않는 형광 표지. 예를 들어 상기 문헌 [Current Protocols in Immunology]에 개시된 기술을 사용하여 항체에 형광 표지가 접합될 수 있다. 형광계를 사용하여 형광을 정량할 수 있다. (d) 다양한 효소-기질 표지가 이용가능하고, 미국 특허 번호 4,275,149가 이들 중 일부의 리뷰를 제공한다. 일반적으로 효소는 발색 기질의 화학적 변형을 촉매하고, 다양한 기술을 사용하여 이를 측정할 수 있다. 예를 들어, 효소가 기질에서의 색 변화를 촉매할 수 있고, 이를 분광학적으로 측정할 수 있다. 대안적으로, 효소가 기질의 형광 또는 화학발광을 변경시킬 수 있다. 형광 변화를 정량하는 기술이 상기에서 기재된다. 화학발광 기질이 화학 반응에 의해 전자적으로 여기된 후, (예를 들어, 화학발광계를 사용하여) 측정될 수 있는 빛을 방출하거나 또는 형광 수용자에 에너지를 제공할 수 있다. 효소 표지의 예는 루시페라제 (예를 들어, 반딧불이 루시페라제 및 박테리아 루시페라제; 미국 특허 번호 4,737,456), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 말레이트 데히드로게나제, 우레아제, 퍼옥시다제 예컨대 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRPO), 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제, 글루코아밀라제, 라이소자임, 당류 옥시다제 (예를 들어, 글루코스 옥시다제, 갈락토스 옥시다제, 및 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나제), 헤테로시클릭 옥시다제 (예컨대 우리카제 및 크산틴 옥시다제), 락토퍼옥시다제, 마이크로퍼옥시다제 등을 포함한다. 효소를 항체에 접합시키는 방법이 문헌 [O'Sullivan et al., Methods for the Preparation of

Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, Methods in Enzym. (ed. J. Langone & H. Van Vunakis), Academic press, New York, 73:147-166 (1981)]에 기술되어 있다.

[0202] 효소-기질 조합의 예는, 예를 들어, 하기를 포함한다: (i) 양고추냉이 퍼옥시다제 (HRPO) + 기질로서의 수소 퍼옥시다제 (수소 퍼옥시다제가 염료 전구체 (예를 들어, 오르토펜렌 디아민 (OPD) 또는 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 히드로클로라이드 (TMB))를 산화시킴); (ii) 알칼리성 포스파타제 (AP) + 발색 기질로서의 파라-니트로페닐 포스페이트; 및 (iii) 베타-D-갈락토시다제 (베타-D-Gal) + 발색 기질 (예를 들어, p-니트로페닐-베타-D-갈락토시다제) 또는 형광발생 기질 (예를 들어, 4-메틸움벨리페릴-베타-D-갈락토시다제).

[0203] 다수의 기타 효소-기질 조합이 관련 분야의 기술자에게 이용가능하다. 이들의 일반적인 리뷰를 위해, 미국 특허 번호 4,275,149 및 4,318,980을 참조한다. 때때로, 표지가 항체와 간접적으로 접합된다. 숙련된 기술자는 이를 달성하기 위한 다양한 기술을 알 것이다. 예를 들어, 항체가 비오틴과 접합될 수 있고, 상기 언급된 4가지 광범위한 표지 카테고리 중 임의의 것이 아비딘과 접합될 수 있거나, 또는 반대의 경우도 가능하다. 비오틴은 아비딘에 선택적으로 결합하고, 따라서 이러한 간접적인 방식으로 표지가 항체와 접합될 수 있다. 대안적으로, 표지와 항체의 간접적인 접합을 달성하기 위해, 항체가 소형 합텐과 접합되고, 상기 언급된 여러 표지 유형 중 하나가 항-합텐 항체와 접합된다. 따라서, 표지와 항체의 간접적인 접합이 달성될 수 있다.

[0204] 상기 논의된 샘플 제조 절차 이외에, IHC 이전, IHC 동안 또는 IHC 이후의 조직의 추가의 처리를 원할 수 있다. 예를 들어, 에피토프 복구 방법, 예컨대 조직 샘플을 시트레이트 완충제에서 가열하는 것이 수행될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Leong et al. Appl. Immunohistochem. 4(3):201 (1996)] 참조).

[0205] 임의적인 차단 단계 후, 1차 항체가 조직 샘플 내의 표적 단백질 항원에 결합하도록 충분한 기간 동안 적절한 조건 하에 조직 절편을 1차 항체에 노출시킨다. 이를 달성하기 위한 적합한 조건은 일상적인 실험에 의해 결정될 수 있다. 상기 논의된 검출가능한 표지 중 어느 하나를 사용함으로써 항체가 샘플에 결합하는 정도를 결정한다. 일부 실시양태에서, 표지는 발색 기질 예컨대 3,3'-디아미노벤지딘 발색원의 화학적 변형을 촉매하는 효소 표지 (예를 들어 HRPO)이다. 한 실시양태에서, 1차 항체에 특이적으로 결합하는 항체에 효소 표지가 접합된다 (예를 들어, 1차 항체는 토끼 폴리클로날 항체이고, 2차 항체는 염소 항-토끼 항체이다).

[0206] 이렇게 제조된 검체를 슬라이드에 놓고, 커버슬립을 덮을 수 있다. 그 후, 예를 들어, 현미경을 사용하여 슬라이드 평가를 결정하고, 관련 분야에서 일상적으로 사용되는 염색 강도 기준을 사용할 수 있다.

[0207] 일부 실시양태에서, IHC가 사용되는 경우에, 세포 또는 세포 수집물이 단백질을 과다발현하는지 여부를 결정하기 위해 계단식 염색 시스템이 사용된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 염색되지 않음 (0), 1+, 2+, 및 3+의 4단 시스템이 사용되고, 이때 1+, 2+, 및 3+은 증가되는 수준의 염색을 각각 가리킨다. 일부 이러한 실시양태에서, 1+ 초과, 2+ 초과, 또는 3+ 초과가 단백질 과다발현을 가리키도록 사용될 수 있다. 비제한적인 예로서, 특정 세포 유형이 전형적으로 IHC 검정에서 단백질에 대한 염색을 나타내지 않으면, 이러한 IHC 검정에서의 임의의 염색 (즉, 1+, 2+, 또는 3+)이 단백질 과다발현을 지시할 수 있다. 추가의 비제한적인 예로서, 특정 세포 유형이 전형적으로 IHC 검정에서 단백질에 대한 염색을 거의 나타내지 않거나 또는 나타내지 않으면, 이러한 IHC 검정에서의 1+를 초과하는 임의의 염색 (즉, 2+ 또는 3+)이 단백질 과다발현을 지시할 수 있다. 관련 분야의 기술자는 특정 IHC 검정 (특정 항체 포함), 세포 유형 등에 따라 단백질 과다발현을 가리키는 염색 수준을 결정할 수 있다.

[0208] 일부 실시양태에서, IHC에 따라 유방암이 HER2 양성 또는 HER2 음성으로서 특성화된다. 일부 이러한 실시양태에서, IHC 세포막 염색 강도가 0 또는 1+인 경우에 유방암이 HER2 음성으로서 특성화된다. 일부 실시양태에서, IHC 세포막 염색 강도가 3+인 경우에 유방암이 HER2 양성으로서 특성화된다. 일부 실시양태에서, IHC 세포막 염색 강도가 2+인 경우에는 유방암의 HER2 상태가 모호하다. IHC에 의한 HER2 상태가 모호한 일부 실시양태에서, HER2 FISH 검정이 HER2 유전자가 증폭되었는지 여부를 결정하는데 사용된다. 일부 이러한 실시양태에서, HER2 유전자가 증폭되었으면, 유방암이 HER2 양성인 것으로 간주된다.

[0209] 암이 HER2 과다발현 및/또는 증폭을 포함하는지 여부 (즉, 암이 "HER2 양성"인지 여부)를 결정하는 비제한적인 예시적인 방법이, 예를 들어, WO99/31140; US2003/0170234A1; US2003/0147884; WO01/89566; US2002/0064785; US2003/0134344; 미국 특허 번호 6,573,043; 미국 특허 번호 6,905,830; 및 US2003/0152987에 기술되어 있다.

[0210] 일부 실시양태에서, 에스트로겐 수용체 (ER) 및/또는 프로게스테론 수용체 (PR)의 상태가 문헌 [American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer, J. Clin. Oncol.,

2010, 28: 2784-2795] ("지침서")에 따라 결정되고, 이는 모든 목적을 위해 본원에 전문이 참고로 포함된다. 이러한 권고문은 유방암이 종양 세포 핵의 $\geq 1\%$ 가 상응하는 IHC 검정에서 면역반응성인 경우에는 ER 양성 또는 PR 양성으로 간주되어야 하고, 종양 세포 핵의 $<1\%$ 가 상응하는 IHC 검정에서 면역반응성인 경우에는 ER 음성 또는 PR 음성으로 간주되어야 한다는 것을 가리킨다.

[0211]

mRNA 과다발현을 결정하는 임의의 적절한 방법이 사용될 수 있다. 세포 내의 mRNA의 평가 방법이 널리 공지되어 있고, 예를 들어, 상보적 DNA 프로브를 사용하는 혼성화 검정 (예컨대, 표적 mRNA에 대해 특이적인 표지된 리보프로브를 사용하는 계내 혼성화, 노던 블롯, 및 관련 기술), 및 다양한 핵산 증폭 검정 (예컨대 표적 mRNA (또는 표적 mRNA로부터 역전사된 cDNA)에 대해 특이적인 상보적 프라이머를 사용하는 RT-PCR 및 기타 증폭 유형 검출 방법, 예를 들어, 분지형 DNA, SISBA, TMA 등)을 포함한다.

[0212]

노던, 도트 블롯 또는 PCR 분석을 사용하여 포유동물로부터의 조직 또는 세포 샘플을 mRNA에 대해 편리하게 검정할 수 있다. 예를 들어, RT-PCR 검정 예컨대 정량적 PCR 검정이 관련 분야에 널리 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, mRNA 발현 수준은 실시간 qRT-PCR을 사용하여 정량된 수준이다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 생물학적 샘플 내의 표적 mRNA를 검출하는 방법은 하나 이상의 프라이머를 사용하여 역전사에 의해 샘플로부터 cDNA를 생산하는 단계; 이렇게 생산된 cDNA를 표적 폴리뉴클레오타이드를 센스 및 안티센스 프라이머로 사용하여 증폭시켜, 내부의 표적 cDNA를 증폭시키는 단계; 및 증폭된 표적 cDNA의 존재를 검출하는 단계를 포함한다. 또한, 이러한 방법은 (예를 들어, 액틴 패밀리를 구성원과 같은 "살림" 유전자의 비교 대조군 mRNA 서열의 수준을 동시에 검사함으로써) 생물학적 샘플 내의 표적 mRNA의 수준을 결정하도록 허용하는 하나 이상의 단계를 포함할 수 있다. 임의적으로, 증폭된 표적 cDNA의 서열을 결정할 수 있다.

[0213]

본 발명의 임의적인 방법은 마이크로어레이 기술에 의해 조직 또는 세포 샘플 내의 mRNA, 예컨대 표적 mRNA를 검사 또는 검출하는 프로토콜을 포함한다. 핵산 마이크로어레이를 사용하여, 테스트 및 대조군 조직 샘플로부터의 테스트 및 대조군 mRNA 샘플을 역전사하고 표지하여 cDNA 프로브를 생성시킨다. 그 후, 프로브를 고체 지지체 상에 고정된 핵산들의 어레이에 혼성화시킨다. 어레이는 어레이의 각각의 구성원의 서열 및 위치가 공지되도록 구성된다. 표지된 프로브와 특정 어레이 구성원의 혼성화는 프로브가 유래된 샘플이 이러한 유전자를 발현한다는 것을 가리킨다. 질환 조직의 차등적 유전자 발현 분석은 유용한 정보를 제공할 수 있다. 마이크로어레이 기술은 핵산 혼성화 기술 및 전산화 기술을 사용하여 단일 실험에서 수천개의 유전자의 mRNA 발현 프로파일을 평가한다. (예를 들어, 2001년 10월 11일에 공개된 WO 01/75166을 참조하고; 어레이 제작의 논의에 대해서, 예를 들어, 미국 특허 번호 5,700,637, 미국 특허 번호 5,445,934, 및 미국 특허 번호 5,807,522, 문헌 [Lockart, Nature Biotechnology, 14:1675-1680 (1996)]; [Cheung, V. G. et al., Nature Genetics 21(Suppl):15-19 (1999)]을 참조한다). DNA 마이크로어레이는 유리 또는 기타 기판 상에서 직접 합성되거나 또는 이에 스폿팅(spotting)된 유전자 단편들을 함유하는 미니어처 어레이이다. 일반적으로 수천개의 유전자가 단일 어레이에서 표시된다. 전형적인 마이크로어레이 실험은 하기의 단계들을 수반한다: 1) 샘플로부터 단리된 RNA로부터의 형광 표지된 표적의 제조, 2) 표지된 표적의 마이크로어레이로의 혼성화, 3) 어레이의 세정, 염색 및 스캐닝, 4) 스캐닝된 영상의 분석 및 5) 유전자 발현 프로파일의 생성. 현재 2가지 주요 유형의 DNA 마이크로어레이가 사용되고 있다: 올리고뉴클레오타이드 (일반적으로 25량체 내지 70량체) 어레이 및 cDNA로부터 제조된 PCR 생성물을 함유하는 유전자 발현 어레이. 어레이 형성에서, 올리고뉴클레오타이드가 미리 제작되어 표면 상에 스폿팅될 수 있거나, 또는 직접적으로 표면 상에서 합성될 수 있다 (계내). 일부 실시양태에서, DNA 마이크로어레이는 단일-뉴클레오타이드 다형성 (SNP) 마이크로어레이, 예를 들어, 어피메트릭스(Affymetrix)® SNP 어레이 6.0이다.

