



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0053865
(43) 공개일자 2014년05월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *C07K 16/30* (2006.01)
C12P 21/08 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2013-7025188
- (22) 출원일자(국제) 2012년02월24일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2013년09월24일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/026602
- (87) 국제공개번호 WO 2012/116317
국제공개일자 2012년08월30일
- (30) 우선권주장
61/446,326 2011년02월24일 미국(US)
61/470,848 2011년04월01일 미국(US)

- (71) 출원인
메리맥 파마슈티컬즈, 잉크.
미국 02139-1670 메사추세츠 캠브리지 원 켄달 스
퀘어 스위트 비7201
- (72) 발명자
장, 보
미국 01940 매사추세츠 린필드 빌리지 로우 14
맥도나, 샬럿
미국 01890 매사추세츠 월체스터 사센트 로드 11
휴할로브, 알렉산드리아
미국 02138 매사추세츠 캠브리지 사크라멘토 스트
리트 #3 47
- (74) 대리인
양부현

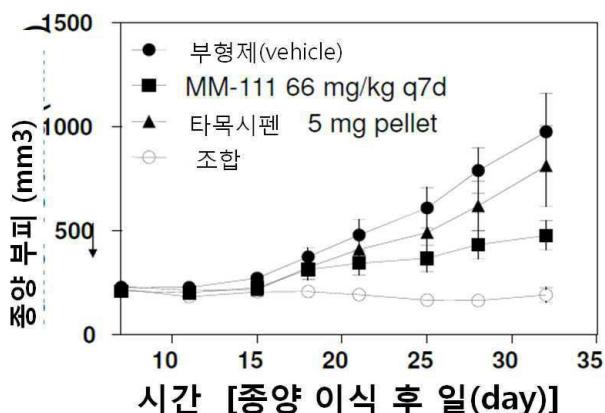
전체 청구항 수 : 총 65 항

(54) 발명의 명칭 항-ErbB2/항-ErbB3제를 포함하는 조합 요법

(57) 요 약

액체내에서 종양(예컨대 악성 종양)의 성장을 억제하기 위한 방법 및 조성물이 개시된다. 특히, i) 항-에스트로겐제의 유효량 또는 ii) 수용체 티로신 키나아제 억제제의 유효량 및 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 유효량 및 선택적으로 트라스투주맙의 유효량을 공동 투여함에 의한 액체내에서 종양을 치료하기 조합 요법이 개시된다. 또한, i) 항-에스트로겐제 또는 ii) 수용체 티로신 키나아제 억제제 및 트라스투주맙의 선택적 사용과 조합한 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 종양 치료에서의 용도를 개시한다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

악성 종양을 가진 객체(subject)를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 객체에 i) 항-에스트로겐제의 유효량 또는 ii) 수용체 티로신 키나아제 억제제의 유효량 및 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 유효량 및 선택적으로 트라스투주맙의 유효량을 공동 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 및 상기 i) 또는 ii) 및 선택적으로 트라스투주맙의 유효량과의 조합은 다음과 같은 특징을 갖는 것을 특징으로 하는 방법: (제1의 농도에서의) 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 및 (제2의 농도에서의) 항-에스트로겐제 또는 (제3의 농도에서의) 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하는 제1의 조직배양배지를 제조하고, 상기 배지는 세포배양내의 세포주의 암세포와 접촉되고, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산이 저해되거나 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이 증가한다.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산이 저해되거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산 보다 더 큰 정도로 증가하거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이, 세포배양내의 세포주의 암세포를 a) 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체를 포함하지 않는 것을 제외하고는 청구항 2 기재의 배지와 필수적으로 동일한 제2의 배지 및 b) 어떠한 항-에스트로겐제를 포함하지 않고 어떠한 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하지 않는 것을 제외하고는 청구항 2 기재의 배지와 필수적으로 동일한 제3의 배지 각각과 접촉시키는 때에 증가하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 2 항 또는 제 3 항에 있어서, 상기 세포주는 BT474-M3인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 2 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 배양은 스페로이드 배양(spheroid culture)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 유효량은 마우스 유효량 또는 인간 유효량인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 유효량은 마우스 유효량이고, 상기 i) 또는 ii) 및 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와의 조합은 다음의 특징을 갖는 것을 특징으로 하는 방법: 측정된 부피의 종양을 갖는 BT474-M3 이종이식 종양을 포함하는 마우스에 공동 투여하는 때에, 상기 조합은 공동 투여의 32일 후에 종양 부피 증가의 억제에 있어서 상기 i) 또는 ii)와의 공동 투여가 없는 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 마우스 유효량의 투여 보

다 더욱 효과적이다.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 트라스투주맙의 마우스 유효량을 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와 공동 투여하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 객체에의 공동 투여는 객체에서 약물-약물 상호작용 매개된 독성을 생성하지 않는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 객체에의 공동 투여는 실질적으로 가산적(additive) 또는 상가적(superadditive) 효과를 생성하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-에스트로겐제는 에스트로겐 수용체 길항제 또는 아로마타제 억제제인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 에스트로겐 수용체 길항제는 폴베스트란트 또는 타목시펜인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제 11 항에 있어서, 상기 아로마타제 억제제는 레트로졸, 엑세메스탄, 아나스트로졸, 아미노글루테티미드, 테스토락톤, 보로졸, 포르메스탄, 또는 파드로졸인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 상기 아로마타제 억제제는 레트로졸인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 A5-HSA-ML3.9, ML3.9-HSA-A5, A5-HSA-B1D2, B1D2-HSA-A5, B12-HSA-B1D2, B1D2-HSA-B12, A5-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-A5, H3-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-H3, F4-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-F4, B1D2-HSA-H3, 및 H3-HSA-B1D2으로 이루어지는 군

으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 1 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 엘로티닙(erlotinib), 아파티닙(afatinib), 다사티닙(dasatinib), 제피티닙(gefitinib), 이마티닙(imatinib), 파조피닙(pazopanib), 라파티닙(lapatinib), 수니티닙(sunitinib), 니로티닙(nilotinib), 또는 소라페닙(sorafenib)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 상기 라파티닙은 14일 투여 스케줄을 포함하는 투여 요법을 통해 투여되며, 상기 라파티닙은 간헐적으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 상기 라파티닙은 14일 투여 스케줄의 1 내지 3일, 1 내지 4일, 1 내지 5일, 1 내지 6일, 또는 1 내지 7일에 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제 20 항에 있어서, 상기 라파티닙은 14일 투여 스케줄의 1 내지 5일에 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

제 19 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 라파티닙은 2000 내지 9000 mg/d의 용량으로 투여되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서, 상기 용량은 3000 mg/day인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

제 19 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 14일 투여 사이클의 1일에 투여되는 라파티닙의 투여는 부하 용량/loading dose)을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

제 1 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, 카페시타빈 및/또는 시스플라틴의 유효량을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체를 사용한 악성 종양의 조합 치료에 있어서, 상기 조합 치료는 i) 항-에스트로겐제 또는 ii) 수용체 티로신 키나아제 억제제의 수반적 사용 및 선택적으로 트라스투주맙의 사용을 포함하는 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 27

제 26 항에 있어서, 상기 항-에스트로겐제는 에스트로겐 수용체 길항제 또는 아로마타제 억제제인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 28

제 26 항 또는 제 27 항에 있어서, 상기 에스토로겐 수용체 길항제는 풀베스트란트 또는 타목시펜인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 29

제 26 항 또는 제 27 항에 있어서, 상기 항-에스트로겐제는 레트로졸, 엑세메스탄, 아나스트로졸, 아미노글루테티미드, 테스토락톤, 보로졸, 포르메스탄, 및 파드로졸로 이루어지는 군으로부터 선택된 아로마타제 억제제인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 30

제 26 항, 제 27항 및 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 아로마타제 억제제는 레트로졸인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 31

제 26 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 32

제 26 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 A5-HSA-ML3.9, ML3.9-HSA-A5, A5-HSA-B1D2, B1D2-HSA-A5, B12-HSA-B1D2, B1D2-HSA-B12, A5-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-A5, H3-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-H3, F4-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-F4, B1D2-HSA-H3, 및 H3-HSA-B1D2으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 33

제 26 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 엘로티닙(erlotinib), 아파티닙(afatinib), 다사티닙(dasatinib), 제페티닙(gefitinib), 이마티닙(imatinib), 파조피닙(pazopanib), 라파티닙(lapatinib), 수니티닙(sunitinib), 니로티닙(nilotinib), 및 소라페닙(sorafenib)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 34

제 26 항 내지 제 33 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 35

제 26 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 있어서, 카페시타빈 및/또는 시스플라틴의 수반적 사용을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 36

제1의 농도에서의 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 및 i) 제2의 농도에서의 항-에스트로겐제 또는 ii) 제3의 농도에서의 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하는 수용액으로서, 제1의 농도에서의 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체, 및 제2의 농도에서의 항-에스트로겐제 또는 제3의 농도에서의 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하는 제1의 조직배양배지가 제조되고, 상기 배지를 세포배양내에서 세포주의 암세포와 접촉하는 때에, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내에서의 pErbB3 생산 또는 pAKT 생산이 억제되거나 또는 배양내에서 세포사멸성 세포의 백분율이 증가하는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 37

제 36 항에 있어서, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산이 억제되거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이 세포배양내의 세포주의 세포를 어떠한 항-에스트로겐제를 포함하지 않고 어떠한 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하지 않는 것을 제외하고 상기 제 15 항의 배지와 필수적으로 동일한 제2의 조직배양배지와 접촉시키는 때 보다 더 낮은 정도로 증가하는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 38

제 36 항에 있어서, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산이 저해되거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이 세포배양내의 세포주의 세포를 어떠한 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체를 포함하지 않는 것을 제외하고 상기 제 15 항의 배지와 필수적으로 동일한 제3의 조직배양배지와 접촉시키는 때 보다 더 낮은 정도로 증가하는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 39

제 36 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서, 제4의 농도에서의 트라스투주맙을 더욱 포함하고, 상기 배지가 제4의 농도에서의 트라스투주맙을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 40

제 36 항 내지 제 39 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포주는 BT474-M3인 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 41

제 36 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 배양은 스페로이드 배양인 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 42

제1의 농도에서의 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 및 i) 제2의 농도에서의 항-에스트로겐제 또는 ii) 제3의 농도에서의 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하는 수용액으로서, 상기 각 농도는 유효 농도이고, 상기 수용액이 객체(선택적으로 인간 환자)에서의 혈장인 경우, 상기 객체는 객체에게 투여되고 있는 치료에서의 변화가 요구되기에 충분한 독성을 경험하지 않으며, 상기 독성은 객체에서 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 및 항-에스트로겐제 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제간의 약물-약물 상호작용에 의해 매개되는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 43

제 36 항 내지 제 42 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항-에스트로겐제는 플베스트란트 또는 타목시펜인 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 44

제 36 항, 제 37 항 및 제 39 항 내지 제 43 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 45

제 36 항, 제 37 항 및 제 39 항 내지 제 44 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 A5-HSA-ML3.9, ML3.9-HSA-A5, A5-HSA-B1D2, B1D2-HSA-A5, B12-HSA-B1D2, B1D2-HSA-B12, A5-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-A5, H3-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-H3, F4-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-F4, B1D2-HSA-H3, 및 H3-HSA-B1D2으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 46

제 36 항 및 제 38 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 엘로티닙(erlotinib), 아파티닙(afatinib), 다사티닙(dasatinib), 제피티닙(gefitinib), 이마티닙(imatinib), 파조피닙(pazopinib), 라파티닙(lapatinib), 수니티닙(sunitinib), 니로티닙(nilotinib), 및 소라페닙(sorafenib)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 47

제 36 항 및 제 38 항 내지 제 46 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙인 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 48

종양세포를 포함하는 악성 종양의 성장을 억제하는 방법으로서, 상기 방법은 종양세포를 제 36 항 내지 제 47 항 중 어느 한 항의 수용액과 접촉시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 49

제 1 항에 있어서, 에스트로겐 수용체 길항제는 풀베스트란트 또는 타목시펜인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 50

제 1 항에 있어서, 상기 아로마타제 억제제는 레트로졸인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 51

제 1 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 52

제 1 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙(lapatinib)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 53

제 1 항에 있어서, 카페시타빈 및/또는 시스플라틴의 유효량을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 54

제 26 항에 있어서, 상기 항-에스트로겐제는 풀베스트란트 또는 타목시펜인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 55

제 26 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 56

제 26 항에 있어서, 상기 아로마타제 억제제는 레트로졸인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 57

제 26 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙인 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 58

제 26 항에 있어서, 카페시타빈 및/또는 시스플라틴의 수반적 사용을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 조합 치료.