[0214]

어피메트릭스 진칩(Affymetrix GeneChip)® 시스템은 유리 표면 상에서의 올리고뉴클레오타이드의 직접적인 합성에 의해 제작된 어레이를 포함하는 시판되는 마이크로어레이 시스템이다. 프로브/유전자 어레이: 올리고뉴클레오타이드, 일반적으로는 25량체가 반도체를 기초로 하는 포토리소그래피 및 고체상 화학적 합성 기술의 조합에 의해 유리 웨이퍼 상으로 직접적으로 합성된다. 각각의 어레이는 400,000개까지의 상이한 올리고를 함유하고, 각각의 올리고는 수백만개의 카피로 존재한다. 올리고뉴클레오타이드 프로브가 어레이 상의 알려진 위치에서 합성되기 때문에, 어피메트릭스 마이크로어레이 스위트(Affymetrix Microarray Suite) 소프트웨어에 의해 유전자 신원 및 상대적인 발현 수준의 관점에서 혼성화 패턴 및 신호 강도가 해석될 수 있다. 각각의 유전자가 일련의 상이한 올리고뉴클레오타이드 프로브에 의해 어레이 상에서 표시된다. 각각의 프로브 쌍은 완전 매치 올리고뉴클레오타이드 및 미스매치 올리고뉴클레오타이드로 이루어진다. 완전 매치 프로브는 특정 유전자에 정확하게 상보적인 서열을 지니고, 따라서 유전자의 발현을 측정한다. 미스매치 프로브는 중앙 염기 위치에서 단일 염기 치환에 의해 완전 매치 프로브와 상이하여, 표적 유전자 전사체의 결합을 방해한다. 이는 완전 매치 올리고에 대해

측정된 신호에 기여하는 배경 및 비-특이적 혼성화를 결정하는 것을 돕는다. 마이크로어레이 스위트 소프트웨어는 미스매치 프로브의 혼성화 강도를 완전 매치 프로브의 강도에서 차감하여 각각의 프로브 세트에 대한 절대적 또는 특이적 강도 값을 결정한다. 프로브는 진뱅크(Genbank) 및 기타 뉴클레오타이드 보관소로부터의 현재의 정보를 기초로 선택된다. 이러한 서열은 유전자의 3' 끝부분의 독특한 영역을 인식하는 것으로 여겨진다. 진칩 혼성화 오븐(GeneChip Hybridization Oven) ("회전식(rotisserie)" 오븐)이 한번에 64개까지의 어레이의 혼성화를 수행하는데 사용된다. 플루이드스(fluidics) 스테이션에서 프로브 어레이의 세정 및 염색이 수행된다. 이는 완전히 자동화되고, 4개의 모듈을 함유하며, 각각의 모듈이 1개의 프로브 어레이를 보유한다. 미리 프로그래밍된 플루이드스 프로토콜을 사용하여 마이크로어레이 스위트 소프트웨어를 통해 각각의 모듈이 독립적으로 제어된다. 스캐너는 프로브 어레이에 결합된 표지된 cRNA에 의해 방출되는 형광 강도를 측정하는 공초점 레이저 형광 스캐너이다. 마이크로어레이 스위트 소프트웨어가 있는 컴퓨터 워크스테이션이 플루이드스 스테이션 및 스캐너를 제어한다. 마이크로어레이 스위트 소프트웨어는 프로브 어레이에 대한 미리 프로그래밍된 혼성화, 세정, 및 염색 프로토콜을 사용하여 8개까지의 플루이드스 스테이션을 제어할 수 있다. 또한 이러한 소프트웨어는 혼성화 강도 데이터를 취득하고, 적합한 알고리즘을 사용하여 이를 각각의 유전자에 대한 존재/부재 신호(call)로 전환한다. 마지막으로, 이러한 소프트웨어는 비교 분석에 의해 실험들 간의 유전자 발현의 변화를 검출하고, 출력값을 .txt 파일의 포맷으로 만들며, 이는 추가의 데이터 분석을 위해 다른 소프트웨어 프로그램과 함께 사용될 수 있다.

[0215]

실시예

[0216]

하기 논의된 실시예는 순수하게 본 발명을 예시하는 것으로 의도되고, 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로 간주되지 않아야 한다. 실시예는 하기의 실험이 수행된 모든 또는 유일한 실험이라는 것을 나타내도록 의도되지 않는다. 상기 제공된 일반적인 설명을 고려하여 다양한 기타 실시양태가 실행될 수 있는 것으로 이해된다.

[0217]

사용된 숫자 (예를 들어, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 확실히 하기 위해 노력하였으나, 일부 실험 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 지시되지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이며, 압력은 대기압 또는 대기압 근처이다.

[0218]

실시예 1 내지 6에서, EC=1.42 mL/mg*cm를 사용하여 FGFR1-ECD.339-Fc의 투여량이 계산된다. 표 1 참조.

[0219]

실시예 1: *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 특정 폐암 이종이식편 모델이 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 특정 폐암 이종이식편 모델보다 FGFR1-ECD.339-Fc-매개 성장 억제에 대해 더욱 민감성이었다

[0220]

종양 성장에 대한 FGFR1-ECD.339-Fc의 영향을 *FGFR1* 유전자가 증폭된 폐암 이종이식편 모델과 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 폐암 이종이식편 모델 사이에서 비교하였다. 이러한 실험에서 검사된 FGFR1-증폭을 갖는 폐암 세포주는 하기와 같았다: DMS53 (SCLC, 세포 당 5개의 *FGFR1* 유전자 카피), DMS114 (SCLC, 세포 당 10개의 *FGFR1* 유전자 카피), NCI-H1518 (NSCLC, 세포 당 6개의 *FGFR1* 유전자 카피), 및 NCI-H520 (NSCLC, 세포 당 8개의 *FGFR1* 유전자 카피). 이러한 실험에서 검사된 FGFR1-증폭을 갖지 않는 폐암 세포주는 하기와 같았다: A549, NCI-H460, NCI-H226, NCI-H2126, NCI-H441, NCI-H358, NCI-H522 및 Colo699. 비-증폭 세포주들을 ATTC (버지니아주 마나사스)에서 구입하였고, 공급업체의 설명서에 따라 배양하였다. *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 세포주들을 사용하는 폐암 이종이식편 모델을 하기와 같이 수행하였다. 6주령 암컷 SCID 마우스를 찰스 리버 래보러토리즈(Charles River Laboratories) (매사추세츠주 월딩턴)로부터 구입하고, 연구를 시작하기 전에 1주일 동안 순응시켰다. 폐암 세포주들을 85-90% 전면성장에 도달할 때까지 배양하였다. 세포를 수확하고, 50% 매트릭셀(Matrigel)을 함유하는 저온 Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 프리(free) 포스페이트 완충 염수 (PBS)에 5×10^7 개의 세포/mL로 재현탁시켰다. 세포를 5×10^6 개의 세포/100 μ L/마우스로 마우스의 오른쪽 옆구리에 피하 이식하였다. 세포를 이식하고 나서 1일 후, 마우스를 분류 및 무작위화하고 (n=10), 하기 기재된 바와 같이 처리를 시작하였다.

[0221]

FGFR1-증폭을 갖지 않는 폐암의 환자-유래 이종이식편 (PDX) 모델들의 패널을 또한 FGFR1-ECD.339-Fc에 대한 민감성에 대해 검사하였다. 시험관내 조직 배양 없이 PDX 이종이식편을 암 환자로부터 누드 마우스 내로 직접적으로 이식하였다. 이러한 종양 이종이식편은 조직학 및 항암 약물에 대한 민감성을 포함하는 모 환자 종양의 특징의 대부분을 유지한다. 검사된 폐 PDX 모델은 하기와 같았다: PDX D35087, PDX D37638, PDX D35376, LXFL-430, LXFE-937, LXFE-397, LXFA-737 및 LXFA-629. 검사된 폐 PDX에 대한 예비 병리학 및 환자 특징이 표 2에서 개요된다.

[0222] [표 2]

[0223] 폐암 환자-유래 이종이식편 (PDX) 모델의 특징

| 종양 번호 | 종양 유형 | 기원 | 분화 | 환자 연령 | 성별 | 단계 |
|------------|-------|----|----------|-------|----|--------|
| LXFE_937 | 편평 | 폐 | 중등도로 분화됨 | 37 | 여성 | T3N1M0 |
| LXFE_397 | 편평 | 폐 | 불량하게 분화됨 | 56 | 남성 | T1N0Mx |
| LXFL_430 | 대세포 | 폐 | 불량하게 분화됨 | 53 | 남성 | T2N1M0 |
| LXFA_629 | 선암 | 폐 | 불량하게 분화됨 | 59 | 남성 | T3N2Mx |
| LXFA_737 | 선암 | 폐 | 중등도로 분화됨 | 56 | 남성 | T3N2Mx |
| PDX D35087 | 편평 | 폐 | 중등도로 분화됨 | - | - | T3N0M0 |
| PDX D37638 | 편평 | 폐 | 불량하게 분화됨 | - | - | T3N2M0 |
| PDX D35376 | 편평 | 폐 | 중등도로 분화됨 | - | - | T2N0M0 |

[0224]

[0225] 6주령 암컷 SCID 마우스를 찰스 리버 레보리토리즈 (매사추세츠주 윌밍턴)로부터 구입하고, 연구를 시작하기 전에 1주일 동안 순응시켰다. 도너 SCID 마우스에서의 연속 계대로 이종이식편으로부터 PDX 종양 단편을 수득하였다. 도너 마우스로부터 종양을 제거한 후, 이를 단편 (1-2 mm 직경, ~25 mg)으로 절단하고, 피하 이식까지 RPMI 1640 배양 배지 내에 놓았다. 수용자 마우스를 이소플루란 흡입으로 마취시켰다. 블런트(blunt) 검자로 작은 주머니를 형성시키고, 한 덩어리의 종양 PDX를 주머니 내에 놓았다. 더마본드(dermabond) 접착제를 사용하여 상처를 봉합하고, 절개 위에 한 방울의 부피비카인을 놓았다. PDX 이식 1일 후에, 마우스를 분류 및 무작위화하고 (n=10), 하기 기재된 바와 같이 처리를 시작하였다.

[0226]

FGFR1-ECD.339-Fc를 PBS에서 3 mg/ml로 준비하고, 이식된 PDX 종양의 성장 속도에 따라 4 내지 8주 동안 일주일에 2번 15 mg/kg (300 µg/100 µl/마우스)로 복막내 (i.p.) 투여하였다. 인간 알부민을 그리폴스 USA(Grifols USA) (캘리포니아주 로스앤젤레스; 카탈로그 번호 NDC 61953-0002-1)로부터 구입하고, 0.9% 염화나트륨으로 작업용 모액 (3 mg/ml)으로 희석하고, 이식된 PDX 종양의 성장 속도에 따라 4 내지 8주 동안 일주일에 2번 300 µg/100 µl/마우스 (15 mg/kg)로 투여하여 음성 대조군으로 사용하였다.

[0227]

종양 세포 접촉일 이후의 제11일, 제18일, 제25일, 제32일, 제39일 및 제46일에 각각의 마우스에서 종양 크기를 측정하였다. 각각의 종양의 길이 및 폭을 캘리퍼스를 사용하여 측정하고, 하기 식에 따라 종양 크기를 계산하였다:

[0228]

$$\text{종양 크기 (mm}^3\text{)} = (\text{폭 (mm)} \times \text{길이 (mm)})^2 / 2$$

[0229]

피하 종양 부피가 2000 mm³을 초과했을 때 또는 종양이 과도하게 괴사성이 되었을 때 마우스를 "암 사망"으로서 안락사시켰다.

[0230]

알부민 대조군과 비교하여 FGFR1-ECD.339-Fc로 처리된 이종이식편 성장 곡선의 곡선하 면적 (AUC) 분석에 의해 FGFR1-ECD.339-Fc에 의한 종양 성장 억제 백분율을 결정하였다. 도 1은 이러한 분석의 결과의 산점도를 나타낸다. *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 폐암 이종이식편은 FGFR1-ECD.339-Fc 처리로 종양 성장이 평균 56% 감소되었다. 대조적으로, *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 폐암 이종이식편은 대조군과 비교하여 FGFR1-ECD.339-Fc 처리로 이종이식편 성장에서의 평균 22% 감소를 나타냈다. *FGFR1* 유전자가 증폭된 폐암 이종이식편 모델과 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 폐암 이종이식편 모델 사이의 FGFR1-ECD.339-Fc-매개 이종이식편 억제에서의 차이가 통계적으로 유의하였다 ($P=0.0333$).

[0231]

따라서, *FGFR1* 유전자가 증폭된 종양 세포가 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 종양 세포보다 FGFR1-ECD.339-Fc 투여에 대해 더욱 민감성인 것으로 확인되었다.