청구항 59

제 36 항에 있어서, 상기 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 풀베스트란트 또는 타목시펜인 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 60

제 36 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 61

제 36 항에 있어서, 상기 아로마타제 억제제는 레트로졸인 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 62

제 36 항에 있어서, 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙인 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 63

제 26 항에 있어서, 카페시타빈 및/또는 시스플라틴의 수반적 사용을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 수용액.

청구항 64

악성 종양을 가진 객체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 1) 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 유효량, 2) 트라스투주맙의 유효량, 3) 시스플라틴의 유효량 및 4) 카페시타빈의 유효량을 상기 객체에 공동 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 65

악성 종양을 가진 객체를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 1) 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 유효량, 2) 트라스투주맙의 유효량, 및 3) nab-파클리탁셀의 유효량을 상기 객체에 공동 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 명세서에 개시된 본 발명의 다양한 양태는 암의 치료를 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 유방암의 약 75%는 에스트로겐 수용체(estrogen receptor, ER) 양성이다. 다른 암들도 역시 ER 양성(ER+)이다. 에스트로겐 수용체는 세포분열의 빈도를 증가시킬 수 있고 종양의 성장을 촉진할 수 있는 세포 내 신호전달을 매개한다. 타목시펜(tamoxifen), 풀베스트란트(fulvestrant), 및 레트로졸(letrozole)과 같은 항-내분비치료(anti-endocrine therapy)가 ER+ 유방암 환자의 치료에 있어서 상당한 효과를 나타낸다는 점이 입증되었으나, 이러한 치료에 대한 내인성 또는 후천성 내성은 이들 치료의 성공에 있어서 제한 요인이다. 유방암 및 다른 암에 있어서 인간상피세포 성장인자 수용체 2(HER2 또는 ErbB2)의 증폭이 자주 발생함에 따라 ErbB2를 치료 타겟으로 한 약물에 대한 연구 및 개발이 이루어져 왔다.

- [0003] 항-ErbB2 단클론항체 트라스투주맙(trastuzumab) 및 ErbB1/ErbB2 이중 수용체 티로신 키나아제 억제제 라파티닙(lapatinib) 모두가 임상에서의 성공적 치료에 부합하지만, 다수의 환자들이 이러한 약물의 혜택을 받지 못하고 있다. 또한, 초기에 약물에 반응하던 대부분의 환자들이 이러한 치료를 사용한 연장된 치료 후에 결과적으로 재발하게 될 것이다.
- [0004] ErbB2/ErbB3 혜테로다이머는 상호작용의 강도, 수용체 티로신 인산화에 대한 영향, 및 마이토겐 활성화 단백질 키나아제 및 포스포이노시티드-3 키나아제 경로를 통한 다운스트림 신호전달에 미치는 영향의 관점에서 가장 강력한 ErbB 수용체쌍이다.
- [0005] 헤레굴린(Heregulin)은 ErbB3에 대한 1차 리간드이고, ErbB2/ErbB3 혜테로다이머에 의한 신호전달을 활성화시킨다. 현재 ErbB2-타겟 치료는 헤레굴린 활성화 신호전달을 효과적으로 억제하지 않는다. MM-111은 ErbB2의 생물학적 활성에 특별히 영향을 미치지 않으면서 헤레굴린의 ErbB2/ErbB3에의 결합을 해제하여 헤레굴린에 의한 ErbB2/ErbB3의 활성화를 억제하는 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체이다. HER-2+ 위암, 유방암, 자궁경부암 및 폐암의 전임상 모델에서 MM-111은 ErbB3 인산화, 세포주기 진행 및 종양성장을 억제한다.
- [0006] 따라서, 에스트로겐 수용체 신호전달 활성 또는 ErB1 및 ErbB2 수용체 신호전달 활성의 향상된 억제를 제공하는 치료제 및 치료 전략 뿐만 아니라, ErbB3 활성화(예를 들어, 리간드-유도 활성화)의 향상된 억제를 제공하는 치료제 및 치료 전략에 대한 요구가 존재한다.
- [0007] 암의 치료에서, 다수의 항암 약물 공동 투여(조합 요법)은 종종 단일 요법에 비해 더 좋은 결과를 제공한다. 이러한 결과는 저가산적, 가산적, 또는 상가적 효과일 수 있다. 즉, 각각이 정량화할 수 있는 정도의 혜택을 제공하는 2가지 항암 약물의 조합된 효과는 각 약물의 혜택을 합한 것보다 적거나, 합한 것과 동등하거나 혹은 합한 것보다 더 클 수 있다. 예를 들어, 치사 암을 치료하는데 각각 단독으로 사용하는 경우 무진행 생존을 평균 1년 연장시키는 2가지의 약물을 함께 사용하는 경우, 24개월 연장 보다 작거나(예를 들어 18개월 연장), 약 24개월의 연장이거나, 혹은 24개월 연장 보다 긴 무진행 생존의 연장 효과를 제공하게 된다. 일반적으로는 암 치료를 위한 조합 치료는 상당한 저가산적 효과를 초래한다. 조합 치료의 결과가 가산적 효과에 근접하거나, 가산적이거나 혹은 상가적 효과인 경우가 가장 바람직하지만 이러한 효과들은 매우 드물게 나타난다. 또한, 두 가지의 약물을 함께 투여하는 경우에 많은 약물들은 생물학적 이용가능성을 변경시키거나, 혹은 다른 약물의 안전성 프로파일에 영향을 미치게 된다. 새로운 약물들은 최초로 조합 치료에서 사용되기 때문에, 환자에게서 약물-약물 상호작용에 의해 매개되는 독성을 유발하는 뜻밖의 위험한 약물-약물간 상호작용이 관찰될 수도 있다.
- [0008] 암 치료를 위한 ErbB2/ErbB3 혜테로다이머-타겟된 약제를 투여하는 것을 포함하는 조합 요법을 안전하게 투여하며, 특히 가산적 효과에 근접하거나, 가산적이거나 혹은 상가적 효과를 별휘할 수 있는 조합 요법에 대한 접근 방법이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 ErbB3 활성화의 억제 및 에스트로겐 수용체 활성화의 억제에 효과적인 방법 및 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 ErbB3 활성화의 억제 및 ErB1 및/또는 ErbB2 활성화의 억제에 효과적인 방법 및 조성물을 제공한다. 이러한 방법 및 조성물은 종양, 예를 들어 악성 종양 뿐만 아니라 다른 암의 치료에 유용하다.

과제의 해결 수단

- [0010] 제1의 구현예에서, 본 발명은 악성 종양을 갖는 객체(subject)를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 종양은 ErbB2 발현 또는 ErbB2 과발현 종양(예를 들어, HER++ 또는 HER+++ 종양)일 수 있으며, 상기 종양은 흑색종, 투명세포육종, 두경부종양, 자궁내막종양, 전립선종양, 유방종양, 난소종양, 위종양, 대장종양, 대장직장종양, 폐종양, 방광종양, 췌장종양, 침샘종양, 간종양, 피부종양, 뇌종양 또는 신장종양일 수 있다. 상기 방법은 항-ErbB3제, 예를 들어 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체(예를 들어, 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 항체)의 유효량 및 선택적으로 트라스투주맙의 유효량과 조합하여, 항-에스트로겐제의 유효량 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제의 유효량을 객체에 공동 투여하는 단계를 포함한다.
- [0011] 본 발명의 일 양태에서, 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 및 항-에스트로겐제의 유효량 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제의 유효량 및 선택적으로 트라스투주맙의 유효량과의 조합은 다음과 같은 특징을 갖는다: 제1의 농도에서의 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체(예를 들어, 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 항체) 및

제2의 농도에서의 항-에스트로겐제 또는 제3의 농도에서의 수용체 티로신 키나아제 억제제(예를 들어, 라파티닙)(단, 상기 각 농도는 다른 농도와 서로 동일하거나 상이하다)를 포함하는 제1의 조직배양배지를 제조하고, 상기 배지는 세포배양내의 세포주의 암세포와 접촉되고, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산이 저해되거나 또는 배양내에서의 세포사멸성(apoptotic) 세포의 백분율이 증가한다. 특정의 양태에서, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산이 저해되거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산 보다 더 큰 정도로 증가하거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이, 세포배양내의 세포주의 암세포를 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체를 포함하지 않는 것을 제외하고 제1의 배지와 필수적으로 동일한 제2의 배지 및 어떠한 항-에스트로겐제를 포함하지 않고 어떠한 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하지 않는 것을 제외하고 제1의 배지와 필수적으로 동일한 제3의 배지 각각과 접촉시키는 때 보다 더 낮은 정도로 증가한다.

[0012] 본 발명의 다른 양태에서, 모든 유효량은 마우스 유효량 또는 인간 유효량이다. 본 발명의 다른 양태에서, 모든 유효량은 마우스 유효량이고, 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체(선택적으로 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 항체) 및 항-에스트로겐제의 유효량 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제의 유효량과의 조합은 다음과 같은 특징을 갖는다: 측정된 부피의 종양을 갖는 BT474-M3 이종이식 종양을 포함하는 마우스에 공동 투여하는 때에, 상기 조합은 공동 투여의 32일 후에 종양 부피 증가의 억제에 있어서 항-에스트로겐제의 유효량 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제의 유효량과의 공동 투여가 없는 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 마우스 유효량의 투여 보다 더 효과적이다. 다른 양태에서, 트라스투주맙의 마우스 유효량은 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와 공동 투여된다.

[0013] 제2의 구현예에서, 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체(선택적으로 서열번호 1을 포함하는 항체)의 암(선택적으로 흑색종, 투명세포육종, 두경부종양, 자궁내막종양, 전립선종양, 유방종양, 난소종양, 위종양, 대장종양, 대장직장종양, 폐종양, 방광종양, 췌장종양, 침샘종양, 간종양, 피부종양, 뇌종양 또는 신장종양)치료에 대한 조합 요법이 제공되며, 상기 조합 요법은 항-에스트로겐제 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제의 수반적인 사용 및 선택적으로 트라스투주맙의 수반적인 사용을 포함한다.