[0232]

실시예 2: *FGFR1* 유전자가 증폭된 폐암 세포주 및 이종이식편 및 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 폐암 세포주 및 이종이식편에서의 FGFR1 과다발현

- [0233] RNA 수준에서의 FGFR1의 발현을 *FGFR1* 유전자가 증폭된 폐암 세포주, 이중이식편 모델 및 PDX 모델과 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 폐암 세포주, 이중이식편 모델 및 PDX 모델 사이에서 비교하였다. 이러한 실험에서 검사된 FGFR1-증폭을 갖는 폐암 세포주는 하기와 같았다: DMS53 (SCLC, 세포 당 5개의 *FGFR1* 유전자 카피), DMS114 (SCLC, 세포 당 10개의 *FGFR1* 유전자 카피), NCI-H1518 (NSCLC, 세포 당 6개의 *FGFR1* 유전자 카피), 및 NCI-H520 (NSCLC, 세포 당 8개의 *FGFR1* 유전자 카피). 이러한 실험에서 검사된 FGFR1-증폭을 갖지 않는 폐암 세포주는 하기와 같았다: A549, NCI-H460, NCI-H226, NCI-H2126, NCI-H441, NCI-H358, NCI-H522, MSTO-211H, 및 Colo699. 비-증폭 세포주를 ATTC (버지니아주 마나사스)에서 구입하였고, 공급업체의 설명서에 따라 배양하였다. *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 폐암의 환자-유래 이중이식편 (PDX) 모델들의 패널을 또한 FGFR1 mRNA 발현에 대해 검사하였다. 검사된 폐 PDX 모델은 하기와 같았다: PDX D35087, PDX D37638, PDX D35376, LXFL-430, LXFE-937, LXFE-397, LXFA-737, 및 LXFA-629. 검사된 폐 PDX에 대한 예비 병리학 및 환자 특징이 상기 표 2에서 개요된다.
- [0234] 시험관내에서 성장된 세포주 또는 생체내에서 성장된 종양 이중이식편으로부터 RNeasy® 미니 키트 (카탈로그 번호 74104, 퀴아젠(Qiagen), 독일)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA를 DNase I로 처리한 후, 퀴아젠 역전사 키트(QuantiTect Reverse Transcription Kit) (카탈로그 번호 205311, 퀴아젠, 독일)를 사용하여 무작위 6량체 프라이밍(priming) 및 역전사효소로 cDNA를 생성시켰다. 인간 FGFR1 RNA 발현을 FGFR1 퀴아젠 프라이머 검정(QuantiTect Primer Assay) (Hs_FGFR1_1_SG, 카탈로그 번호 QT00102837, 퀴아젠, 독일) 및 인간 GUSB 대조군 참조 퀴아젠 프라이머 검정 (Hs_GUSB_1_SG, 카탈로그 번호 QT00046046, 퀴아젠, 독일)을 사용하여 결정하였다. 퀴아젠 SYBR 녹색 PCR 키트(QuantiTect SYBR Green PCR Kit) (카탈로그 번호 204145, 퀴아젠, 독일)가 실시간 qRT-PCR 및 ABI 프리즘 ViiA™ 7 실시간 PCR 시스템(ABI Prism ViiA™ 7 Real-Time PCR System) (어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems), 캘리포니아주 포스터시티)을 사용하여 mRNA 발현 수준을 정량하는데 사용되었다. 상대적인 유전자 발현 정량을 참조물질로서의 인간 GUSB 및 시판되는 RNA 대조군 (스트라타진(Stratagene), 캘리포니아주 라호야)을 사용하여 비교 Ct 방법에 따라 계산하였다. 하기 식에 따라 상대적 정량을 결정하였다: $2^{-(\Delta Ct \text{ 샘플} - \Delta Ct \text{ 검정물})}$.
- [0235] *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 폐암 세포주와 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 폐암 세포주 (도 2), 및 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 이중이식편 모델과 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 이중이식편 모델 (도 4) 사이에서 GUSB-정규화 FGFR1 RNA 발현을 비교하였다.
- [0236] 도 2는 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 세포주 및 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 세포주에서의 FGFR1 RNA 발현의 산점도를 나타낸다. *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 폐암 세포주가 *FGFR1* 유전자 증폭을 갖지 않는 세포주와 비교하여 FGFR1 mRNA의 통계적으로 유의한 증가 ($P = 0.0114$)가 있다. 도 2는 폐암 세포주의 한 하위집단이 *FGFR1* 유전자 증폭의 부재 하에 높은 FGFR1 mRNA 발현이 있다는 것을 또한 나타낸다. FGFR1의 GUSB 정규화 유전자 발현이 1.48인 NCI-H226, 및 FGFR1의 GUSB 정규화 유전자 발현이 1.26인 NCI-H522가 비-증폭 폐암 세포주 집단에서의 2개의 가장 높은 아웃라이어(outlier) 지점을 나타낸다.
- [0237] NCI-H226 및 NCI-H522는 또한 시험관내에서 FGFR1-ECD.339-Fc에 대해 민감성이어서, 삼중수소화 티미딘 ([3H]-TdR) 혼입 검정 및 셀타이터-글로® 발광 세포 생존을 검정(CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay) (프로메가(Promega), 위스콘신주 매디슨)을 각각 사용했을 때 세포 증식 및 개수가 감소하였다. 도 3A는 NCI-H226 세포주에 대한 셀타이터-글로® 검정으로부터의 결과를 나타내고, *FGFR1*-증폭을 갖지 않는 NCI-H226 세포주에서 FGFR1-ECD.339-Fc 인큐베이션에 의해 세포 개수가 유의하게 (*는 $P = >0.05$ 를 가리킴) 감소되었음을 입증한다. 언페어드(unpaired) t-테스트를 사용하여 P-값이 결정되었다. 예를 들어, 문헌[Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA] 참조.
- [0238] 도 3B는 NCI-H226 세포주에 대한 삼중수소화 티미딘 혼입 검정으로부터 결과를 나타내고, *FGFR1* 증폭을 갖지 않는 NCI-H226 세포주에서 FGFR1-ECD.339-Fc 인큐베이션에 의해 세포 증식이 유의하게 (*는 $P = >0.05$ 를 가리킴) 감소되었음을 입증한다. 언페어드 t-테스트를 사용하여 P-값이 결정되었다. 대조군 ECD Fc는 NCI-H226 세포 증식에 대한 영향이 거의 없었다.
- [0239] 따라서, *FGFR1* 증폭을 갖지 않지만 FGFR1 과다발현을 갖는 특정 폐암 세포주가 FGFR1-ECD.339-Fc 처리에 대해 민감하다.
- [0240] 도 4는 *FGFR1* 유전자가 증폭된 폐암 이중이식편을 *FGFR1* 유전자가 증폭되지 않은 폐암 이중이식편에 비교하는 FGFR1 mRNA 발현의 산점도를 나타낸다. *FGFR1* 유전자 증폭을 갖는 이중이식편 모델은 비-증폭 세포주와 비교하

여 FGFR1 RNA 수준의 통계적으로 유의한 ($P = 0.0146$) 증가가 있었다. 또한, 시험관내 데이터와 일치하게, 폐암 이종이식편 모델의 하위집단이 *FGFR1* 유전자 증폭의 부재 하에 높은 FGFR1 RNA 발현을 나타내었다. 이종이식편 모델 NCI-H226, NCI-H522 및 PDX D35087이 각각 3.70, 3.75 및 4.30의 *GUSB*-정규화 유전자 발현 수준으로 비-증폭 폐 모델에서의 FGFR1 RNA 발현에 대한 3개의 아웃라이어 지점을 나타낸다 (도 4).

NCI-H226, NCI-H522, 및 PDX D35087은 또한 생체내에서 FGFR1-ECD.339-Fc에 대해 민감성이므로, FGFR1-ECD.339-Fc로 처리하여 각각 55, 42 및 57%의 종양 성장의 통계적으로 유의한 ($P < 0.05$) 감소가 입증되었다. PDX D35087에 대해, 실질적으로 실시예 1에 기재된 바와 같이 실험을 수행하였다.

PDX D35087 이식일 이후의 제26일, 제35일, 제41일, 및 제45일에 각각의 마우스에서 종양 크기를 측정하였다. 각각의 종양의 길이 및 폭을 캘리퍼스를 사용하여 측정하고, 하기 식에 따라 종양 크기를 계산하였다:

$$\text{종양 크기 (mm)} = (\text{폭 (mm)} \times \text{길이 (mm)})^2 / 2$$

도 5는 이러한 실험으로부터의 결과를 나타낸다. FGFR1-ECD.339-Fc가 제공된 마우스가 알부민-처리 동물과 비교하여 종양 성장의 억제를 나타내었다. FGFR1-ECD.339-Fc 처리군 및 비처리군에서의 제45일의 PDX 35087 종양 부피의 비교는 이러한 결과가 통계적으로 유의하였음 ($P < 0.01$)을 나타내었다. ANOVA 분석을 사용하여 P -값이 결정되었다. 예를 들어, 문헌 [Mathematical Statistics and Data Analysis, 1988, Wadsworth & Brooks, Pacific Grove, CA]을 참조한다. 이러한 분석은 FGFR1-ECD.339-Fc가 *FGFR1* 유전자의 증폭을 갖지 않지만 비교적 높은 수준의 FGFR1 mRNA를 발현하는 PDX 폐 종양 모델 D35087에서 종양 성장을 유의하게 감소시켰음을 입증하였다.

따라서, *FGFR1* 증폭을 갖지 않지만 FGFR1 과다발현을 갖는 특정 폐암 이종이식편 모델이 FGFR1-ECD.339-Fc 처리에 대해 민감성이다.

실시예 3: FGFR1-ECD.339-Fc 반응의 예측인자

FGF 리간드, FGF 수용체, FGF 결합 단백질, FGF 신호전달 분자를 포함하는 FGFR1-관련 유전자들의 패널, 및 일군의 혈관신생-관련 표적의 RNA 발현을 35개의 종양 세포주 및 이종이식편의 세트에서 qRT-PCR을 사용하여 결정하였다. 시험관내에서 성장된 세포주 또는 생체내에서 성장된 종양 이종이식편으로부터 RNAeasy® 미니 키트 (키아젠, 독일)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA를 DNase I로 처리한 후, 퀀티텍트 역전사 키트 (키아젠, 독일)를 사용하여 무작위 6량체 프라이밍 및 역전사효소로 cDNA를 생성시켰다. 인간 및 마우스 RNA 발현을 인간 *GUSB* 대조군 참조 퀀티텍트 프라이머 검정 (키아젠, 독일)을 이용하여 퀀티텍트 프라이머 검정 (키아젠, 독일)을 사용하여 결정하였다. 퀀티텍트 SYBR 녹색 PCR 키트 (키아젠, 독일)가 실시간 qRT-PCR 및 ABI 프리즘 ViiA™ 7 실시간 PCR 시스템 (어플라이드 바이오시스템즈, 캘리포니아주 포스터시티)을 사용하여 mRNA 발현 수준을 정량하는데 사용되었다. 상대적인 유전자 발현 정량을 참조물질로서의 인간 *GUSB* 및 시판되는 RNA 대조군 (스트라타진, 캘리포니아주 라호야)을 사용하여 비교 Ct 방법에 따라 계산하였다. 하기 식에 따라 상대적 정량을 결정하였다: $2^{-(\Delta Ct_{\text{샘플}} - \Delta Ct_{\text{검정물}})}$.

이러한 실험에서 사용된 종양 세포주 및 이종이식편이 표 3에서 제시된다. 마우스 이종이식편 모델에서의 FGFR1-ECD.339-Fc에 대한 투약 일정, 종양 성장 억제 백분율 (TGI (%)) 및 종양 성장 억제의 통계적 유의성 (P 값), 뿐만 아니라 세포주에서의 *FGFR1* 유전자의 증폭 여부가 표 3에서 또한 제시된다.

[표 3]

이종이식편 모델들의 패널에서의 FGFR1-ECD.339-Fc의 항종양 활성

| 종양 유형 | 이종이식편 모델 | 세포주 / PDX | 투약 경로 | 용량 | 투약 일정 | TGI (%) | P 값 | <i>FGFR1</i> 증폭 상태 |
|-------|----------|-----------|-------|----------|-------|---------|-------------|--------------------|
| 결장 | HCT116 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |
| | Colo205 | 세포주 | IV | 5 mg/kg | BIW | 38% | $P < 0.001$ | 증폭되지 않음 |
| | Colo201 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |
| 신장 | G-401 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 36% | $P < 0.05$ | 증폭되지 않음 |

| | | | | | | | | |
|--------|------------|-----|----|------------|------|------|--------------|---------|
| | A498 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 7% | ns | 증폭되지 않음 |
| | Caki-1 | 세포주 | IV | 10 mg/kg | BIW | 81% | $P < 0.001$ | 증폭되지 않음 |
| 폐 | A549 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 38% | $P < 0.05$ | 증폭되지 않음 |
| | NCI-H460 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 35% | $P < 0.05$ | 증폭되지 않음 |
| | NCI-H226 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | 3x/w | 55% | $P < 0.001$ | 증폭되지 않음 |
| | NCI-H520 | 세포주 | IP | 20 mg/kg | BIW | 47% | $P < 0.05$ | 증폭됨 |
| | NCI-H1703 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 31% | $P < 0.05$ | 증폭됨 |
| | NCI-H2126 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |
| | NCI-H441 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |
| | NCI-H358 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |
| | NCI-H522 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 42% | $P < 0.05$ | 증폭되지 않음 |
| | NCI-H1581 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 74% | $P = 0.002$ | 증폭됨 |
| | DMS53 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 64% | 0.003 | 증폭됨 |
| | DMS114 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 64% | $P < 0.001$ | 증폭됨 |
| | Calu-1 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |
| | D35087 | PDX | IP | 15 mg/kg | BIW | 57% | $P < 0.01$ | 증폭되지 않음 |
| | D37638 | PDX | IP | 15 mg/kg | BIW | 20% | ns | 증폭되지 않음 |
| | D35376 | PDX | IP | 15 mg/kg | BIW | 15% | ns | 증폭되지 않음 |
| | LXFA-737 | PDX | IP | 15 mg/kg | BIW | 0%** | ns | 증폭되지 않음 |
| | LXFA-629 | PDX | IP | 15 mg/kg | BIW | 65% | $P = 0.007$ | 증폭되지 않음 |
| 중피종 | MSTO-211H | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 64% | $P < 0.0001$ | 증폭되지 않음 |
| 교모세포종 | U-87 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |
| | U-118 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 36% | ns | 증폭되지 않음 |
| | U-251 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 48% | $P = 0.0078$ | 증폭되지 않음 |
| 망막모세포종 | Y79 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 21% | ns | 증폭되지 않음 |
| 전립선 | Du145 | 세포주 | IP | 0.15 mg/kg | 3x/w | 31% | ns | 증폭되지 않음 |
| 자궁내막 | MFE-280 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 96% | $P < 0.001$ | 증폭되지 않음 |
| | HEC-1B | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 30% | $P < 0.05$ | 증폭되지 않음 |
| | MFE-319 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 22% | ns | 증폭되지 않음 |
| 유방 | MDA-MB-231 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns | 증폭되지 않음 |

| | | | | | | | | |
|--|-------|-----|----|---------|-----|-----|------------|---------|
| | JIMT1 | 세포주 | IP | 1 mg/kg | BIW | 28% | $P < 0.05$ | 증폭되지 않음 |
|--|-------|-----|----|---------|-----|-----|------------|---------|

** LXFA-737에 대한 %TGI는 0 미만이었다.

예시적인 이종이식편 실험은 하기와 같다. Caki-1 및 MSTO-211H의 경우, 5백만개의 세포를 SCID 마우스 (N = 10마리/군)의 오른쪽 옆구리에 피하 이식하였다. FGFR1-ECD.339-Fc 또는 알부민을 표 3에 지시된 용량으로 일 주일에 2번 복막내 투여하였다. 도 8은 선택된 이종이식편 모델에서의 FGFR1-ECD.339-Fc의 항종양 활성을 나타 낸다. 대표적인 종양 성장 곡선이 신암, Caki-1, (A), 및 중피종, MSTO-211H, (B) 이종이식편 암 모델에 대해 제시된다. 신세포 암종 (RCC) Caki-1 모델에서는, 6주 동안 1주일에 2번 10 mg/kg으로 FGFR1-ECD.339-Fc를 투 여하는 것이 81% ($P < 0.001$) 종양 성장 억제 (TGI; 도 8A)를 초래하였다. MSTO-211H 중피종 모델에서는, FGFR1-ECD.339-Fc 투여가 종양 성장을 64% ($P < 0.0001$)만큼 감소시켰다 (도 8B). 반응 종양에서, 곡선하면 적 (AUC) 분석에 의해 평가했을 때 FGFR1-ECD.339-Fc가 종양 부피를 유의하게 감소시켰다. 25-96% 억제의 범 위로, 검사된 모델의 19/35 (54%)에서 반응이 관찰되었다 (표 3 참조).