[0014] 제3의 구현예에서, 제1의 농도에서의 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체(선택적으로 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 항체) 및 제2의 농도에서의 항-에스트로겐제 또는 제3의 농도에서의 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하는 수용액을 제공한다. 특정의 양태에서, 제1의 농도에서의 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체, 및 제2의 농도에서의 항-에스트로겐제 또는 제3의 농도에서의 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하는 제1의 조직배양배지가 제조되고, 상기 배지를 세포배양내에서 세포주의 암세포와 접촉하는 때에, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내에서의 pErbB3 생산 또는 pAKT 생산이 억제되거나 또는 배양내에서 세포사멸성 세포의 백분율이 증가한다. 특정의 양태에서, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산 보다 더 큰 정도로 증가하거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이, 세포배양내의 세포주의 세포를 어떠한 항-에스트로겐제를 포함하지 않고 어떠한 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함하지 않는 것을 제외하고 제1의 배지와 필수적으로 동일한 제2의 조직배양배지와 접촉시키는 때 보다 더 낮은 정도로 증가한다. 다른 양태에서, 세포성장 또는 세포증식 또는 세포내의 pErbB3의 생산 또는 pAKT의 생산이 저해되거나, 또는 배양내에서의 세포사멸성 세포의 백분율이, 세포배양내의 세포주의 세포를 어떠한 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체를 포함하지 않는 것을 제외하고 제1의 배지와 필수적으로 동일한 제3의 조직배양배지와 접촉시키는 때 보다 더 낮은 정도로 증가한다.

[0015] 다른 양태에서, 상기 수용액은 객체에서의 혈장이고, 상기 객체는 객체에게 투여되고 있는 치료에서의 변화가 요구되기에 충분한 독성을 경험하지 않으며, 상기 독성은 객체에서 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 및 항-에스트로겐제 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제간의 약물-약물 상호작용에 의해 매개된다.

[0016] 다른 양태에서, 상기 수용액은 제4의 농도에서의 트라스투주맙을 더욱 포함하고, 상기 배지도 제4의 농도에서의 트라스투주맙을 포함한다. 다른 양태에서, 상기 방법, 조합 요법, 또는 수용액은 아로마타제(aromatase) 억제제 또는 에스트로겐 수용체 길항제(antagonist)를 포함하지 않는다. 다른 양태에서, 상기 방법, 조합 요법 또는 수용액은 nap-파클리타센(nab-paclitaxel)을 포함한다. 상기 각 구현예 및 양태에서, 항-에스트로겐제는 에스트로겐 수용체 길항제(예를 들어, 풀베스트란트 또는 타목시펜) 또는 아로마타제 억제제(예를 들어, 아로마타제 억제제는 레트로졸, 엑세메스탄(exemestane), 아나스트로졸(anastrozole), 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스토락톤(testolactone), 보로졸(vorozole), 포르메스탄(formestane), 또는 파드로졸

(fadrozole) 이다. 바람직하게는 상기 아로마타제 억제제는 레트로졸이다. 또한 상기 각 구현예 및 양태에서, 수용체 티로신 키나아제 억제제는 엘로티닙(erlotinib), 아파티닙(afatinib), 다사티닙(dasatinib), 제피티닙(gefitinib), 이마티닙(imatinib), 파조피닙(pazopanib), 라파티닙(lapatinib), 수니티닙(sunitinib), 니로티닙(nilotinib) 또는 소라페닙(sorafenib) 이다. 바람직하게는 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙이다. 또한, 상기 각 구현예 및 양태에서, 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 A5-HSA-ML3.9, ML3.9-HSA-A5, A5-HSA-B1D2, B1D2-HSA-A5, B12-HSA-B1D2, B1D2-HSA-B12, A5-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-A5, H3-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-H3, F4-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-F4, B1D2-HSA-H3, H3-HSA-B1D2, 또는 서열번호 1에 개시된 아미노산 서열을 포함하는 항체이다. 상기 각 구현예 및 양태에서, 카페시타빈(capecitabine) 및/또는 시스플라틴(cisplatin)의 사용을 포함한다.

[0017] 상기 각 구현예 및 양태에서, a) 내지 x) 하나 이상이 선택적으로 적용될 수 있다: a) 상기 세포주는 BT474-M3 이다; b) 상기 배양은 스페로이드 배양(spheroid culture)이다; c) 선택적으로 제조자의 지시서에 따라, 파클리탁셀 또는 또 다른 탁산(taxane) 또는 또 다른 화학요법약물이 공동 투여된다; d) 항-에스트로겐제는 제조자의 지시에 따라 투여된다; e) 수용체 티로신 키나아제 억제제는 제조자의 지시에 따라 투여된다; f) 트라스투주맙은 제조자의 지시에 따라 투여된다; g) 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와 항-에스트로겐제의 공동 투여는 가산적 또는 상가적 효과를 생성한다; h) 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와 수용체 티로신 키나아제 억제제(라파티닙)와의 공동 투여는 약 실질적으로 가산적 또는 상가적 효과를 생성한다; i) 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 서열번호 1를 포함하는 항체이고, 아래 실시예 12 및 13에서 기재된 투여 요법(regimen)(예를 들어, 모드, 투여량, 투여 간격, 부하 용량/loading dose), 유지 용량(maintenance doase) 및 투여 계획)중의 어느 하나에 따라 투여된다; j) 상기 라파티닙은 아래 실시예 16에서 기재된 투여 요법(예를 들어, 모드, 투여량, 투여 간격, 부하 용량, 유지 용량 및 투여 계획)중의 어느 하나에 따라 투여된다.

[0018] 본 발명에서 제공되는 바와 같이, 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 (예를 들어 MM-111)는 암을 갖는 인간 환자의 효과적인 치료를 제공하기 위해 하나 이상의 추가 치료제(예를 들어 아로마타제 억제제 또는 티로신 키나아제 억제제)와 함께 공동 투여된다.

[0019] 용어 “항-ErbB3체”는 ErbB3에 결합하거나, ErbB3 특이적 리간드에 결합하거나, 또는 ErbB3의 발현을 억제함으로써 ErbB3에 의해 매개되는 세포 신호전달의 활성을 억제하는 임의의 치료제를 지칭한다. 항-ErbB3체의 형태의 비제한적 예는 항체, 이중특이성 항체, 리간드 유사체, ErbB3의 가용성 형태 또는 ErbB3 엑토도메인, ErbB3 특이적 RNAi 분자, 및 유사한 생물학적 약제를 포함한다.

[0020] 용어 “항체”는 특정 항원, 예를 들어 ErbB3에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체-유래 항원 결합 자리 [예를 들어, VH/VL 영역 또는 Fv, 또는 CDR(complementarity determining region)]를 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다.

[0021] “항체”는 전체 항원 및 항원 결합 단편, 예를 들어 Fab 또는 Fv 또는 단일쇄단편 (예를 들어 scFv) 뿐만 아니라 이중특이성 항체 및 유사한 가공된 변이체, 인간 항체, 인간화 항체, 키메릭 항체들 Fabs, Fab' 2s, ScFvs, SMIPs, 아피바디(Affibodies), 나노바디(nanobodies), 또는 도메인 항체, 및 하기 임의의 이소타입: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD, 및 IgE을 포함한다. 상기 항체는 천연 항체이거나 또는 변형(예를 들어, 돌연변이, 결실, 치환, 비-항체 부분에 컨쥬케이션)된 항체일 수 있다. 예를 들어, 항체는 항체의 특성(예를 들어 기능적 특성)을 변화시키는 하나 이상의 (천연의 항체와 비교하여) 변이된 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들어, 환자에서 예를 들어 반감기, 이펙터(effector) 기능, 및/또는 항체에 대한 면역반응에 영향을 미치는 상기와 같은 다양한 변이는 당업계에 공지되어 있다. 따라서 용어 “항체”는 전체 항체 및 이들이 항체의 결합 특이성을 유지하고 있다는 조건하에 임의의 항원 결합 단편(즉, “항원-결합 부분”, 예컨대 Fabs) 또는 이들의 단일쇄 뿐만 아니라 이중특이성 항체 및 유사한 가공된 변이체를 포함한다.

[0022] “항-ErbB3 항체”는 ErbB3의 엑토도메인(ectodomain)에 면역특이적으로 결합하는 항체이고, “항-ErbB2 항체”는 ErbB2의 엑토도메인에 면역특이적으로 결합하는 항체이다. 항체는 단리된 항체일 수 있다. 그러한 ErbB3 또는 ErbB2에의 결합은 표면 플라즈몬 공명 분석법 또는 세포 결합 분석법에 의해 측정하여 50 nM 보다 크지 않은 Kd 값을 나타낸다. 예시적 항-ErbB3 항체는 EGF-유사 리간드 매개된 ErbB3의 인산화를 억제하며, 예컨대, 헤레굴린의 ErbB2/ErbB3 혜테로다이머로의 결합을 저해하는 항-ErbB2 항체. EGF-유사 리간드는 일반적으로 ErbB1에 결합하여 ErbB1과 ErbB3의 혜테로다이머화를 유도하는, EGF, TGF α , 베타셀룰린(betacellulin), 혼파린결합성 상피세포 성장인자, 비레굴린(biregulin), 에피겐(epigen), 에피레굴린(epiregulin), 및 암피레굴린(amphiregulin)을 포함한다.