이종이식편 모델을 FGFR1-ECD.339-Fc로의 처리에 대해 민감성이게 만드는 잠재적인 분자성 결정인자를 추가로

이해하기 위해, FGF 리간드, FGF 수용체, FGF 결합 단백질 및 FGF 신호전달 분자를 포함하는 유전자들의 패널의 RNA 발현을 표 3으로부터의 특정 이중이식편 모델에서 qRT-PCR을 사용하여 검사하였다.

그 후, 유전자 발현을 FGFR1-ECD.339-Fc 반응에 상호관련시켜, 항종양 활성과 양성으로 및 음성으로 상호관련되는 RNA 발현 서명을 결정하였다. 표 4는 이러한 분석의 결과를 나타낸다. FGF2에 더하여, FGF18의 RNA 발현 ($P = 0.02227$)이 또한 FGFR1-ECD.339-Fc 항종양 활성과 양성으로 (6.9배) 상호관련되었다. FGF 신호전달의 하류 표적 유전자인 ets 변이체 4 (ETV4)가 FGFR1-ECD.339-Fc 활성과의 이의 양성 (2.897배) 연관에 대해 가장 유의한 ($P = 0.01639$) 유전자였다. *FGFR1IIIc* 스플라이스(splice) 변이체 ($P = 0.01603$)를 포함하는 *FGFR1*의 발현 ($P = 0.01276$)이 FGFR1-ECD.339-Fc 반응에 대한 양성 예측인자였다. *FGFR1IIIb* 스플라이스 변이체의 발현은 이러한 실험에서 FGFR1-ECD.339-Fc 반응과 상호관련되지 않았다. *FGFR1*에 더하여, *FGFR3IIIc* 수용체 ($P = 0.02488$)의 발현이 또한 FGFR1-ECD.339-Fc 반응과 양성으로 상호관련되었고, 이는 FGFR1 및 FGFR3 수용체의 IIIc-스플라이스 이소형들 간의 FGF-리간드 결합 친화력에서의 잠재적인 중첩을 반영한다. 이러한 분석에서 FGFR1-ECD.339-Fc 활성과 음성으로 연관된 유의한 유전자는 확인되지 않았다.

[표 4]

이중이식편 모델에서의 FGFR1-ECD.339-Fc 항-종양 반응에 관련된 FGF-관련 유전자 발현의 통계적 분석

| 유전자 | 비 [§] | P 값 [†] | 유전자 | 비 [§] | P 값 [†] |
|------------------|----------------|------------------|-----------------|----------------|------------------|
| <i>ETV4</i> | 2.897 | 0.01639 | <i>SPRY3</i> | 1.665 | 0.4944 |
| <i>FGFR1</i> | 2.447 | 0.01669 | <i>SPRY1</i> | 1.394 | 0.5008 |
| <i>FGFR3IIIc</i> | 9.863 | 0.01944 | <i>DUSP6</i> | 0.6418 | 0.507 |
| <i>FGF18</i> | 6.915 | 0.02227 | <i>FGF19</i> | 1.203 | 0.5338 |
| <i>FGF2</i> | 247.7 | 0.03569 | <i>FLRT1</i> | 1.158 | 0.5676 |
| <i>FGFR1IIIc</i> | 3.647 | 0.0431 | <i>FGF3</i> | 1.431 | 0.5699 |
| <i>DUSP4</i> | 0.09578 | 0.08166 | <i>FGFR4</i> | 1.347 | 0.5755 |
| <i>TNC</i> | 0.0345 | 0.1212 | <i>FGF9</i> | 0.5356 | 0.6102 |
| <i>VIM</i> | 5.155 | 0.1448 | <i>FGFR3</i> | 1.767 | 0.6165 |
| <i>ETV5</i> | 1.447 | 0.1567 | <i>SPRY2</i> | 0.3142 | 0.6313 |
| <i>FGFBP3</i> | 1.84 | 0.1592 | <i>SERPINE1</i> | 0.333 | 0.6642 |
| <i>PLAU</i> | 0.3842 | 0.1781 | <i>FGF21</i> | 1.935 | 0.6744 |
| <i>PLAUR</i> | 0.3805 | 0.2408 | <i>FLRT2</i> | 0.2276 | 0.693 |
| <i>FGF7</i> | 1.991 | 0.243 | <i>FGFR2b</i> | 0.9266 | 0.7897 |
| <i>FGF5</i> | 24.79 | 0.2691 | <i>FGF6</i> | 0 | 0.8316 |
| <i>KDR</i> | 0.5892 | 0.2742 | <i>FGFBP1</i> | 0.5 | 0.8372 |
| <i>FGF11</i> | 2.153 | 0.2944 | <i>SOX9</i> | 1.181 | 0.8372 |
| <i>MET</i> | 0.4225 | 0.2962 | <i>SPRY4</i> | 0.9028 | 0.8372 |
| <i>FGF2</i> | 5.48 | 0.3015 | <i>NCAM1</i> | 1.661 | 0.8731 |
| <i>DUSP5</i> | 0.4765 | 0.3238 | <i>FGF8</i> | 1.052 | 0.9552 |
| <i>FGF22</i> | 1.604 | 0.3484 | <i>ELK4</i> | 1.062 | 0.9815 |
| <i>FGF10</i> | 1.91 | 0.3518 | <i>CDH1</i> | 0.1158 | 0.9818 |
| <i>FGFR2</i> | 1.402 | 0.3587 | <i>ELK3</i> | 1.157 | 0.9818 |
| <i>FGF1</i> | 0.09845 | 0.398 | <i>FGFBP2</i> | 0.7737 | 0.9818 |
| <i>FGFR2IIIc</i> | 5.546 | 0.4195 | <i>FGF16</i> | 1.076 | 1 |
| <i>FGF17</i> | 1.334 | 0.4361 | <i>FLRT3</i> | 0.7523 | 1 |
| <i>FGFR3IIIb</i> | 1.08 | 0.451 | | | |
| <i>FGF20</i> | 5.967 | 0.4729 | | | |
| <i>FGFR1IIIb</i> | 0.6493 | 0.486 | | | |

[§] FGFR1-ECD.339-Fc 반응자/비-반응자에서의 중양값 유전자 발현에 의해 결정된 유전자 발현 비

[†] P-값은 표 3의 모든 모델을 사용하여 각각의 유전자에 대해 반응자 대 비-반응자에서의 PCR 유전자 발현의 만-

휘트니(Mann-Whitney) 테스트에 의해 결정된다.

[0263]

FGFR1-유전자 증폭의 부재 하에 어떠한 RNA 인자가 폐 이종이식편 반응을 결정할 수 있는지를 결정하기 위해, 폐 모델의 *FGFR1*이 증폭되지 않은 부분집합에서의 FGFR1-ECD.339-Fc 반응의 상관관계를 검사하였다 (N = 13). 이러한 분석의 결과가 표 5에서 제시된다. 반응하지 않은 FGFR1 비-증폭 마우스에 비해 반응 마우스에서 FGF2 발현이 >3,000배 상향-조절되었다 (P = 0.029). 이러한 실험에서 FGFR1IIIc 및 FGFR3IIIc의 발현 또한 *FGFR1*이 증폭되지 않은 폐 부분집합에서 FGFR1-ECD.339-Fc 반응과의 양성 경향을 나타냈다.

[0264]

[표 5]

[0265]

*FGFR1*이 증폭되지 않은 폐 이종이식편 모델에서의 FGFR1-ECD.339-Fc 항-중양 반응에 관련된 FGF-관련 유전자 발현의 통계적 분석

| 유전자 | 비 [§] | P 값 [†] | 유전자 | 비 [§] | P 값 [†] |
|------------------|----------------|------------------|------------------|----------------|------------------|
| <i>FGF2</i> | 3437 | 0.02857 | <i>FGF8</i> | 0.3268 | 0.5338 |
| <i>SPRY2</i> | 0.1395 | 0.05714 | <i>FGF20</i> | 0.4803 | 0.6573 |
| <i>FGFR3IIIc</i> | 3.765 | 0.1375 | <i>ELK4</i> | 1.019 | 0.6857 |
| <i>DUSP5</i> | 0.3241 | 0.2 | <i>FGFBP2</i> | 0.6526 | 0.6857 |
| <i>FGFR1IIIc</i> | 3.688 | 0.2343 | <i>FLRT3</i> | 0.2211 | 0.6857 |
| <i>FGF21</i> | 6.868 | 0.2454 | <i>FGF11</i> | 2.039 | 0.7308 |
| <i>FGFR2</i> | 8.793 | 0.2949 | <i>FGF5</i> | 44.05 | 0.8294 |
| <i>FGFR1</i> | 3.72 | 0.2949 | <i>FGFR2IIIc</i> | 2.029 | 0.8357 |
| <i>FGF19</i> | 20.79 | 0.3094 | <i>FGF1</i> | 1.45 | 0.8357 |
| <i>FGFR1IIIb</i> | 0.553 | 0.3429 | <i>FGFR3</i> | 1.285 | 0.8357 |
| <i>ELK3</i> | 0.5091 | 0.3429 | <i>FGFR4</i> | 0.8265 | 0.8357 |
| <i>SPRY4</i> | 0.3532 | 0.3429 | <i>FGF10</i> | 0.4615 | 0.8357 |
| <i>FGFBP1</i> | 0.1836 | 0.3429 | <i>FGF17</i> | 0.4268 | 0.8357 |
| <i>DUSP6</i> | 0.1254 | 0.3429 | <i>ETV5</i> | 0.8563 | 0.8857 |
| <i>DKK3</i> | 46.5 | 0.366 | <i>FLRT2</i> | 0.828 | 0.8857 |
| <i>FGF18</i> | 2.455 | 0.366 | <i>FLRT1</i> | 0.8212 | 0.8857 |
| <i>FGF22</i> | 1.373 | 0.3836 | <i>PLAUR</i> | 0.716 | 0.8857 |
| <i>FGF2</i> | 30.92 | 0.4452 | <i>FGFR3IIIb</i> | 0.7137 | 0.8857 |
| <i>VIM</i> | 4.122 | 0.4452 | <i>FGFR2b</i> | 0.5752 | 0.8857 |
| <i>ETV4</i> | 1.665 | 0.4452 | <i>FGF16</i> | 1.786 | 0.9452 |
| <i>FGFBP3</i> | 4.424 | 0.4857 | <i>SPRY3</i> | 1.051 | 0.9452 |
| <i>SOX9</i> | 0.3956 | 0.4857 | <i>FGF9</i> | 2.07 | 1 |
| <i>SERPINE1</i> | 0.3155 | 0.4857 | <i>NCAM1</i> | 1.391 | 1 |
| <i>SPRY1</i> | 0.1799 | 0.4857 | <i>DUSP4</i> | 0.9031 | 1 |
| | | | <i>FGF3</i> | 0.8571 | 1 |
| | | | <i>FGF7</i> | 0.738 | 1 |

[0266]

[0267]

[§] FGFR1-ECD.339-Fc 반응자에서의 중양값 유전자 발현/비-반응자에서의 중양값 유전자 발현에 의해 결정된 유전자 발현 비

[0268]

[†] P-값은 표 5의 FGFR1이 증폭되지 않은 폐 모델을 사용하여 각각의 유전자에 대해 반응자 대 비-반응자에서의 PCR 유전자 발현의 만-휘트니 테스트에 의해 결정된다.

[0269]

모든 모델에서 FGFR1-ECD.339-Fc 반응과의 이의 연관이 확인된 유의한 유전자 마커들 간에 유전자 발현에서의 상관관계가 있었는지를 검사하였다. 이러한 분석의 결과가 표 6에서 제시된다. 이러한 실험에서, FGFR1-ECD.339-Fc 이종이식편 반응에 대해 예측성인 것으로 확인된 대다수의 개별적인 RNA 마커들 사이에 유의한 양성 상관관계가 있었다. 예를 들어, 이종이식편 FGF2 RNA 발현이 FGFR3IIIc, FGFR1IIIc 및 FGFR1 발현과 양성으

로 상호관련되고 ($P < 0.05$); FGFR1 RNA 발현이 FGFR3IIIc, FGF2 및 FGF18과 양성으로 상호관련된다. ETV4의 발현은 다른 FGFR1-ECD.339-Fc 반응성 유전자와 연관되지 않았다.

[표 6]

이종이식편 모델에서의 FGFR1-ECD.339-Fc 효능에 대해 예측성인 유전자 발현 마커들의 스피어만(Spearman) 상관관계

| 유전자 1 | 유전자 2 | 상관관계 | P-값 [§] |
|--------------|------------------|------|------------------|
| <i>FGF18</i> | <i>FGFR1</i> | 0.47 | 0.0083 |
| <i>FGF18</i> | <i>FGFR3IIIc</i> | 0.57 | 0.0008 |
| <i>FGF2</i> | <i>FGFR3IIIc</i> | 0.49 | 0.0139 |
| <i>FGFR1</i> | <i>FGFR3IIIc</i> | 0.41 | 0.0244 |
| <i>FGF2</i> | <i>FGFR3IIIc</i> | 0.43 | 0.0336 |
| <i>FGF2</i> | <i>FGFR1</i> | 0.39 | 0.0447 |

[§] 몬테 카를로(Monte Carlo) 모의실험으로 근사된 양측(2-sided) p-값

도 6은 FGFR1-ECD.339-Fc 반응자 및 비-반응자 이종이식편에서의 (A) FGF2 mRNA (GUSB에 대해 정규화됨) 및 (B) FGF2 단백질 발현을 나타낸다. *FGF2*의 발현 ($P = 0.03569$)이 FGFR1-ECD.339-Fc 반응과 양성으로 연관되었다. *FGF2*는 FGFR1-ECD.339-Fc 반응자와 비-반응자 이종이식편 사이에서 높은 비 (247.7배)의 mRNA 유전자 발현을 나타냈다. FGF2 단백질 수준이 또한 FGFR1-ECD.339-Fc 반응과 상호관련되는 것으로 증명되었다.

도 9는 FGFR1-ECD.339-Fc 반응자 및 비-반응자 이종이식편에서의 (A) FGFR1 mRNA 발현 (GUSB에 대해 정규화됨) 및 (B) FGFR3IIIc mRNA 발현 (GUSB에 대해 정규화됨)을 나타낸다. FGFR1 ($P = 0.01669$; 도 17a), 및 FGFR1IIIc 스플라이스 변이체 ($P = 0.0431$; 표 4)의 발현이 FGFR1-ECD.339-Fc 항종양 활성과 양성으로 상호관련되었다. FGFR1에 더하여, FGFR3IIIc 수용체의 발현 ($P = 0.01944$, 표 4) 또한 FGFR1-ECD.339-Fc 항종양 반응과 양성으로 상호관련되었고 (도 5b), 이는 FGFR1 및 FGFR3 수용체의 c-스플라이스 이소형들 간의 FGF-리간드 결합 특이성에서의 중첩을 반영한다 (예를 들어, 문헌 [Zhang, et al. J. Biol. Chem. 281, 15694-15700 (2006)]; [Ornitz, et al. J. Biol. Chem. 271, 15292-15297 (1996)] 참조).

실시예 4: FGFR1-ECD.339-Fc 반응의 예측인자

25개의 이종이식편의 세트에서 qRT-PCR을 사용하여 DKK3 mRNA 발현을 결정하였다. 생체내에서 성장된 종양 이종이식편으로부터 RNAeasy® 미니 키트 (키아젠, 독일)를 사용하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA를 DNase I로 처리한 후, 퀀티텍트 역전사 키트 (키아젠, 독일)를 사용하여 무작위 6량체 프라이밍 및 역전사효소로 cDNA를 생성시켰다. 인간 DKK3 RNA 발현을 인간 GUSB 대조군 참조 퀀티텍트 프라이머 검정 (키아젠, 독일)을 이용하여 퀀티텍트 프라이머 검정 (키아젠, 독일)을 사용하여 결정하였다. 퀀티텍트 SYBR 녹색 PCR 키트 (키아젠, 독일)가 실시간 qRT-PCR 및 ABI 프리즘 ViiA™ 7 실시간 PCR 시스템 (어플라이드 바이오시스템즈, 캘리포니아주 포스터시티)을 사용하여 mRNA 발현 수준을 정량하는데 사용되었다. 상대적인 유전자 발현 정량을 참조물질로서의 인간 GUSB 및 시판되는 RNA 대조군 (스트라타진, 캘리포니아주 라호야)을 사용하여 비교 Ct 방법에 따라 계산하였다. 하기 식에 따라 상대적 정량을 결정하였다: $2^{-(\Delta Ct \text{ 샘플} - \Delta Ct \text{ 검정물})}$.

이러한 실험에서 사용된 종양 이종이식편이 표 7에서 제시된다. 마우스 이종이식편 모델에서의 FGFR1-ECD.339-Fc에 대한 투약 일정, 종양 성장 억제 백분율 (TGI (%)) 및 종양 성장 억제의 통계적 유의성 (P 값)이 표 7에서 또한 제시된다.

[표 7]

[0280] 이중이식편 모델들의 패넬 + 마이크로어레이 데이터

| 종양 유형 | 이중이식편 모델 | 세포주 / PDX | 투약 경로 | 용량 | 투약 일정 | TGI (%) | P 값 |
|--------|------------|-----------|-------|------------|-------|---------|--------------|
| 결장 | HCT116 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| | Colo205 | 세포주 | IV | 5 mg/kg | BIW | 38% | $P < 0.001$ |
| | Colo201 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| 신장 | A498 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 7% | ns |
| | Caki-1 | 세포주 | IV | 10 mg/kg | BIW | 81% | $P < 0.001$ |
| 폐 | A549 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 38% | $P < 0.05$ |
| | NCI-H460 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 35% | $P < 0.05$ |
| | NCI-H226 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | 3x/w | 55% | $P < 0.001$ |
| | NCI-H520 | 세포주 | IP | 20 mg/kg | BIW | 47% | $P < 0.05$ |
| | NCI-H1703 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 31% | $P < 0.05$ |
| | NCI-H2126 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| | NCI-H441 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| | NCI-H358 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| | NCI-H522 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 42% | $P < 0.05$ |
| | NCI-H1581 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 74% | $P = 0.002$ |
| | Calu-1 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| 중피종 | MSTO-211H | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 64% | $P < 0.0001$ |
| 교모세포종 | U-87 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| | U-118 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 36% | ns |
| | U-251 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 48% | $P = 0.0078$ |
| 망막모세포종 | Y79 | 세포주 | IP | 10 mg/kg | BIW | 21% | ns |
| 전립선 | Du145 | 세포주 | IP | 0.15 mg/kg | 3x/w | 31% | ns |
| 자궁내막 | HEC-1B | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 30% | $P < 0.05$ |
| 유방 | MDA-MB-231 | 세포주 | IP | 15 mg/kg | BIW | 0% | ns |
| | JIMT1 | 세포주 | IP | 1 mg/kg | BIW | 28% | $P < 0.05$ |

[0281]

[0282]

그 후, 유전자 발현을 FGFR1-ECD.339-Fc 반응과 상호관련시켜, 항종양 활성과 양성으로 및 음성으로 상호관련되는 RNA 발현 서명을 결정하였다. DKK3 mRNA의 발현이 FGFR1-ECD.339-Fc에 대해 민감성이지 않은 종양에서보다 FGFR1-ECD.339-Fc에 대해 민감성인 종양에서 더 높았다 ($P = 0.0069$).

[0283]

도 7은 FGFR1-ECD.339-Fc 반응자 및 비-반응자 이중이식편에서의 DKK3 mRNA 수준 (GUSB에 대해 정규화됨)을 나타낸다. 가로줄은 이러한 군에 대한 중앙값 발현 수준을 가리킨다.

[0284]

실시예 5: FGFR1-ECD.339-Fc가 매트릭셀 플러그 검정에서 FGF-2 및 VEGF-A 유도 혈관형성의 억제를 매개하였다

[0285]

제조합 인간 FGF-2 (최종 농도 250 ng/ml; 페프로텍(Peprotech)) 및/또는 제조합 인간 VEGF-A (최종 농도 100 ng/ml; 페프로텍)를 매트릭셀 (BD 바이오사이언시스(BD Biosciences), 뉴저지주 프랭클린 레이크스) + 소듐 헤파린 (2 유닛/ml; 시그마(Sigma))에 첨가하였다. FGF-2 및/또는 VEGF-A를 함유하는 매트릭셀 플러그 (동물 당 1개)를 C57BL/6 마우스 (찰스 리버, 매사추세츠주 월링턴)의 복부 영역에 피하 이식하였다. 매트릭셀 이식 후 제1일, 제4일 및 제7일에 꼬리 정맥 주사에 의해 FGFR1-ECD.339-Fc를 투여하였다. 제9일에, 플러그를 절제하고, 헤마톡실린 및 에오신 (H&E) 염색에 대해 프로세싱하였다. 레티가(Retiga) 2000R 디지털 카메라 (큐이미징(QImaging), 브리티시 컬럼비아주 버너비)를 사용하여, 염색된 매트릭셀 절편의 디지털 영상이 생성되었다. 이미지-프로 플러스(Image-Pro Plus) 5.1 (미디어 사이버네틱스 인크(Media Cybernetics Inc.), 메릴랜드주 실버스프링)을 사용하여 영상 분석을 수행하였다. 혈관신생이 매트릭셀 플러그에서의 세포성 반응으로서 정의되었고, 이는 새롭게 형성된 혈관 및 이동된 세포로 이루어진다.

[0286]

이러한 실험의 결과가 도 10에서 제시된다. 5 mg/kg 이상의 FGFR1-ECD.339-Fc의 투여가 FGF-2가 주입된 매트릭셀 플러그에 의해 유도된 생체내 혈관신생을 완전히 차단하였다. 15 또는 45 mg/kg FGFR1-ECD.339-Fc의 투여 또한 VEGF-A 단독 또는 FGF-2 + VEGF-A가 주입된 매트릭셀 플러그에 반응한 생체내 혈관신생을 완전히 차단하였다. 이러한 모델 시스템에서의 VEGF 유도 혈관신생에 대한 항-혈관신생 활성은 플러그 내의 VEGF와 무린(murine)-유래 기질 FGF 사이의 상승작용성 활성의 억제를 반영할 수 있는데, 이는 FGFR1-ECD.339-Fc가 VEGF-A와 직접적으로 상호작용하지 않는다는 것을 SPR 분석이 나타냈기 때문이다.

- [0287] FGFR1-ECD.339-Fc가 내피 세포의 VEGF-유도 증식을 차단하는지 여부를 결정하기 위해, HUVEC 세포 (라이프 테크놀로지(Life Technologies), 뉴욕주 그랜드 아일랜드)를 기본 배지 (미디엄(Medium) 200 (라이프 테크놀로지) + 2% 열 불활성화 FBS)에 4×10^3 개의 세포/웰의 밀도로 시딩하고, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FGFR1-ECD.339-Fc의 존재 또는 부재 하에 10 ng/ml FGF2 (R&D 시스템즈(R&D Systems), 미네소타주 미네아폴리스) 또는 15 ng/ml VEGF-A165 (R&D 시스템즈, 미네소타주 미네아폴리스)로 자극하였다. 자극 3일 후에 HUVEC 세포 증식을 셀타이터-글로® 발광 세포 생존을 검정을 사용하여 결정하였다.
- [0288] 이러한 실험의 결과가 도 11에서 제시된다. FGFR1-ECD.339-Fc는, FGF-2 유도 HUVEC 증식은 차단할 수 있지만, HUVEC의 VEGF-유도 증식을 차단하지 않았다.
- [0289] **실시예 6: JIMT-1 유방암 이종이식편 모델에서의 FGFR1 신호전달의 FGFR1-ECD.339-Fc-매개 억제**
- [0290] 확립된 (200mm) 인간 유방암 JIMT-1 종양을 갖는 동물에 단일 (24시간 및 72시간 시점) 또는 일주일에 3회 (다중용량) 복막내 용량(들)의 15 mg/kg의 FGFR1-ECD.339-Fc를 투여하였다. 단일 용량 군의 경우는 투약 후 24시간 및 72시간에, 다중-용량 군에서는 최종 투약 48시간 후에 종양 샘플을 수집하고, 액체 질소에서 순간 동결시키고, RIPA 완충제 (시그마 알드리치(Sigma Aldrich), 미주리주 세인트루이스)에서 용해시켰다. 종양 용해물을 SDS-PAGE로 분리하고, 모노클로날 항체 FGFR1, pFGFR1, FRS2 α , pFRS2 α , Akt, pAkt, 및 β 액틴 (셀 시그널링 테크놀로지, 인크(Cell Signaling Technology, Inc))을 사용하여 웨스턴 블롯팅을 수행하였다. 항-인간 Fc 모노클로날 항체 (잭슨 이뮤노 리서치(Jackson Immuno Research))를 사용하여 FGFR1-ECD.339-Fc를 검출하였다.
- [0291] 이러한 실험의 결과가 도 12에서 제시된다. FGFR1-ECD.339-Fc가 투약 후 24시간에 인산화된 FGFR1의 수준을 감소시켰고, 투약 후 72시간에는 FGFR1 인산화를 완전히 폐지시켰다. 인산화된 FRS 및 Akt 수준이 투약 후 24시간에 감소되었고, 2일 후에 추가로 감소되었다. 따라서, FGFR1-ECD.339-Fc가 JIMT-1 유방암 이종이식편 모델에서의 FGFR1 신호전달을 억제하였다.
- [0292] **실시예 7: 인간에서의 단일 작용제로서의 FGFR1-ECD.339-Fc의 안전성, 허용성 및 효능을 평가하기 위한 연구**
- [0293] 인간에서의 최초의 1상 연구 (연구 FP1039-001)가 완료되었다. 0.6 mg/kg 내지 20.5 mg/kg FGFR1-ECD.339-Fc (EC=1.11 mL/mg*cm을 사용하여 계산되었고, EC=1.42 mL/mg*cm을 사용하여 계산된 0.5 mg/kg 내지 16 mg/kg의 FGFR1-ECD.339-Fc와 등가임; 표 1 참조) 범위의 용량이 제공된 39명의 대상자가 연구에 등록되었다. FGF 경로 신호전달에 대한 비정상적인 의존성이 있는 악성 종양을 갖는 대상체에서의 FGFR1-ECD.339-Fc의 항암 활성을 확인하기 위해 IB상 시험이 수행될 것이다. 편평 비-소세포 폐암 (NSCLC) 및 탈조절된 FGF 경로 신호전달, 예컨대 FGFR1 증폭이 존재하는 기타 악성 종양에서 활성이 연구될 것이다. FGFR1-ECD.339-Fc 단독요법이 탈조절된 FGF 신호전달 경로, 구체적으로는 FGF 리간드(들) 및/또는 수용체(들)의 증폭 또는 과다발현의 존재 하에 항종양 활성을 나타낼 것으로 예상된다.
- [0294] 주요 목표는 단일 작용제로서의 FGFR1-ECD.339-Fc의 안전성 및 허용성을 특성화하고, 이의 효능 및 전반적인 반응 속도 (ORR)를 평가하는 것이다.
- [0295] 환자 선별을 위해, 포함 기준은 모든 라인의 표준 요법이 고갈되었거나 또는 표준 치료가 이용가능하지 않은, FGF 경로 신호전달이 탈조절된 진행된 고형 종양의 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인된 진단을 포함한다. 추가로, 2를 초과하는 *FGFR1* 유전자 카피 대 8번 동원체의 비가 요구될 것이다.
- [0296] IV기 질환에 대한 2가지 이상의 선행 라인의 전신 요법 (백금 함유 화학요법 체계가 포함됨)을 받은 후에 종양 진행 (방사선 영상화를 기초로 함)이 문서화된 편평 NSCLC 대상체가 등록될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [TNM Classification of Malignant Tumors, 7th edition, Sobin et al., Eds., 2009]; [Edge et al., 2010, Ann. Surg. Oncol., 17: 1471-1474] 참조.
- [0297] 질환 진행이 있는 한편 아로마타제 억제제 요법을 받고 있는 ER 양성 유방암에 걸린 대상체는 아로마타제 억제제 요법을 계속하도록 허용되고, 전립선암에 걸린 대상체는 임상적으로 적합하다면 GnRH 효능제 또는 GnRH 길항제로 계속 치료될 수 있으며, 카르시노이드 암에 걸린 대상체는 옥트레오티드로의 치료를 계속할 수 있다.
- [0298] 제외 기준은 이전의 4주 동안 또는 요법의 반감기 4번 이내 (어느 쪽이든 더 긴 쪽)의 임의의 항암 요법 (생물학적 항암 요법에 대해, 본원의 추가의 제외 기준을 참고한다)으로의 치료 (제외: 전립선암, 유방암의 항암 호르몬 치료 또는 카르시노이드 암의 치료를 위한 옥트레오티드), FGFR1-ECD.339-Fc의 최초 용량으로부터 6주 이내의 임의의 생물학적 요법의 수령, 복부 천공 또는 누공 형성의 잠재력을 증가시킬 수 있는 상태, 증후성 연수