- [0023] 본 명세서에서 사용된 용어 “이중 특이성 항체”는 제1의 항원 또는 에피토프에 면역특이적 결합을 나타내는 제1의 결합자리 및 제1의 항원과 구별되는 제2의 항원 또는 에피토프에 면역특이적 결합을 나타내는 제2의 결합자리로서 2개의 항원 결합 자리를 포함하는 단백질을 의미한다. “항-ErbB2/항-ErbB3 이중특이성 항체”는 ErbB3의 엑토도메인에 면역특이적으로 결합하는 하나의 결합자리 및 ErbB2의 엑토도메인에 면역특이적으로 결합하는 다른 하나의 결합자리인 2개의 결합자리를 포함하는 항체이다. 바람직하게는 이중특이성 ErbB3, ErbB2 항체는 서열번호 1을 포함하는 항체이다.
- [0024] 본 명세서에서 사용되는 “항-에스트로겐제”는 에스트로겐의 생성을 방지하거나 감소시키는 또는 에스트로겐 수용체에 의해 매개되는 신호전달을 방지하거나 감소시키는 약제를 의미한다. 항-에스트로겐제는 에스트로겐 수용체 길항제 및 아로마타제 억제제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 에스트로겐 수용체 길항제는 라록시펜(raloxifene), 풀베스트란트(fulvestrant), 타목시펜(tamoxifen), 아피목시펜[afimoxifene, 4-hydroxytamoxifen], 아르족시펜(arzoxifene), 토레미펜(toremifene), 및 라소폭손(lasoxolone)을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 바람직하게는, 에스트로겐 수용체 길항제는 타목시펜 또는 풀베스트란트이다. 아로마타제 억제제는 동물(예컨대 마우스 또는 인간)에서 에스트로겐의 합성을 차단함으로써 작용한다. 이는 동물에서 에스트로겐 수준을 감소시키고, 이를 통해 에스트로겐 유발성 암의 성장을 저해한다. 아로마타제의 예로는 엑세메스탄(exemestane), 아나스트로졸(anastrozole), 레트로졸(letrozole), 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스토락톤(testolactone), 보로졸(vorozole), 포르메스탄(formestane), 및 파드로졸(fadrozole)을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 바람직하게는 상기 아로마타제 억제제는 엑세메스탄 또는 레트로졸이다.
- [0025] “암”은 비정상적이고, 조절되지 않으며 악성인 임의의 세포의 성장 상태를 의미한다.
- [0026] “악성 종양”은 종양의 형태를 취하는 임의의 암을 의미한다.
- [0027] 용어 “유효량”은 원하는 효과, 예컨대 객체내에서 질병을 개선하는 효과를 달성하기에 효과적인 약물의 양을 지칭한다.
- [0028] 질병이 암인 경우, 약물의 유효량은 다음의 특징 중의 하나 이상을 억제(예컨대 어느 정도 늦추거나, 억제하거나 또는 중지) 할 수 있다: 암세포 성장, 암세포 증식, 암세포 이동성, 암세포의 주변 기관안으로의 침투, 종양 전이 및 종양 성장. 질병이 암인 경우, 약물의 유효량은 객체에게 투여되는 때에 다음의 특징 중의 하나 이상을 변경할 수 있다: 종양 성장의 지연 또는 중지, 종양 크기의 감소(예컨대 부피 또는 질량); 암과 관련된 증상들 중의 하나 이상을 어느 정도로 완화, 무진행 생존의 연장, (부분 반응 또는 완전 반응을 포함) 객관적 반응 결과, 및 전체 생존시간의 증가. 약물이 존재하는 암세포의 성장을 억제하거나 암세포를 사멸시키는 정도인 경우 이는 세포증식억제성 및/또는 세포독성이다.
- [0029] “마우스 유효량”은 객체가 마우스인 경우에서의 원하는 효과를 달성하는 데 효과적인 약물의 양을 의미한다.
- [0030] “인간 유효량”은 객체가 인간인 경우에서의 원하는 효과를 달성하는 데 효과적인 약물의 양을 의미한다.
- [0031] 용어들 “조합 요법(combination therapy)”, “조합 사용”, “공동 투여”, “공동 투여하는 것”, “공통 투여되는 것” 등은 적어도 2가지의 치료제를 객체에 동시에 투여하거나 또는 늦게 투여되는 치료제를 투여하는 때에는 먼저 투여되는 치료제의 효과가 객체내에서 여전히 작동하고 있는 시간의 기간 내에 투여하는 것을 의미한다.
- [0032] 본 명세서에서 사용된 “수용체 티로신 키나아제 억제제”는 수용체 티로신 키나아제를 특이적으로 저해함으로써 다양한 신호전달경로의 활성화를 감소시키거나 차단하는 약물 군의 하나의 일원을 의미한다.
- [0033] 본 명세서에 개시된 바와 같이 암의 치료에 유용한 수용체 티로신 키나아제 억제제는 소분자 저해제인 엘로티닙(erlotinib), 아파티닙(afatinib), 다사티닙(dasatinib), 제피티닙(gefitinib), 이마티닙(imatinib), 파조피닙(pazopanib), 라파티닙(lapatinib), 수니티닙(sunitinib), 니로티닙(nilotinib) 및 소라페닙(sorafenib)을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 수용체 티로신 키나아제는 세툭시맙(cetuximab), 패니투무맙(panitumumab), 잘루투무맙(zalutumumab), 니모투주맙(nimotuzumab), 및 마투주맙(matuzumab)과 같은 항체 기반 치료제도 포함한다. 바람직하게는 상기 수용체 티로신 키나아제 억제제는 라파티닙이다.
- [0034] “투여량” 또는 “투여 요법(dosing regimen)”은 단위 시간당(예컨대, 시간당, 일당, 주당, 월당 등) 규정된 양으로 환자에게 약물을 투여하기 위한 파라미터를 지칭한다. 그러한 파라미터는 예를 들어 각 투여량의 크기를 포함한다. 상기 파라미터는 또한 예를 들어 단일 투여로 섭취되거나 하나 또는 그 이상의 유닛으로서, 예를

들어 경구(예컨대 하나, 둘, 셋 또는 그 이상의 정제, 캡슐 등) 또는 주사[예컨대, 볼루스(bolus)]로서 투여될 수 있는 것과 같은 각 투여량의 배열 형태도 포함한다. 투여량 크기는(예컨대 수분 또는 수시간의 기간에 걸친 정맥내 주입) 연속적으로 투여되는 투여량과 관련될 수 있다. 그러한 파라미터는 별개의 투여량의 투여의 빈도로서, 시간에 걸쳐 변화될 수 있는 빈도를 추가적으로 포함한다. “투여 사이클” 또는 “투여 간격”은 투여 요법을 위한 치료의 한 사이클(예컨대 21일 또는 28일)을 포함하는 시간의 기간이다. “투여량”은 단일의 투여에서 주어지는 약물의 양을 의미한다.

[0035] 세포주의 바람직한 암세포는 ErbB2 과발현 세포주와 같은 ErbB2 발현 세포주이며, 예컨대, BT474-M3 (ATCC# CRL- HTB-20™, 유관 암세포로부터 유래된 세포), BT474-M3-Aro (인간 아로마타제를 안정하게 발현하는 BT474-M3 세포), ZR75-30 (ATCC# CRL-1504™, 유관 암세포로부터 유래된 세포), SKOV-3 (ATCC# HTB-77™, 전이성 난소선암세포로부터 유래한 세포), MCF7 (ATCC# HTB-22™) clone 18, MDA-MB-453 (ATCC# HTB-131™, 유방암세포로부터 유래한 세포), SK-BR-3 (ATCC# HTB-30™, 유방 선암세포로부터 유래한 세포), 및 NCI-N87 (ATCC# CRL-5822™, 위암 세포로부터 유래한 세포)를 포함한다. 암은 예를 들어 육종(예컨대, 투명세포육종)과 같은 고형암, 암종(예컨대, 신장암), 및 텁프종; 유방종양, 대장종양, 직장종양, 폐종양, 인두종양, 하인두종양, 식도종양, 위종양, 췌장종양, 간종양, 담낭종양, 담도종양, 소장종양, 비뇨기계 종양(신장, 방광, 및 요로 상피에서의 종양을 포함), 여성 생식기계 종양(자궁경부종양, 자궁종양, 난소종양, 음모종, 임신성 음모종을 포함), 남성 생식기계 종양(전립선, 정낭, 및 고환에서의 종양을 포함), 내분비선종양(갑상선, 부신, 및 뇌하수체에서의 종양을 포함), 피부종양(혈관종, 흑색종, 뼈 혹은 연조직으로부터 유래한 육종, 및 카포시 육종을 포함), 뇌 및 수막 종양(성상세포종, 신경절교종, 해면교아종, 망막아세포종, 신경종, 신경아세포종, 신경초종, 및 신경아세포종을 포함), 신경 종양 및 눈에서의 종양을 포함한다. 암은 에스트로겐 수용체 양성(ER+) 암일 수 있다. 그러한 암은 항-에스트로겐제를 포함하는 치료 요법을 위한 후보물질을 전형적으로 예시한다. 그러한 암은 일정의 유방암, 난소암, 자궁암, 자궁내막암, 폐암, 뼈암, 뇌암, 방광암, 간암 및 비뇨 생식기암을 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0036] 암은 ErbB2 유전자 증폭된 암 및/또는 ErbB2-발현 또는 ErbB2-과발현 암일 수 있다. HER2 또는 Neu으로도 알려진 ErbB2는 이의 세포내 티로신 키나아제 활성을 통해 세포내 신호(예컨대 리간드 활성화에 의해)를 발생시킬 수 있는 세포 표면의 막통과 수용체 단백질이다. 과도한 경우, 그러한 신호는 예컨대 세포 분열을 촉발함으로써 종양생성을 촉진할 수 있다. ErbB2 유전자는 비제한적 예로서 유방암, 난소암, 자궁내막암, 췌장암, 직장암, 전립선암, 침샘암, 신장암 및 폐암을 포함하는 많은 형태의 인간 악성종양에서 증폭 및/또는 과발현된다. ErbB2 과발현 암은 ErbB2 과발현 수준에 따라 HER2+++ 또는 HER2++으로 표시되며, HER2+++는 가장 높은 수준의 HER2 발현을 지시한다. HER2+++ 및 HER2++ 상태는 일반적으로 면역조직화학과 같은 면역분석법, 예를 들어 Herceptest에 의해 측정된다. ErbB2 유전자 증폭은 예컨대 FISH (fluorescence in situ hybridization)에 의해 측정될 수 있으며, HER2-증폭된 암세포는 HER2-증폭되는 둘 이상의 HER2 유전자 카페를 가지며, HER2-증폭된 세포 및/또는 종양은 FISH 양성”으로 지칭된다. scFv HSA 컨쥬게이트인 다수의 이중특이성 항-ErbB2, 항-ErbB3 항체는 미국공개특허 No. 2011-0059076, 및 PCT 공개특허 Nos. WO2009/126920 및 WO 2010/059315에 기재되어 있으며, 이를 각각은 이의 전체로 참조로서 본 명세서에 삽입되며, 이를 각각은 MM-111 (B2B3-1으로도 지칭됨) 및 scFv HSA 컨쥬게이트이고 본 명세서에서 제공된 방법 및 조성물에서의 사용에 적합한, A5-HSA-ML3.9, ML3.9-HSA-A5, A5-HSA-B1D2, B1D2-HSA-A5, B12-HSA-B1D2, B1D2-HSA-B12, A5-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-A5, H3-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-H3, F4-HSA-F5B6H2, F5B6H2-HSA-F4, B1D2-HSA-H3, 및 H3-HSA-B1D2의 구성성분을 포함한 다른 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체를 공개한다. 다른 적합한 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체는 미국특허 7,332,580 및 7,332,585에 공개되고 특허청구되어 있으며, 이를 문헌은 참조로서 본 명세서에 삽입된다. MM-111는 현재 진행된 난치성 HER2 양성 암 환자에서의 오픈 라벨 단계 1/2 및 MM-111의 약물학적 연구, 진행된 HER2 양성 유방암 환자에서 트라스투주맙(Herceptin)과 조합한 MM-111의 오픈 라벨 단계 1/2 시험, 및 다음의 세가지의 상이한 치료와 조합한 MM-111의 오픈 라벨 단계 1/2 및 약물학적 연구: 시스플라틴, 카페시타빈 및 트라스투주맙과 조합된 MM-111, 라파티닙 및 트라스투주맙과 조합된 MM-111, 및 파클리탁센 및 트라스투주맙과 조합된 MM-111를 포함하여 임상시험중에 있다.

[0037] 이중 특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 (예컨대 MM-111)는, 악성 종양에 대한 방사선 치료 또는 악성 종양을 제거하기 위한 외과적 중재의 이전에(예컨대 신보조 항암요법), 동시에, 또는 이후에(예컨대 수술후 보조요법), 다른 치료제(예컨대 항-에스트로겐 수용체제 또는 수용체 티로신 키나아제 억제제)와 함께 공동 투여될 수 있다. 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와의 조합에 적합한 추가 치료제는 추가적으로 다음을 포함한다: 1) 단클론 항체 EGFR 억제제[예컨대, 세특시맙(cetuximab), 폐니투무맙(panitumumab), 잘루투무맙(zalutumumab), 니모투주맙(nimotuzumab), 및 마투주맙(matuzumab)], PKI-166, PD-158780, EKB-569, Tyrphostin AG 1478, 및 pan-HER 키

나아제 억제제[예컨대 CI-1033 (PD 183805), AC480, HM781-36B, AZD8931 및 PF299804]과 같은 추가적인 소분자 티로신 키나아제 억제제; 2) 미세소관 안정화제[예컨대, 라우리말리드(laulimalide), 에포티론 A(epothilone A), 에포티론 B(epothilone B), 디스코더모리드(discodeermolide), 엘레우터로빈(eleutherobin), 사르코딕틴 A(sarcodictyin A), 사르코딕틴 B, 파클리탁셀, nab-파클리탁셀 또는 도세탁셀]; 5-플루오로우라실(5-FU) 및 카페시타빈과 같은 대사길항물질; 및 옥살리플라틴(oxaliplatin), 카르보플라틴(carboplatin) 및 시스플라틴과 같은 백금 기반 치료제. 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와의 조합에 적합한 치료제의 추가 예는 하기 표 7 및 부록 (appendix)에서 찾을 수 있다.

[0038] MM-111는 대량생산 및 전신치료 모두에 적합하다. MM-111는 ErbB2/ErbB3 헤테로다이머에 결합하고, ErbB2 및 ErbB3와 트라이머 복합체를 형성하여 ErbB3 신호전달을 효과적으로 억제한다. MM-111의 항종양 활성을 ErbB2 및 ErbB3 모두의 존재가 요구되지만, 특히 ErbB2 발현에 의존적이다. 이의 ErbB2 항원 결합자리의 친화도는 이의 ErbB3 항원 결합 자리의 친화도보다 약 30배 높지만, ErbB2 항원 결합 자리는 ErbB2에 결합할때에 그 자체로서 ErbB2 활성을 억제하지 않는다.

[0039] MM-111이 ErbB2에 강하게 결합하는 경우 ErbB3 항원 결합 자리는 결합된 ErbB2/ErbB3 헤�테로다이머에 매우 근접한 위치에 있게 되어, 결과적으로 ErbB3 항원 결합 자리가 헤�테로다이머 ErbB3에의 결합을 더욱 강력하게 하는 결합효과를 초래하여, 이에 의해 생물학적 효과가 생성된다. MM-111는 인간 객체(환자)에게 측정된 일(day)의 간격에서 적어도 20 mg/kg의 MM-111의 단일 부하 용량/loading dose)으로서 적어도 7일 간격(예컨대 매 2주마다)으로, MM-111의 단일 유지 용량(maintenance dose)의 적어도 하나의 투여에 의해 투여되며, 상기 유지 용량은 일반적으로 상기 부하 용량 보다 작으며, 예컨대 부하 용량 보다 적어도 5 mg/kg이 작다.

발명의 효과

[0040] 객체내에서 종양(예컨대 악성 종양)의 성장을 억제하기 위한 방법 및 조성물이 개시된다. 특히, i) 항-에스트로겐제의 유효량 또는 ii) 수용체 티로신 키나아제 억제제의 유효량 및 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 유효량 및 선택적으로 트라스투주맙의 유효량을 공동 투여함에 의한 객체내에서 종양을 치료하기 조합 요법이 개시된다. 또한, i) 항-에스트로겐제 또는 ii) 수용체 티로신 키나아제 억제제 및 트라스투주맙의 선택적 사용과 조합한 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체의 종양 치료에서의 용도를 개시한다.

도면의 간단한 설명

[0041] 도 1은 MM-111 및 타목시펜의 조합이 MM-111 또는 타목시펜의 단독 투여 보다 인 비보 종양 성장의 억제가 더욱 우수한 것을 보여주는 그래프이다. x-축은 종양 이식 후의 시간을 일(day)로 나타내었으며, y-축은 종양 부피를 mm³의 단위로 나타내었다. 마우스는 BT474-M3 세포 이식 후 7일부터 억제제로 처리하였다.

도 2는 인 비트로에서 에스트로겐 자극된 스페로이드 성장을 억제하는데 있어서 MM-111가 항-에스트로겐 약물과 양성적으로 조합되는 결과를 보여주는 7개의 그래프이다. 도 2a는 MM-111, 타목시펜(4-히드록시타목시펜, 4OHT), 또는 MM-111 및 타목시펜이 인 비트로 스페로이드 성장에 미치는 효과를 보여준다. 도 2b는 트라스투주맙, 타목시펜, 또는 트라스투주맙 및 타목시펜의 효과를 보여준다. 도 2c는 MM-111, 폴베스트란트(FVT), 또는 MM-111 및 폴베스트란트의 효과를 보여준다. 도 2d는 트라스투주맙, 폴베스트란트, 또는 트라스투주맙 및 폴베스트란트의 효과를 보여준다. 도 2e는 MM-111, 트라스투주맙, 또는 MM-111 및 트라스투주맙의 효과를 보여준다. 도 2f는 MM-111, 트라스투주맙, 및 타목시펜의 조합의 효과를 이들 약물 중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교하여 보여준다. 도 2g는 MM-111, 트라스투주맙, 및 폴베스트란트의 조합의 효과를 이들 약물 중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교하여 보여준다. x-축은 각 실험조건에서 각 약물 농도를 로그(log) 스케일로서 nM 단위로 표시하였고, y-축은 스페로이드의 크기를 대조군 스페로이드 크기에 대한 %로서 표시하였다.

도 3은 인 비트로에서 헤레굴린(heregulin, HRG)-자극된 스페로이드 성장에 대해 MM-111이 항-에스트로겐 약물과 양성적으로 조합되는 결과를 보여주는 7개의 그래프이다. 도 3a는 MM-111, 타목시펜(4-히드록시타목시펜, 4OHT), 또는 MM-111 및 타목시펜의 효과를 보여준다. 도 3b는 트라스투주맙, 타목시펜, 또는 트라스투주맙 및 타목시펜의 효과를 보여준다. 도 3c는 MM-111, 폴베스트란트(FVT), 또는 MM-111 및 폴베스트란트의 효과를 보여준다. 도 3d는 트라스투주맙, 폴베스트란트, 또는 트라스투주맙 및 폴베스트란트의 효과를 보여준다. 도 3e는 MM-111, 트라스투주맙, 또는 MM-111 및 트라스투주맙의 효과를 보여준다. 도 3f는 MM-111, 트라스투주맙 및 타목시펜의 조합의 효과를 이들 약물중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교하여 보여준다. 도 3g는 MM-111, 트라스투주맙, 및 폴베스트란트의 조합의 효과를 이들 약물 중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교하여 보여준다.

x-축은 각 실험조건에서 nM 단위의 각 약물 농도를 로그(log) 스케일로 표시하였고, y-축은 스페로이드의 크기를 대조군 스페로이드 크기에 대한 %로서 표시하였다.

도 4는 인 비트로에서 이중 리간드(에스트로겐 및 헤레굴린)-자극된 스페로이드 성장에 대해 MM-111이 항-에스토로겐 약물과 양성적으로 조합되는 결과를 보여주는 7개의 그래프이다. 도 4a는 MM-111, 타목시펜, 또는 MM-111 및 타목시펜의 효과를 보여준다. 도 4b는 트라스투주맙, 타목시펜, 또는 트라스투주맙 및 타목시펜의 효과를 보여준다. 도 4c는 MM-111, 폴베스트란트(FVT), 또는 MM-111 및 폴베스트란트의 효과를 보여준다. 도 4d는 트라스투주맙, 폴베스트란트, 또는 트라스투주맙 및 폴베스트란트의 효과를 보여준다. 도 4e는 MM-111, 트라스투주맙, 또는 MM-111 및 트라스투주맙의 효과를 보여준다. 도 4f는 MM-111, 트라스투주맙, 및 타목시펜의 조합의 효과를 이들 약물 중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교하여 보여준다. 도 4g는 MM-111, 트라스투주맙, 및 폴베스트란트의 조합의 효과를 이들 약물중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교하여 보여준다. x-축은 각 실험 조건에서 nM 단위로의 각 약물 농도를 로그(log) 스케일로 표시하였고, y-축은 스페로이드의 크기를 대조군 스페로이드 크기에 대한 %로서 표시하였다.

도 5는 인 비트로에서 단일 리간드(에스트로겐 또는 헤레굴린) 또는 이중 리간드(에스트로겐 및 헤레굴린) 자극된 스페로이드 성장을 억제하는 효과에 있어서, MM-111, 트라스투주맙, 및 타목시펜의 조합의 효과를 이들 약물 중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교한 결과 또는 MM-111, 트라스투주맙, 및 폴베스트란트의 조합의 효과를 이들 약물중의 2가지 약물의 조합의 효과와 비교한 결과를 요약하여 보여주는 그래프이다. y-축은 자극된 대조군에 대해 정규화(normalize)한 스페로이드 크기의 % 억제를 표시한다.

도 6은 MM-111 및 라파티닙의 조합이 인 비보에서 종양 성장을 억제하는 결과를 보여주는 그래프이다. x-축은 종양이식 후의 시간을 일(day)로 표시하였고, y-축은 종양의 부피를 mm^3 으로 표시하였다. 마우스는 종양이식 후 7일에 억제제로 처리하였다.

도 7은 헤레굴린-자극된 세포에서의 ErbB3 및 AKT의 활성화를 억제하는 라파티닙의 능력을 평가한 것이다. 도 7a는 컴퓨터에 의해 생성된 용량-반응 곡선(dose-response curve)을 헤레굴린-자극된 BT474-M3 세포에서의 실험 결과와 비교한 그래프이다. 도 7b는 헤레굴린-자극된 세포 및 자극 없는 세포에서 억제제와 함께 1시간 인큐베이션 한 후에 ErbB3 및 AKT 활성화를 억제하는 라파티닙의 효과(IC50)를 보여주는 그래프이다.

도 8은 헤레굴린-자극된 세포를 억제제와 함께 15분, 1시간, 4시간, 및 24시간 동안 인큐베이션한 후의 ErbB3 (도 8a) 또는 AKT(도 8b)의 활성화를 억제하는 MM-111 또는 라파티닙의 효과를 보여주는 연속 그래프이다. 도 8c는 BT474M3 세포 및 ZR75-30 세포에 대해 1시간 및 24시간에서 MM-111 및 라파티닙의 IC50 값을 비교하여 보여준다.

도 9는 헤레굴린-자극된 BT474-M3 세포에서 AKT 활성화에 대한 MM-111 및 라파티닙의 조합의 효과를 보여주는 그래프이다.

도 10은 자극되지 않은 BT474-M3 세포 및 헤레굴린-자극된 BT474-M3 세포에 대해 세포증식을 측정한 세포 생존 능에 대해 미치는 라파티닙의 효과를 보여주는 그래프이다.

도 11은 MM-111, 라파티닙, 또는 이들의 조합이 BT474-M3 세포의 세포사멸(apoptosis)에 미치는 효과를 보여주는 그래프이다. 사멸된 세포, 세포사멸 후기에 있는 세포, 세포사멸 초기에 있는 세포 및 생존한 세포의 수를 각각 정량하였다.