막 또는 뇌 전이 또는 척수 압박을 포함한다.

[0299] 20 mg/kg (EC=1.11 mL/mg*cm를 사용하여 계산됨)의 출발 용량으로 1주일에 1번 (제1일, 제8일 및 제15일) 30분 주입으로서 FGFR1-ECD.339-Fc가 대상체에게 투여될 것이다. 특정 경우에, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 또는 15 mg/kg의 출발 용량으로 FGFR1-ECD.339-Fc가 대상체에게 제공될 것이다.

[0300] 실시예 8: 인간에서의 비-소세포 폐암에서의 FGFR1-ECD.339-Fc + 화학요법의 안전성, 허용성 및 효능을 평가하기 위한 연구

[0301] 아암 A

[0302] 파클리탁셀 + 카르보플라틴과 조합된 FGFR1-ECD.339-Fc에 대한 출발 용량 (용량 수준 0) 및 상승/탈상승 계획이 표 8에서 제시된다.

[0303] [표 8]

[0304] FGFR1-ECD.339-Fc + 파클리탁셀 + 카르보플라틴

| 용량 수준 | FGFR1-ECD.339-Fc의 용량 (매주) | 파클리탁셀 + 카르보플라틴* (21일마다 1회) |
|------------|------------------------------|-------------------------------|
| 용량 수준-2 | 5 mg/kg | 135 mg/m ² + AUC 4 |
| 용량 수준-1 | 5 mg/kg | 175 mg/m ² + AUC 5 |
| 출발 용량 수준 0 | 5 mg/kg | 200 mg/m ² + AUC 6 |
| 용량 수준 1 | 10 mg/kg | 200 mg/m ² + AUC 6 |
| 용량 수준 2 | 20 mg/kg | 200 mg/m ² + AUC 6 |

[0305]

[0306] a. 칼버트(Calvert) 식을 기초로 하는 카르보플라틴 용량

[0307] IV기 편평 비-소세포 폐암 (문헌 [TNM Classification of Malignant Tumors, 7th edition, Sobin et al., Eds., 2009]; [Edge et al., 2010, Ann. Surg. Oncol., 17: 1471-1474]에 따름)에 걸린 12명 이상의 대상체; 및 30명 이하의 대상체가 안전성 및 효능을 추가로 평가하기 위해 표적 용량에서 등록될 것이다. IV기 질환이 새롭게 진단된 대상체에 대한 전신 화학요법을 개시하는 것에서의 임의의 과도한 지연을 방지하기 위해, 대상체가 본 연구에 대해 스크리닝되는 동안에 화학요법의 1차 사이클이 개시될 수 있다. 화학요법의 사이클 2 제1일 이전에 FGFR1-ECD.339-Fc의 제1 용량이 제공되어야 한다.

[0308] 대상체에게 표 8에 상술된 투여량으로 각각의 21일 사이클의 1주일에 1번 (제1일, 제8일 및 제15일)의 30분 주입으로서 FGFR1-ECD.339-Fc가 투여될 것이다. FGFR1-ECD.339-Fc 주입 후, 화학요법제를 주입하기 전에 1시간 동안 대상체를 관찰하여야 한다. 주입 반응이 나타나면, 연구원의 재량으로 대상체를 구토방지제, 스테로이드 또는 항히스타민제로 치료하여야 하고, FGFR1-ECD.339-Fc의 추가의 주입 전의 기관의 기준에 따른 예비투약을 고려하여야 한다.

[0309] 대상체는 기관의 기준에 따라 파클리탁셀 및 카르보플라틴에 대한 예비-치료를 받을 것이다. 표 8에 기재된 바와 같은 연구되는 용량 수준에 따른 파클리탁셀이 각각의 21일 치료 사이클의 제1일에 일정한 속도의 주입으로 3시간에 걸쳐 (또는 현지 임상 기준에 따라) 정맥 내로 투여될 것이고, AUC=6의 표적 최대 AUC에 대해 계산된 용량의 정맥내 카르보플라틴이 30 내지 60분 일정 속도 주입으로서 (또는 현지 임상 기준에 따라) 바로 이어질 것이다. 총 4 내지 6회 사이클의 파클리탁셀/카르보플라틴이 현지 임상 관행에 따라 투여될 것이다.

[0310] 카르보플라틴은 칼버트 식 (Calvert et al., J Clin Oncol. 1989; 11:1748-56)을 사용하여 투약될 것이다. 이러한 접근법은 대상체의 기존의 신장 기능 또는 신장 기능 및 원하는 혈소판 최저치를 기초로 하는 수학적식을 사용한다. 신장 배설이 카르보플라틴의 주요 제거 경로이다. 이러한 식은 Cr-EDTA 소거에 의해 측정된 바와 같은 대상체의 사구체 여과율 (mL/분 단위의 GFR) 및 카르보플라틴 표적 농도 대 시간 곡선하 면적 (mg/mL · 분 단위의 AUC)을 기초로 용량을 계산한다. 칼버트 식으로, 카르보플라틴의 총 용량은 mg/m²가 아니라 mg으로 표현된다:

[0311] 총 카르보플라틴 용량 (mg) = (표적 AUC) × (GFR¹ + 25)

[0312] ¹ 주: AUC-기반 카르보플라틴 투약을 계산하기 위해 상기 칼버트 식에서 사용된 GFR은 125 mL/분을 초과하지 않

아야 한다. 따라서, 최대 카르보플라틴 용량 (mg)은 표적 AUC (mg/ml · 분) 곱하기 150 mL/분과 같다.

[0313] 최대 카르보플라틴 용량 (mg) = 표적 AUC (mg/ml · 분) × (150 mL/분)

[0314] 최대 용량은 신장 기능이 정상인 환자에 대한 상한이 125 mL/분인 GFR 추정값을 기초로 한다. 더 높은 추정 GFR 값이 사용되지 않아야 한다.

[0315] 표적 AUC = 6에 대해, 최대 용량은 $6 \times 150 = 900$ mg이다.

[0316] 표적 AUC = 5에 대해, 최대 용량은 $5 \times 150 = 750$ mg이다.

[0317] 표적 AUC = 4에 대해, 최대 용량은 $4 \times 150 = 600$ mg이다.

[0318] 이러한 연구에서 임의의 코호트에서 연구된 최대 표적 AUC는 AUC=6이다. 따라서, 상기 칼버트 식을 사용하여, mg 단위의 최대 카르보플라틴 용량은 900 mg을 초과하지 않아야 한다.

[0319] 콕크로프트-가울트(Cockcroft-Gault) 식 (하기 참조)이 크레아티닌 소거 (CLCR)를 계산하는데 사용될 수 있고, 이는 칼버트 식의 GFR을 대체할 수 있다.

$$\text{ClCr (mL/분)} = \frac{Q \times (140 - \text{나이 [연령]}) \times \text{이상적인 체중 [kg]}^*}{72 \times \text{혈청 크레아티닌 [mg/dL]}}$$

Q = 여성의 경우 0.85
Q = 남성의 경우 1.0

또는

$$\text{ClCr (mL/분)} = \frac{K \times (140 - \text{나이 [연령]}) \times \text{이상적인 체중 [kg]}^*}{\text{혈청 크레아티닌 [\mu\text{mol/L}]}}$$

K = 여성의 경우 1.0
K = 남성의 경우 1.23

[0320]

* 드바인(Devine) 식을 사용한 이상적인 체중의 계산 [Devine, 1974]
이상적인 체중:
남성 = $50.0 \text{ kg} + (2.3 \text{ kg} \times 5 \text{ 피트를 초과하는 각각의 인치})$ 또는 $50.0 \text{ kg} + (0.906 \text{ kg} \times 152.4 \text{ cm를 초과하는 각각의 cm})$
여성 = $45.5 \text{ kg} + (2.3 \text{ kg} \times 5 \text{ 피트를 초과하는 각각의 인치})$ 또는 $45.5 \text{ kg} + (0.906 \text{ kg} \times 152.4 \text{ cm를 초과하는 각각의 cm})$
예: 남성, 실제 체중 = 90.0 kg, 신장 = 68 인치
이상적인 체중 = $50.0 + (2.3) (68 - 60) = 68.4 \text{ kg}$
이러한 대상체의 실제 체중은 이상적인 체중을 >30% 초과한다. 따라서, 이러한 경우에, 68.4 kg의 대상체의 이상적인 체중이 추정 CrCl을 계산하는데 사용되어야 한다.

[0321]

[0322] 추가의 정보, 포장, 제조 및 투여 정보를 카르보플라틴에 대한 처방 정보 (파라플라틴(Paraplatin) USPI)에서 확인할 수 있다.

[0323] 아암 B

[0324] 도세탁셀과 조합된 FGFR1-ECD.339-Fc에 대한 출발 용량 (용량 수준 0) 및 상승/탈상승 계획이 표 9에서 제시된다.

[0325] [표 9]

[0326] FGFR1-ECD.339-Fc + 도세탁셀

| 용량 수준 | FGFR1-ECD.339-Fc의 용량 (배주) | 도세탁셀 (21일마다 1회) |
|------------|------------------------------|----------------------|
| 용량 수준-2 | 5 mg/kg | 40 mg/m ² |
| 용량 수준-1 | 5 mg/kg | 55 mg/m ² |
| 출발 용량 수준 0 | 5 mg/kg | 75 mg/m ² |
| 용량 수준 1 | 10 mg/kg | 75 mg/m ² |
| 용량 수준 2 | 20 mg/kg | 75 mg/m ² |

[0327]

[0328] IV기 편평 비-소세포 폐암 (문헌 [TNM Classification of Malignant Tumors, 7th edition, Sobin et al., Eds., 2009]; [Edge et al., 2010, Ann. Surg. Oncol., 17: 1471-1474]에 따름)에 걸린 12명 이상의 대상체; 및 30명 이하의 대상체가 안전성 및 효능을 추가로 평가하기 위해 표적 용량에서 등록될 것이다.

[0329] 대상체에게 표 9에 상술된 투여량으로 각각의 21일 사이클의 1주일에 1번 (제1일, 제8일 및 제15일)의 30분 주입으로서 FGFR1-ECD.339-Fc가 투여될 것이다. FGFR1-ECD.339-Fc 주입 후, 화학요법제를 주입하기 전에 1시간 동안 대상체를 관찰하여야 한다. 주입 반응이 나타나면, 연구원의 재량으로 대상체를 구토방지제, 스테로이드 또는 항히스타민제로 치료하여야 하고, FGFR1-ECD.339-Fc의 추가의 주입 전의 기관의 기준에 따른 예비투약을 고려하여야 한다.