도 12는 인 비트로에서 이중 리간드[에스트로겐(E2) 및 헤레굴린(HRG)] 자극된 스페로이드의 성장을 억제하는데 있어서, MM-111이 항-에스토로겐 약물 및 라파티닙과 양성적으로 조합되는 것을 보여주는 3개의 그래프이다. 도 12a는 라파티닙 단독 또는 라파티닙 및 폴베스트란트(FVT)의 조합의 효과를 보여준다. 도 12b는 라파티닙 단독 또는 라파티닙 및 MM-111의 조합의 효과를 보여준다. 도 12c는 라파티닙 단독, MM-111 및 폴베스트란트의 조합, 또는 M-111, FVT 및 라파티닙의 3종 조합의 효과를 보여준다. 라파티닙은 3.3 nM, 10 nM, 또는 30 nM의 투여량으로 주어졌다. x-축은 nM 단위의 MM-111 및/또는 FVT 농도 각각을 로그(log) 스케일로 표시하였다. y-축은 대조군(FBS 단독) 스페로이드 크기에 대한 %로서의 스페로이드 크기로 표시하였다.

도 13은 안드로스텐다이온을 에스트로겐으로 전환하는 인간 아로마타제를 억제하게 발현하는 헤레굴린(HRG) 및 안드로스텐다이온(A4)-자극된 BT474-M3-Aro 세포에서, 아로마타제 억제제 레트로졸 및 티로신 키나아제 억제제 라파티닙과 양성적으로 조합되는 MM-111을 보여주는 4개의 그래프이다. 도 13a는 레트로졸, MM-111 또는 레트로졸 및 MM-111의 조합의 효과를 보여준다. 도 13b는 라파티닙, MM-111, 또는 라파티닙 및 MM-111의 조합의 효

파를 보여준다. 도 13c는 라파티닙, 레트로졸, 또는 라파티닙 및 레트로졸의 조합의 효과를 보여준다. 도 13d는 MM-111 및 레트로졸, MM-111 및 라파티닙, 라파티닙 및 레트로졸의 이중 조합, 및 MM-111, 라파티닙 및 레트로졸의 3중 조합의 효과를 보여준다. x-축은 nM 단위의 MM-111 농도를 로그(log) 스케일로 표시하였다. 약물 농도는 MM-111:레트로졸:라파티닙이 10:20:1의 비율이다. y-축은 대조군 스페로이드 크기에 대한 %로서의 스페로이드 크기로 표시하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042]

하기 실시예들은 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이를 실시예에 의해 제한되지 않는 다. 본 출원에서 기술은 다양한 비-중요성 파라미터들을 기꺼이 인지할 것이며, 동일하거나 유사한 결과를 필수적으로 산출하기 위해 변경 또는 변형 될 수 있다.

[0043]

항-에스트로겐 치료제와 MM-111의 조합

[0044]

방법:

[0045]

종양구(spheroid, 스페로이드) 인 비트로 종양 모델 어세이

[0046]

BT474-M3 야생형 세포(2,000 세포/웰)를 울트라 로우 클러스터 96-웰 플레이트(Costar)에 플레이팅하였다. 하룻밤 배양한 후, 지시하는 바와 같이 플레이트에 처리하였다. 세포는 6일간 계속 배양하였다. 종양구(스페로이드)는 Nikon 현미경으로 검사한 다음, MetaMorph Image Analysis Software (Molecular Devices)를 이용하여 분석하였다. 10% FBS를 포함하는 배지에서 배양한 세포의 종양구 사이즈를 대조군으로 사용하였다.

[0047]

이종이식(Xenograft) 모델

[0048]

BT474-M3 세포(마우스 당 2×10^7 세포)를 Nu/Nu 면역결핍 마우스에 피하주사하였으며, 마우스에는 실험 하루 전 에스트로겐 펠렛(0.72 mg; 60일 방출)을 이식하였다. 종양은 7일 후 측정하였으며, 마우스는 무작위적으로 4 개군으로 분류하였다: 각각 플라시보 처리군, MM-111(60 mg/kg. Q7D) 처리군, 4-OHT(hydroxytamoxifen)(5 mg; 60일 방출 펠렛) 처리군 및 MM-111 및 4-OHT 조합 처리군. 종양은 3일마다 측정하였으며, 실험은 32일째에 종료하였다.

[0049]

실시예 1: MM-111 및 타목시펜 조합은 인 비보에서 종양의 성장을 억제한다.

[0050]

인 비보에서 종양 성장에 대한 MM-111 및 타목시펜 조합 치료법의 효과를 비교하기 위해, 상술한 방법 또는 그 것의 변형된 방법을 이용하여 이종이식 모델로서 에스트로겐 자극 마우스를 준비하였다. 마우스에 종양 형성 BT474-M3 세포를 접종하고, 7일 째에 플라시보(부형제 대조군), MM-111, 타목시펜 또는 MM-111 및 타목시펜 조합을 처리한 다음, 종양 성장을 측정하였다. 도 1과 같이, 인 비보 BT474-M3 이종이식 모델은 타목시펜 처리에 대해 저항성을 나타냈으며, 반면에 MM-111 및 타목시펜 조합을 처리한 경우 종양 성장은 보다 현저하게 억제되었다.

[0051]

MM-111 및 타목시펜 조합 처리군의 통계학적 유의성($p < 0.05$)은 부형제 대조군과 비교하였을 때 28일째부터, MM-111 처리군과 비교하였을 때 21일째부터, 타목시펜 처리군과 비교하였을 때 25일째부터 계속 확인되었다.

[0052]

실시예 2: MM-111은 항-에스트로겐 약물과 결합하여 에스트로겐-자극 종양구 성장을 억제한다.

[0053]

다세포 종양구는 인 비트로에서 종양의 성장 및 미세환경 조건을 자극시키는데 이용된다. 항-에스트로겐 약물과 조합하였을 때 MM-111이 세포 성장 억제 능력을 갖는지 여부를 조사하기 위해, 상술한 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 BT474-M3 세포의 종양구를 준비하고 ErbB2-바인딩 치료제 및/또는 항-에스트로겐 치료제를 처리하였다. 에스트로겐-자극 세포의 종양구에 MM-111, 타목시펜 또는 MM-111 및 타목시펜 조합을 용량별로 투여하였다(도 2a); 트라스투주맙, 타목시펜 또는 트라스투주맙 및 타목시펜의 조합(도 2b); MM-111, 폴베스트란트 또는 MM-111 및 폴베스트란트 조합(도 2c); 트라스투주맙, 폴베스트란트 또는 트라스투주맙 및 폴베스트란트 조합(도 2d); 또는 MM-111, 트라스투주맙 또는 MM-111 및 트라스투주맙 조합(도 2e). MM-111, 트라스투

주맙, 풀베스트란트 및 타목시펜을 단일 제제로서 사용했을 때, 에스트로겐-자극 BT474-M3 종양구 어세이에서 종양구 성장 억제효과를 나타냈다. MM-111과 타목시펜 또는 풀베스트란트의 조합(도 2a 및 2c, 각각) 또는 트라스투주맙과 타목시펜 또는 풀베스트란트의 조합(도 2b 및 2d, 각각)은 성장 억제 정도를 증가시키며, MM-111 및 트라스투주맙의 조합도 성장 억제 정도를 증가시켰다(도 2e). 억제 효과는 MM-111, 트라스투주맙 및 타목시펜의 3개 조합(도 2f) 또는 MM-111, 트라스투주맙 및 풀베스트란트의 3개 조합(도 2g)을 에스트로겐-자극 종양구에 처리한 경우, 2개 조합을 처리한 경우와 비교하여 더욱 증가하였다.

[0054] 실시예 3: MM-111은 항-에스트로겐 약물과 결합하여 HRG-자극 종양구 성장을 억제한다.

항-에스트로겐 약물과 조합하였을 때 MM-111이 세포 성장 억제 능력을 갖는지 여부를 조사하기 위해, 상술한 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 HRG(heregulin)-자극 BT474-M3 세포의 종양구를 준비하고 MM-111, 타목시펜 또는 MM-111 및 타목시펜 조합을 용량별로 투여하였다(도 3a); 트라스투주맙, 타목시펜 또는 트라스투주맙 및 타목시펜의 조합(도 3b); MM-111, 풀베스트란트 또는 MM-111 및 풀베스트란트 조합(도 3c); 트라스투주맙, 풀베스트란트 또는 트라스투주맙 및 풀베스트란트 조합(도 3d); 또는 MM-111, 트라스투주맙 또는 MM-111 및 트라스투주맙 조합(도 3e). MM-111은 HRG-유도 종양구 성장을 억제하였으나, 타목시펜(도 3a), 트라스투주맙(도 3b) 및 풀베스트란트(도 3c)는 HRG에 의해 자극된 종양구의 성장을 억제하지 못했다. MM-111 및 타목시펜(도 3a) 또는 MM-111 및 풀베스트란트(도 3c)에서 조합에 따른 현저한 효과는 확인되지 않았다. 트라스투주맙과 타목시펜(도 3b) 또는 풀베스트란트(도 3d)의 조합은 단일 약물과 비교하여 현저한 억제 효과를 나타내지 않았다. 도 3e에서 보는 바와 같이, MM-111과 달리 트라스투주맙은 HRG-자극 종양구 성장에서 억제 효과를 나타냈다. MM-111 및 트라스투주맙의 조합은 개선된 억제 효과를 나타냈다.

[0056] MM-111 또는 트라스투주맙과 타목시펜 또는 풀베스트란트의 2개 조합과 MM-111, 트라스투주맙 및 타목시펜(도 3f)의 3개 조합 또는 MM-111, 트라스투주맙 및 풀베스트란트(도 3g)의 3개 조합의 효과를 비교한 결과, 상기 3개 조합은 MM-111 및 트라스투주맙의 조합(도 3e)과 HRG-자극 종양구 성장에 있어서 비슷한 억제 효과를 나타냈다.

[0057] 실시예 4: MM-111은 항-에스트로겐 약물과 결합하여 이중 리간드(에스트로겐 및 HRG)-자극 종양구 성장을 억제한다.

이중 리간드(에스트로겐 및 HRG) 자극 종양구에 타목시펜, MM-111 또는 타목시펜 및 MM-111의 조합(도 4a) 또는 트라스투주맙, 타목시펜 또는 트라스투주맙 및 타목시펜의 조합(도 4b)을 용량별로 처리하였다. MM-111 및 트라스투주맙은 각각 종양구 성장을 억제하였으나(도 4a), MM-111 및 타목시펜의 조합은 각각의 약물보다 현저히 증가된 억제 효과를 나타냈다. 반면, 트라스투주맙은 단일 물질로서 억제 효과를 나타내지 않았으나 트라스투주맙 및 타목시펜의 조합은 타목시펜 단일 물질과 비슷한 효과를 나타냈다.

[0059] 이중 리간드 자극 종양구에 풀베스트란트, MM-111 또는 풀베스트란트 및 MM-111의 조합(도 4c) 또는 풀베스트란트, 트라스투주맙 또는 풀베스트란트 및 트라스투주맙의 조합(도 4d)을 용량별로 처리하였다. MM-111 및 풀베스트란트는 각각 종양구의 성장을 억제하였으나, MM-111 및 풀베스트란트 조합은 단일 물질과 비교하여 보다 현저한 억제 효과를 나타냈다(도 4c). 트라스투주맙은 단일 물질로서 현저한 억제 효과를 나타내지 않았으며, 트라스투주맙 및 풀베스트란트 조합은 타목시펜 단일 물질과 비슷한 효과를 나타냈다(도 4d).