[0330] 아암 B의 대상체는 기관의 기준에 따라 도세탁셀에 대한 예비-치료를 받을 것이다. 각각의 21일 사이클의 제1일에 1시간에 걸쳐 (또는 현지 임상 기준에 따라) 정맥내 주입으로서 표 9에 기재된 바와 같은 연구되는 용량 수준에 따라 도세탁셀이 투여될 것이다. 진행까지 또는 대상체가 최대 이익을 받은 것으로 결정되었을 때까지 대상체가 치료된다. 추가의 제제, 포장, 제조 및 투여 정보에 대해서는, 제품 표지 (예를 들어, 미국 포장 삽입물 또는 제품 모노그래프)를 참조한다.

[0331] 서열 표

[0332] 표 10은 본원에서 논의된 특정 서열들을 열거한다. 달리 지시되지 않는 한, 신호 펩티드 없이 FGFR1 서열이 제시된다.

[0333] [표 10]

[0334]

서열 및 설명

| 서열 번호 | 설명 | 서열 |
|-------|--|---|
| 1 | 전장 인간 FGFR1 ECD (신호 펩티드 있음); SP-hFGFR1-ECD.353 | MWSWKCLLFW AVLVTATLCT ARPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKI GP DNLPYVQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EERPAVMTSP LYLE |
| 2 | 전장 인간 FGFR1 ECD (신호 펩티드 없음); hFGFR1-ECD.353 | RPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKI GP DNLPYVQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EERPAVMTSP LYLE |
| 3 | SP-hFGFR1-ECD.339 | MWSWKCLLFW AVLVTATLCT ARPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKI GP DNLPYVQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL |
| 4 | hFGFR1-ECD.339 | RPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKI GP DNLPYVQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL |
| 5 | SP-hFGFR1-ECD.339-Fc | MWSWKCLLFW AVLVTATLCT ARPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSVNVSD ALPSEDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRYAT WSIIMDSVVP SDKGNYTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKI GP DNLPYVQILK TAGVNTTDKE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS |

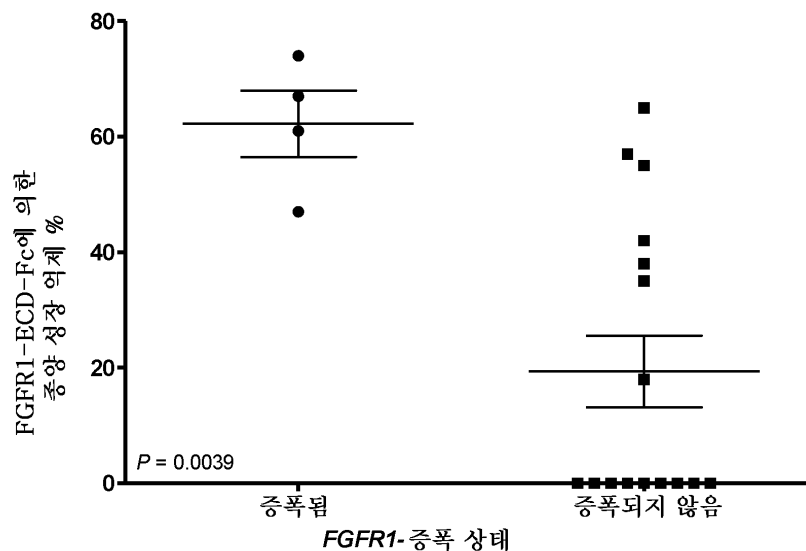
[0335]

| | | |
|----|-------------------|--|
| | | DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTKSLSLSP GK |
| 6 | hFGFR1-ECD.339-Fc | RPSPTLPEQ AQPWGAPVEV ESFLVHPGDL LQLRCRLRDD VQSINWLRDG VQLAESNRTR ITGEEVEVQD SVPADSGLYA CVTSSPSGSD TTYFSNVSD ALPSSDDDDDDD DDDSSSEEKE TDNTKPNPVA PYWTSPEKME KKLHAVPAAK TVKFKCPSSG TPNPTLRWLK NGKEFKPDHR IGGYKVRAT WSIIMDSVVP SDKGNVTCIV ENEYGSINHT YQLDVVERSP HRPILQAGLP ANKTVALGSN VEFMCKVYSD PQPHIQWLKH IEVNGSKIGP DNLPYVQILK TAGVNTTDE MEVLHLRNVS FEDAGEYTCL AGNSIGLSHH SAWLTVLEAL EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTKSLSLSP GK |
| 7 | hFGFR1 신호 펩티드 | MWSWKCLLFWAVLVTATLCTA |
| 8 | Fc C237S | EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSGGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTKSLSLSP GK |
| 9 | 예시적인 Fc #1 | ERKCCVECPP CPAPPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST FRVVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTISK KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNNHYTK SLSLSPGK |
| 10 | 예시적인 Fc #2 | ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAKT TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPV L DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNNHYTK SLSLSLGK |

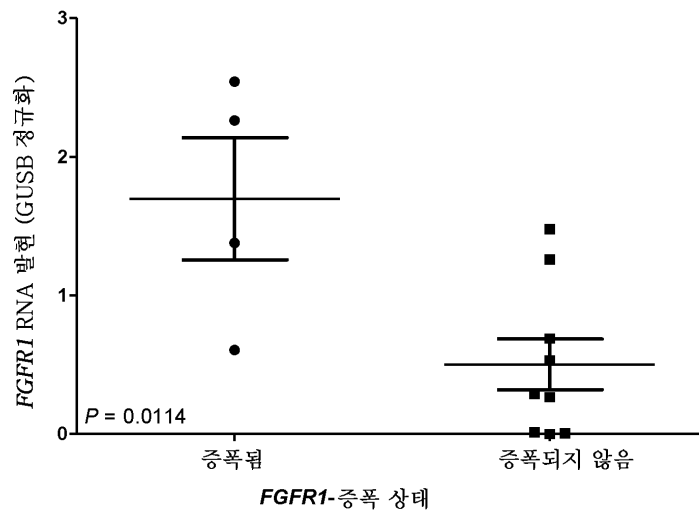
[0336]