[0060] 이중 리간드 자극 종양구에 MM-111, 트라스투주맙 또는 MM-111 및 트라스투주맙 조합을 처리하였다. MM-111은 이중 리간드 자극 종양구 성장에 있어서 트라스투주맙 보다 큰 억제 효과를 나타냈다. MM-111 및 트라스투주맙의 조합은 항상된 억제 효과를 갖는다(도 4e).

[0061] MM-111 또는 트라스투주맙과 타목시펜 또는 풀베스트란트의 2개 조합과 MM-111, 트라스투주맙 및 타목시펜(도 4f)의 3개 조합 또는 MM-111, 트라스투주맙 및 풀베스트란트(도 4g)의 3개 조합의 효과를 비교한 결과, 상기 3개 조합은 MM-111 및 트라스투주맙의 조합(도 4e)과 에스트로겐 및 HRG(이중 리간드) 자극 종양구 성장에 있어서 비슷한 억제 효과를 나타냈다.

[0062] 앞선 실시예의 데이터에서 입증된 바와 같이, MM-11 및 항-에스트로겐 치료제를 포함하는 조합 치료법은 이들의 단일 치료보다 더욱 효과적이다. 에스트로겐 또는 HRG 자극 하에서 각 치료제에 의해 유도된 종양구 성장 억제율은 도 5 및 표 1에 요약되어 있다. MM-111은 HRG에 의해 자극된 종양구의 억제를 위해 요구된다. 각 자

극 조건에서 3개 조합은 가장 큰 종양구 성장 억제 효과를 나타냈으며, 억제율은 약 70~90%였다.

표 1

[0063]

종양구 성장 억제를 최대로 유도하는 억제제의 비율

타목시펜 조합		MM-111 + 트라스屠 주맙	MM-111 + 항-에스 트로겐	트라스屠주맙 + 항- 에스트로겐	3개 조합
E2		54%	49%	55%	73%
HRG		65%	43%	0%	71%
E2 + HRG		46%	43%	36%	79%
풀베스트란트 조합					
E2		54%	49%	55%	77%
HRG		64%	34%	4%	71%
E2 + HRG		46%	57%	47%	88%

[0064]

종양구 성장 억제율(미처리군, 자극 대조군에 표준화시킴)은 억제제를 1 M 투여하여 결정함.

[0065]

MM-111 및 타목시펜 조합은 인 비보에서 종양 성장을 억제시킨다. 이러한 결과들을 조합하면, MM-111 및 항-에스트로겐 치료제의 조합은 인 비트로 및 인 비보에서 항-종양 효과를 갖는다는 것을 의미한다.

[0066]

MM-111과 라파티닙의 조합

[0067]

방법

[0068]

계산 모델

[0069]

라파티닙 모델 뿐 만 아니라, HRG-유도 인산-ErbB3 신호전달의 계산 모델은 종래에 알려진 것을 이용하였다 (Schoeberl, et al 2009).

[0070]

세포 신호전달 어세이

[0071]

혈청 고갈(serum-starved) 상태의 세포에 MM-111, 라파티닙 또는 이들의 조합은 용량별로 단계 회식하여 기재된 시간 동안 처리한 다음, 5 nM 혜레굴린 1-β(R&D Systems, Minneapolis, MN)을 10분간 처리하여 자극시켰다. 세포 용해물은 pErbB3(phospho-ErbB3) 및 pAKT(phospho-AKT)과 반응시켜 ELISA로 분석하였다(Schoeberl et al., 2009). 억제제의 IC₅₀ 값은 4-파라미터 시그모이드 곡선에 용량 반응 데이터를 맞춤으로써 계산하였다(GraphPad Prism, GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA).

[0072]

세포 증식 어세이

[0073]

세포(8,000 세포/웰)는 96-웰 플레이트에 분주한 다음 하룻밤 동안 배양하였다. 억제제를 기재된 용량으로 첨가하여 24시간 동안 처리하였다. 리간드 자극 실험을 위해, 억제제 첨가에 앞서 혈청 고갈 상태로 하룻밤 동안 세포를 배양한 다음, 2 nM 혜레굴린 1-D(R&D Systems, Minneapolis, MN)를 5% FBS를 포함하는 배지에 첨가하여 세포에 1시간 동안 처리하였다. 생존 세포의 수는 CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega, Madison, WI)를 이용하여 측정하였다.

[0074]

세포사멸(apoptosis) 어세이

[0075]

BT474-M3 세포(2,000 세포/웰)를 울트라 로우 클러스터 96-웰 플레이트(Costar, Corning, NY)에 분주하였다. 하룻밤 동안 배양한 다음, 72시간 동안 기재된 농도의 억제제를 종양구에 처리하였다. 종양구는 트립신 처리한 다음, 부유 세포와 결합시켰다. 세포를 차가운 PBS로 2회 세척하고, 바인딩 버퍼(0.01 M HEPES, pH 7.4;

0.14 M NaCl; 2.5 mM CaCl₂)로 부유하였다. FITC-결합 어넥신 V 및 PI로 세포를 염색한 다음, 자연사 세포를 FACSCalibur™ FACS 기계로 정량화하였다.

[0076] 이종이식 효과 연구

[0077] 종양 이종이식은 5-6 주령 자성 무흉선(athymic) 누드 마우스(nu/nu; Charles River Labs, Wilmington, MA)의 옆구리에 BT474-M3 세포를 피하주사함으로써 구축하였다. 세포를 주사하기 24시간 전에, 마우스의 반대편 옆구리에 완효성(slow-release) 에스트로겐(0.72 mg 펠렛; Innovation Research of America, Sarasota, FL)을 이식하고, 60일간 피하로 에스트로겐을 받아들이도록 하였다. 종양 사이즈는 150-300 mm³가 되도록 하였으며, 마우스는 무작위적으로 선별하여 그룹당 8마리 또는 10마리씩 배치하였고, 3일에 한번 씩 복장 내로 부형제(vehicle), MM-111 또는 라파티닙을 투여하였다. 라파티닙 조합 연구를 위해, MM-111은 7일에 한번씩 투여하였으며, 라파티닙은 매일 위관 영양(gavage)을 통해 기재된 용량만큼 투여하였다.

[0078] 아로마타제(Aromatase)-과발현 BT474-M3 세포 및 증식 어세이

[0079] BT474-M3 세포는 인간 아로마타제(gene accession No: NM_000103.2)를 포함하는 PS 100010 백터로 형질감염시켰다. 아로마타제를 안정 발현하는 세포(BT474-M3-Aro)는 400 µg/ml 제네티신을 이용하여 선별한 후, 수득하였다. 세포 증식 어세이를 수행하기 위해, BT474-M3-Aro 세포(5,000 세포/웰)를 5% 차콜-분리 FBS를 포함하는 폐놀 레드-프리 RPMI-1640 배지에 혼합하여 96-웰 플레이트에 분주하였다. 하룻밤 배양한 후, 안드로스텐디온(androstenedione)(A-4; 200 nM) 및 헤레굴린(HRG; 2 nM)을 처리하였다. 3일간 처리한 후, 세포 생존력을 WST-1(Roche; Cat. # 11 644 807 001)을 이용하여 제조사의 지시에 따라 측정하였다. 5% 차콜-분리 FBS 조건에서의 세포 생존력을 대조군으로 설정하였다(100%).

[0080] 실시예 5: 인 비보에서 MM-111 및 라파티닙의 조합은 종양 성장을 억제한다.

[0081] 상술한 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 BT474-M3 유방암 이종이식 모델을 준비하고 MM-111 및 라파티닙의 조합의 인 비보에서의 효과를 조사하였다. MM-111 및 라파티닙은 각각 최적의 효과를 나타내는 용량을 매주 또는 매일 투여하였다. MM-111 및 라파티닙의 조합은 개별 약물과 비교하여 더 큰 효과를 나타내며, 13일 째에 MM-111($p = 3.9 \times 10^{-4}$) 및 라파티닙($p = 5.1 \times 10^{-3}$)에 대하여 통계학적 유의성을 나타낸다(도 6). 40일부터 7일(접종)까지 종양 부피의 변화는 각 그룹별로 계산하였다(도 6b). 종양 퇴행을 반영하여 라파티닙이 종양 부피를 -11%(약 10%), MM-111이 종양 부피를 14%(약 15%) 변화시킨 것과 비교하여, MM-111 및 라파티닙의 조합은 종양 부피를 -69%(약 70%)로 감소시켰다.

[0082] 실시예 6: 라파티닙은 헤레굴린-유도 pErbB3 및 pAKT의 억제에 있어서 차선의 활성을 갖는다.

[0083] pErbB3 활성화의 라파티닙 억제 투여 범위는 상술한 계산 모델을 이용하여 예측하였다. 라파티닙의 투여 범위를 BT474-M3 세포에 적용한 다음, 5 nM 헤레굴린을 10분간 처리하여 자극하였다. pErbB3의 양은 상술한 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용한 ELISA를 통해 측정하였다. 모델-생성 용량 반응 곡선은 실험 데이터와 오버레이된다(도 7a). 헤레굴린-자극 또는 무자극(기저) 세포에서 라파티닙의 억제 활성의 비교는 헤레굴린 신호전달이 라파티닙의 활성을 동요시키는 것을 설명하기 위해 수행하였다. 무처리(untreated) 및 헤레굴린-자극 세포에 pErbB3 및 pAKT를 반응시키고, IC₅₀ 값을 계산하였다(도 7b). 이러한 결과들은 라파티닙이 헤레굴린-활성 신호전달에 효과적인 억제제가 아니라는 것을 나타낸다.

[0084] 실시예 7: MM-111은 라파티닙 보다 FTRG-유도 ErbB3 및 AKT 인산화에 있어서 보다 강력한 억제제이다.

[0085] 헤레굴린-유도 ErbB3 활성화를 억제하는 MM-111 및 라파티닙의 능력을 비교하기 위해 BT474-M3 또는 ErbB2 과발현 유방암 세포주인 ZR75-30(ATCC # CRL-1504™) 세포에 단계 회석한 각 억제제를 15분, 1시간, 4시간 및 24시간 처리한 다음, 5 nM 헤레굴린을 10분간 처리하여 자극하였다. pAKT 및 pErbB3의 양은 ELISA를 이용하여 측정

하였다. MM-111은 BT474-M3($IC_{50} = 3$ nM) 세포(도 8a) 및 ZR75-30 세포($IC_{50} = 5$ nM)(도 8c)에서 pErbB3 레벨을 강력하게 감소시켰다(ErbB3 인산화를 억제시킴). MM-111에 의한 pAKT 레벨 감소(AKT 인산화 억제)는 BT474-M3($IC_{50} = 10$)(도 8b) 및 ZR75-30 세포($IC_{50} = 4$ nM)(도 8d)에서도 관찰되었다. MM-111의 헤레굴린-유도 ErbB3 활성화(인산화) 억제 능력은 라파티닙보다 우수하며, 각 억제제의 상대적 IC_{50} (도 8c)는 억제제 배양 24시간 까지 일정하였으며, 처리시간은 억제제의 효능에 큰 효과를 미치지 않았다.