도면

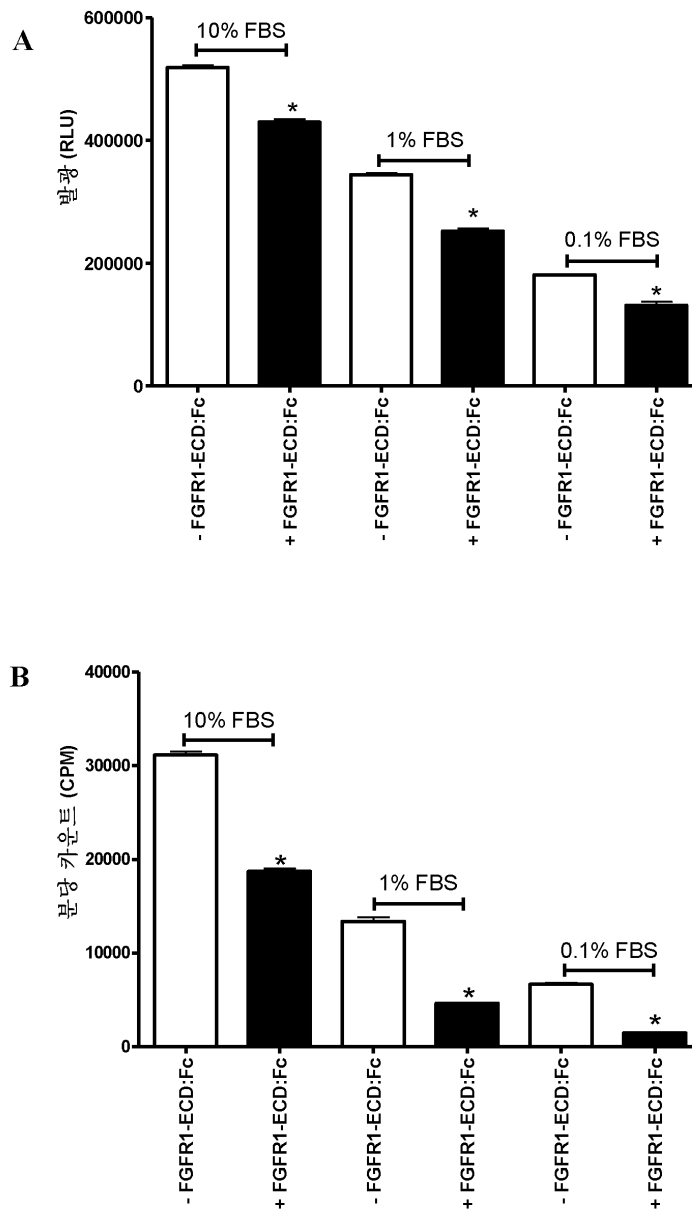
도면1



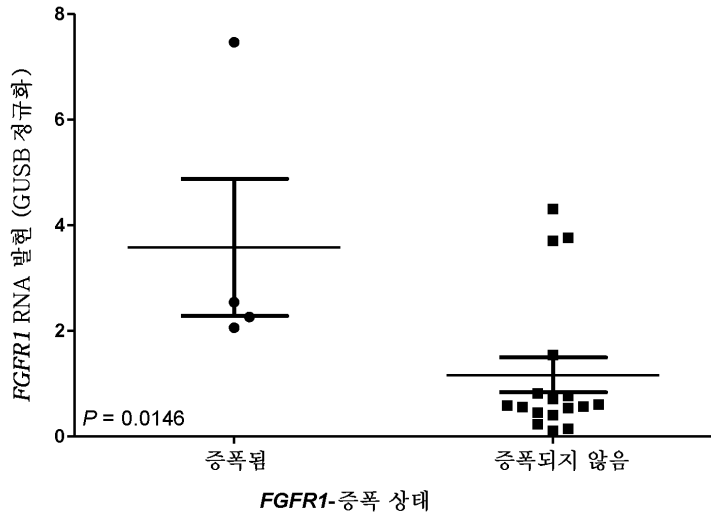
도면2



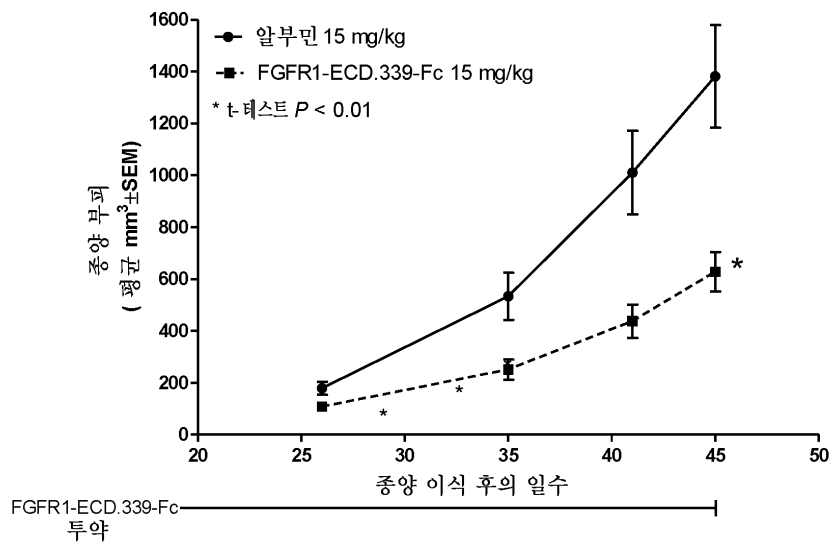
도면3



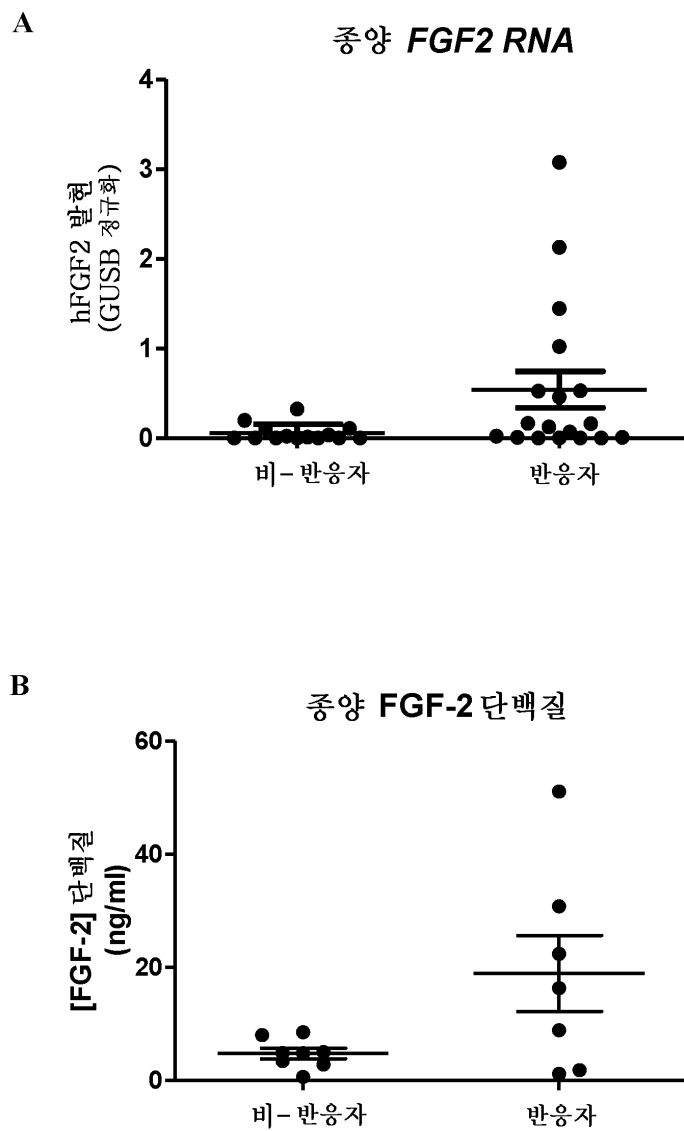
도면4



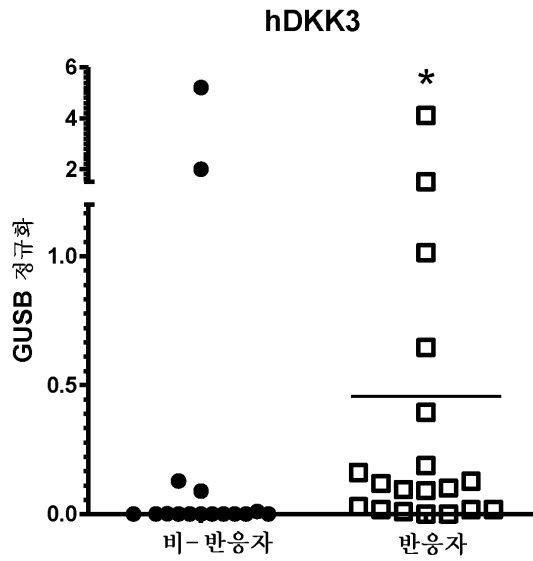
도면5



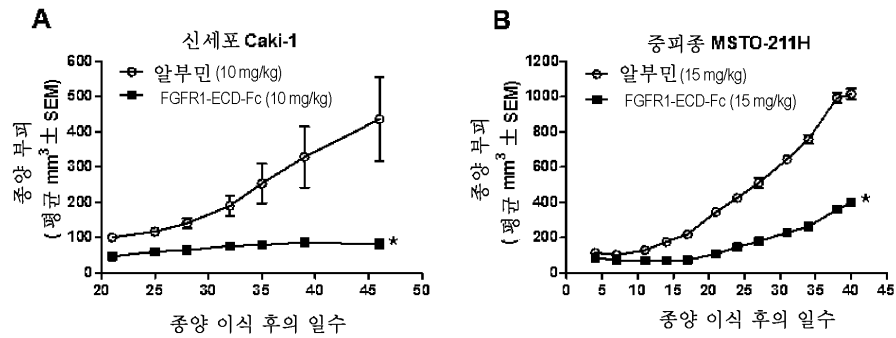
도면6



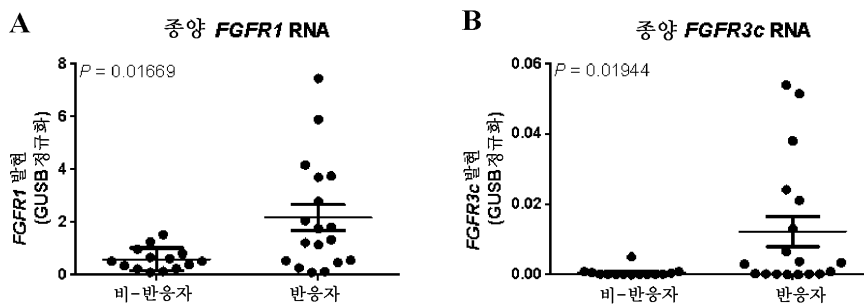
도면7



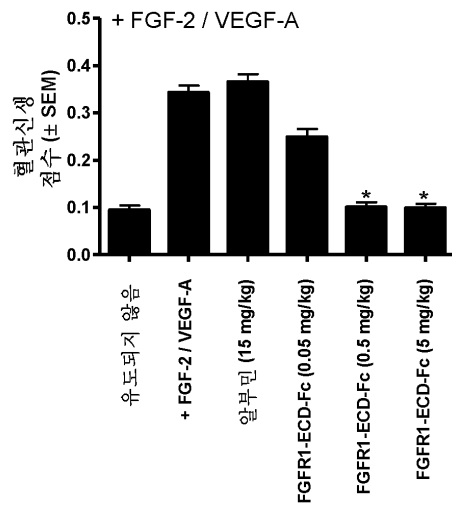
도면8



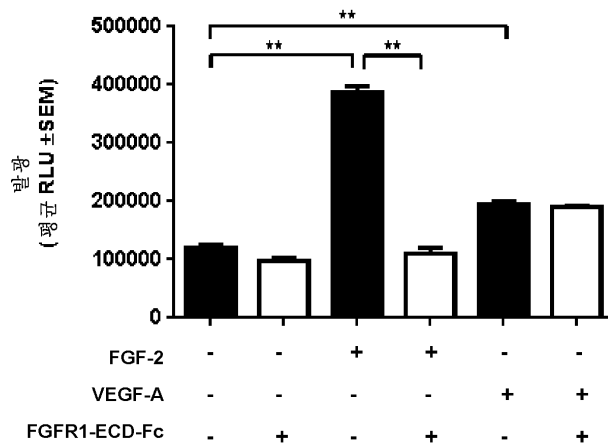
도면9



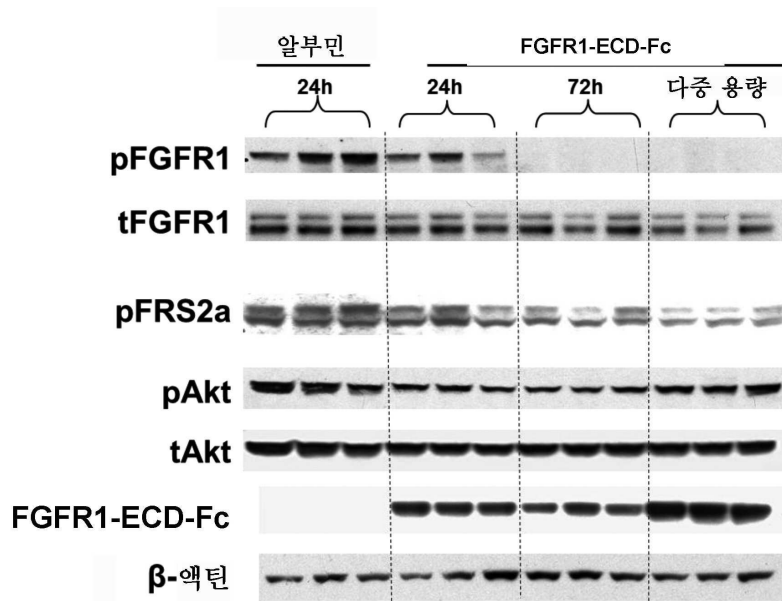
도면10



도면11



도면12



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC.

<120> METHODS OF TREATING CANCER

<130> FPT-33285/WO-1/ORD

<150> US 61/818,220

<151> 2013-05-01

<150> US 61/831,029

<151> 2013-06-04

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 1

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala

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

 Ile Thr Gly Glu Glu Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser
 85 90 95
 Gly Leu Tyr Ala Cys Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr
 100 105 110
 Tyr Phe Ser Val Asn Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp
 115 120 125
 Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr
 130 135 140

 Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu
 145 150 155 160
 Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys
 165 170 175
 Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190
 Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr
 195 200 205

 Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly
 210 215 220
 Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr
 225 230 235 240
 Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu
260 265 270

Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
275 280 285

Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro
290 295 300

Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu
305 310 315 320

Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu
325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala
340 345 350

Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val Met Thr
355 360 365

Ser Pro Leu Tyr Leu Glu
370

<210> 2

<211> 353

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 2

Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln Pro Trp Gly Ala Pro
1 5 10 15

Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly Asp Leu Leu Gln Leu
20 25 30

Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile Asn Trp Leu Arg Asp
35 40 45

Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg Ile Thr Gly Glu Glu
50 55 60

Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys

Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu
 325 330 335

Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu
 340 345 350

Glu

<210> 3

<211> 360

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 3

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala

1 5 10 15

Thr Leu Cys Thr Ala Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln

20 25 30

Pro Trp Gly Ala Pro Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly

35 40 45

Asp Leu Leu Gln Leu Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile

50 55 60

Asn Trp Leu Arg Asp Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Phe Ser Val Asn Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp

115 120 125

Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr

130 135 140

Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu

145 150 155 160

Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys

165 170 175

Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly

180 185 190

Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr

195 200 205

Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly

210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln

245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu

260 265 270

Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu

275 280 285

Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro

290 295 300

Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu

305 310 315 320

Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu

325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala

340 345 350

Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu

355 360

<210> 4

<211> 339

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 4

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

1 5 10 15

Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly Asp Leu Leu Gln Leu

20 25 30

Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile Asn Trp Leu Arg Asp

35 40 45

Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg Ile Thr Gly Glu Glu

50 55 60

Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys

65 70 75 80

Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Phe Ser Val Asn

85 90 95

Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp

100 105 110

Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro

165 170 175

Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile

180 185 190

Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile

195 200 205

Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr Gln Leu Asp Val

210 215 220

Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala

225 230 235 240

Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu Phe Met Cys Lys Val

245 250 255

Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu Lys His Ile Glu Val

260 265 270

Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu

275 280 285

Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Met Glu Val Leu His

290 295 300

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

305 310 315 320

Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu

325 330 335

Glu Ala Leu

<210> 5

<211> 592

<212> PRT

<213> Artificial sequence

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Synthetic

<400> 5

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala

1 5 10 15

Thr Leu Cys Thr Ala Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln

20 25 30

Pro Trp Gly Ala Pro Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly

35 40 45

Asp Leu Leu Gln Leu Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile

50 55 60

Asn Trp Leu Arg Asp Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg

65 70 75 80

Ile Thr Gly Glu Glu Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser
 85 90 95
 Gly Leu Tyr Ala Cys Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr
 100 105 110
 Tyr Phe Ser Val Asn Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp
 115 120 125
 Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr
 130 135 140

 Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu
 145 150 155 160
 Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys
 165 170 175
 Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly
 180 185 190
 Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr
 195 200 205

 Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly
 210 215 220
 Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr
 225 230 235 240
 Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
 245 250 255
 Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu
 260 265 270

 Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
 275 280 285
 Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro
 290 295 300
 Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu
 305 310 315 320
 Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu

| | | |
|---|-----|-----|
| 325 | 330 | 335 |
| Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr | | |
| 355 | 360 | 365 |
| His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser | | |
| 370 | 375 | 380 |
| Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg | | |
| 385 | 390 | 395 |
| 400 | | |
| | | |
| Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro | | |
| 405 | 410 | 415 |
| Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala | | |
| 420 | 425 | 430 |
| Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val | | |
| 435 | 440 | 445 |
| Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr | | |
| 450 | 455 | 460 |
| | | |
| Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr | | |
| 465 | 470 | 475 |
| 480 | | |
| Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu | | |
| 485 | 490 | 495 |
| Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys | | |
| 500 | 505 | 510 |
| Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser | | |
| 515 | 520 | 525 |
| | | |
| Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp | | |
| 530 | 535 | 540 |
| Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser | | |
| 545 | 550 | 555 |
| 560 | | |
| Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala | | |
| 565 | 570 | 575 |

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
580 585 590

<210> 6

<211> 571

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 6

Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln Pro Trp Gly Ala Pro
1 5 10 15

Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly Asp Leu Leu Gln Leu
20 25 30

Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile Asn Trp Leu Arg Asp
35 40 45

Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg Ile Thr Gly Glu Glu

50 55 60
Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys
65 70 75 80

Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Phe Ser Val Asn
85 90 95

Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp
100 105 110

Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val

115 120 125
Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys Met Glu Lys Lys Leu His Ala
130 135 140

Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr
145 150 155 160

Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro
165 170 175

Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 180 | 185 | 190 | |
| Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile | | | |
| 195 | 200 | 205 | |
| Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr Gln Leu Asp Val | | | |
| 210 | 215 | 220 | |
| Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn Val Glu Phe Met Cys Lys Val | | | |
| 245 | 250 | 255 | |
| Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln Trp Leu Lys His Ile Glu Val | | | |
| 260 | 265 | 270 | |
| Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu | | | |
| 275 | 280 | 285 | |
| Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Met Glu Val Leu His | | | |
| 290 | 295 | 300 | |
| Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala | | | |
| 305 | 310 | 315 | 320 |
| Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu | | | |
| 325 | 330 | 335 | |
| Glu Ala Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro | | | |
| 340 | 345 | 350 | |
| Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro | | | |
| 355 | 360 | 365 | |
| Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr | | | |
| 370 | 375 | 380 | |
| Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn | | | |
| 385 | 390 | 395 | 400 |
| Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg | | | |
| 405 | 410 | 415 | |
| Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val | | | |
| 420 | 425 | 430 | |

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

435 440 445
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 450 455 460
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 465 470 475 480
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 485 490 495
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

500 505 510
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 515 520 525
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 530 535 540
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 545 550 555 560
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 565 570

<210> 7

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 7

Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala
 1 5 10 15

Thr Leu Cys Thr Ala

20

<210> 8

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------|--|--|--|-----|--|--|--|-----|--|--|--|--|--|--|--|
| 225 | 230 | | | | | | | | | | | | | | | |
| <210> | 9 | | | | | | | | | | | | | | | |
| <211> | 228 | | | | | | | | | | | | | | | |
| <212> | PRT | | | | | | | | | | | | | | | |
| <213> | Artificial sequence | | | | | | | | | | | | | | | |
| <220><223> | Synthetic | | | | | | | | | | | | | | | |
| <400> | 9 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 5 | | | | 10 | | | | 15 | | | | | | | |
| Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 20 | | | | 25 | | | | 30 | | | | | | | |
| Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 35 | | | | 40 | | | | 45 | | | | | | | |
| His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 50 | | | | 55 | | | | 60 | | | | | | | |
| Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 65 | 70 | | | | 75 | | | | 80 | | | | | | | |
| Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 85 | | | | 90 | | | | 95 | | | | | | | |
| Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 100 | | | | 105 | | | | 110 | | | | | | | |
| Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 115 | | | | 120 | | | | 125 | | | | | | | |
| Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 130 | | | | 135 | | | | 140 | | | | | | | |
| Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 145 | 150 | | | | 155 | | | | 160 | | | | | | | |
| Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 165 | | | | 170 | | | | 175 | | | | | | | |
| Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 180 | | | | 185 | | | | 190 | | | | | | | |
| Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val | | | | | | | | | | | | | | | | |

195 200 205
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220
 Ser Pro Gly Lys
 225
 <210> 10

 <211> 229
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic
 <400> 10
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 1 5 10 15
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 20 25 30
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 35 40 45
 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

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

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

165 170 175
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

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