[0086] 실시예 8: MM-111 및 라파티닙의 조합은 pAKT를 강력하게 억제한다.

pAKT 억제(pAKT 레벨의 감소)에 대한 MM-111 및 라파티닙 조합의 효과를 평가하기 위해 헤레굴린-자극 BT474-M3 세포를 이용하였다. 세포에 MM-111, 라파티닙 또는 그들의 조합을 용량 범위 처리하여 2시간 배양하고, ELISA를 이용하여 pAKT를 측정하였다. 헤레굴린의 존재 하에서, MM-111 및 라파티닙의 조합은 굉장히 효과적으로 작용하여 치료학적으로 유의미한 농도에서 기저 상태 이하로 pAKT를 억제시켰다(도 9). MM-111(1 μ M) 또는 라파티닙(1 μ M) 단독 투여는 비슷한 수준으로 pAKT를 억제시켰으며(도 8b), MM-111 및 라파티닙의 조합은 pAKT를 약 20% 이상 억제시켰다.

[0088] 실시예 9: 세포 증식을 억제하는 라파티닙의 능력은 헤레굴린-자극 조건 하에서 동요된다.

[0089] 세포 증식에 있어서 라파티닙의 효과는 무자극 및 헤레굴린-자극 BT474-M3 세포에서 측정하였다. 혈청 또는 혈청 + 헤레굴린 조건에서 배양한 세포에 용량 범위의 라파티닙을 24시간 처리하였다. 라파티닙 처리는 무자극 세포의 증식을 약 50% 억제시켰으나, 헤레굴린-자극 BT474-M3 세포에서는 증식을 약 23% 억제하는 효과를 나타냈다(도 10).

[0090] 실시예 10: MM-111 및 라파티닙 조합의 처리는 세포사멸률을 증가시킨다.

[0091] 세포사멸에 있어서 MM-111 및 라파티닙 조합의 효과는 BT474-M3 종양구 모델에서 측정하였다. 상술한 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 종양구를 준비하고, 준비된 종양구에 MM-111(100 nM), 라파티닙(33 nM) 또는 MM-111(100 nM) 및 라파티닙(33 nM)의 조합을 처리하였다. 세포를 어넥신 V 및 프로피디움 요오드화물(propidium iodide, PI)로 염색한 다음, FACS를 이용하여 정량화하였다(도 11, 도 2). 어넥신 V 및 PI에 양성으로 염색된 세포군은 후기 세포사멸(세포괴사)로 정량하였고, 어넥신 V에 양성으로 염색되고, PI에 염색되지 않는 세포군은 초기 세포사멸로 정량하였으며, PI에 양성으로 염색되고 어넥신 V에 염색되지 않은 세포군은 죽은 세포로 정량하였다. 어넥신 V 또는 PI에 염색되지 않은 세포군은 살아있는 세포 및 세포사멸에 있지 않은 세포로 판단하였다(표 2).

[0092] 라파티닙(약 31%) 또는 MM-111(약 20%)을 단독으로 처리한 경우와 비교하여, MM-111 및 라파티닙 조합을 처리한 종양구는 총 세포사멸 세포의 수가 높았다(약 46%)(도 10).

표 2

[0093] MM-111, 라파티닙 또는 그 조합을 처리한 후 세포군의 백분율

	생존 세포	조기 세포사멸	늦은 세포사멸	죽은 세포
대조군	75.2	17.3	7.2	0.42
MM-111	78.9	12.9	7.5	0.74
라파티닙	67.9	16.8	14.5	0.73
조합	52.1	30.3	16.2	1.74

[0094] 실시예 11: MM-111과 항-에스트로겐 약물 및 라파티닙의 조합은 이중 리간드(에스트로겐 및 헤레굴린)-자극 종양구의 성장을 억제시킨다.

[0095] MM-111과 항-에스트로겐 약물 및 타이로신 인산화효소 억제제의 조합이 세포 성장을 억제하는지 여부를 조사하

기 위해, 상술한 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 에스트로겐의 종양구 및 헤레굴린-자극 BT474-M3 세포를 준비하고, 3.3 nM, 10 nM 또는 30 nM 라파티닙 또는 라파티닙과 용량 범위의 폴베스트란트(FVT) 조합을 처리(도 12a); 3.3 nM, 10 nM 또는 30 nM 라파티닙 또는 라파티닙과 용량 범위의 MM-111 조합을 처리(도 12b); 또는 3.3 nM, 10 nM 또는 30 nM 라파티닙 또는 라파티닙 및 용량 범위의 MM-111 및 폴베스트란트 조합을 처리(도 12c)하였다. 이중 리간드 자극 하에서 라파티닙 및 FVT의 조합은 라파티닙을 단독 처리한 경우보다 종양구 성장 억제를 크게 증가시키지는 않았다(도 12a). 반면, MM-111의 첨가는 라파티닙 처리에서 종양구의 민감성을 크게 증가시켰고(도 12b), 라파티닙, FVT 및 MM-111의 3개 조합은 라파티닙 단독 처리보다 종양구 성장 억제를 크게 증가시켰다.

[0096]

실시예 12: MM-111과 항-에스트로겐 약물의 조합은 인간 안드로스텐디온 과발현 BT474-M3 세포에서 종양구의 성장을 억제시킨다.

[0098]

안드로스텐디온은 스테로이드 호르몬으로 아로마타제에 의해 에스트로겐으로 전환된다. MM-111이 종양구 성장 억제 능력을 갖는지를 평가하기 위해, 안드로스텐디온(A4) 및 헤레굴린(P1RG)이 있는 조건 하에서 아로마타제-발현 세포에 MM-111, 레트로졸 또는 MM-111 및 레트로졸의 조합(도 13a); MM-111, 라파티닙 또는 MM-111 및 라파티닙의 조합(도 13b); 라파티닙, 레트로졸 또는 라파티닙 및 레트로졸의 조합(도 13c); 및 상기 2개 조합과 MM-111, 라파티닙 및 레트로졸의 3개 조합(도 13d)을 처리하였다. A4 및 HRG를 처리한 세포에서 레트로졸 처리는 대조군(미처리) 세포와 비교하여 종양구 세포의 성장 억제를 현저하게 유도하지 않았으나, MM-111을 단독 처리하거나, MM-111 및 레트로졸 조합을 처리한 경우에는 세포 증식이 비슷한 수준으로 억제되었다(도 13a).

[0099]

라파티닙 처리는 고농도를 제외하고 세포 성장 억제를 유도하지 않았으나, MM-111 단독 처리 또는 MM-111 및 라파티닙 조합은 고농도를 제외하고 비슷한 수준으로 세포 성장 억제를 유도하였으며, MM-111 및 라파티닙 조합을 처리한 경우, 단일 처리 보다 세포 성장 억제를 증가시켰다(도 13b). 라파티닙 단독 처리, 레트로졸 단독 처리 또는 라파티닙 및 레트로졸 조합을 처리한 경우, 고농도를 제외하고 세포 성장 억제를 유도하지 않았다(도 13c). 유사하게, 도 13d를 살펴보면 라파티닙 및 레트로졸의 조합은 고농도에서만 세포 성장 억제를 유도하였다. 반면, MM-111 및 레트로졸 또는 MM-111 및 라파티닙의 조합은 대조군과 비교하여 세포 성장 억제를 증가시켰으며, MM-111, 라파티닙 및 레트로졸의 3개 조합은 상기 2개 조합 보다 세포 성장을 더욱 억제시켰다.

[0100]

실시예 13: MM-111의 아미노산 서열(SEQ ID NO: 1)

[0101]

QVQLQESGGGLVKPGGLSLCAASGFTFSSYWMWSVRQAPGKGLEWWAN1NRDGSASYYVD
SVKGRFTI SRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGVGYFDLWGRGTLTVSSASTGGGG
SGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGSPGQSITI SCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKLMIVDVS
DRPSGVSDRFSGSKSGNTASL I I SGLQADDEADYYCSSYGSSTTHVIFGGGTKVTVLGAASDAHK
SEVAHFRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKLYE I
ARRHPFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEKGASSAK
QRLKCASEQKFGERAKFWARLQRFPKAFAEVSKLVTDLTKVHTECHGDLLECADDRADLA
YICENQDSI SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVKCKNYAEAK
DVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNL
QNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAED
YLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFQAETFTFHADICTL
SEKERQIKKQTALVELVKI IKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAAEGKKLVAAS
QAALGLAAALQVQLVQSGAEVKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIAWRQMPGKLEYMGLIYP
GDSDTKYSPSFQQVTISVDKSVSTAYLQWSSLKPSDSAVIDFCARHDVGYCTDRTCAKWPEWL
GVWGQGTLTGVSSGGGGSSGGGGSSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTSCEGSSSNIGNNNYVSW
YQQLPGTAKLLIYDHTNRPAGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGFRSEDEADYYCASWDYTLSGWV FGGGTKLTVLG

I

[0102] 하나 또는 그 이상의 치료제 추가 조합에서 MM-111의 용량 및 투여

[0103] 실시예 14: MM-111의 투여 방법

[0104] 20 mM L-히스티딘 하이드로클로라이드, 150 mM 소듐 클로라이드로 구성되며 2~8°C에 보관된 살균된 수용액(pH 6.5)에 25 mg/ml MM-111을 포함하도록 하는 제제를 준비한다. MM-111은 투여 전에 반드시 상온에 정치하도록 한다. MM-111의 용기(예컨대, 바이얼)는 절대 흔들지 않는다. MM-111의 적정량을 용기로부터 덜어내어 0.9% 생리식염수 250 mL에 희석하고 저단백 바인딩 인-라인 필터를 이용하여 투입(infusion)하는 방법으로 투여한다 (예컨대, 0.22 마이크로미터 필터).

[0105] MM-111은 첫 투여 시 약 90분 이상 투여한다. 투입 반응이 없는 상태에서 다음 용량은 약 60분 이상 투여한다.

[0106] 전체 사이클에 사용되는 용량을 계산하기 위해 투여 사이클 초반 환자 몸무게를 이용한다. 환자의 몸무게가 10% 이상 변하는 경우, 이 변화를 반영하여 총 용량을 다시 계산해야한다.

[0107] 실시예 15: MM-111의 투여 및 용량

[0108] 투여 과정 중 MM-111의 바람직한 혈장 농도는 적어도 106 mg/L이다. MM-111의 용량 빈도(dose frequency)의 특정한 조합을 확인하였으며, 용량은 투여 과정 동안 적어도 환자의 혈장에 절반, 바람직하게는 60%, 70% 또는 80% 유지될 것이다.

[0109] 특정 구현예에 따르면, 높은 초기 용량(부하용량; loading dose, LD)이 주어지고, 하나의 유지용량(maintenance dose, MD)의 지정된 간격에 따라 투여한다. 투여 일의 간격은 일반적으로 $Q \times D$ 로 기재되고, 상기 \times 는 정수를 나타내며 7의 $Q \times D$ 는 매 7일 마다 투여하는 것을 나타낸다. 표 3, 표 4 및 표 5는 본 발명의 용량 및 투여 간격을 나타낸 것으로 초기 용량은 바람직하게는 부하용량(LD)으로 기재되나, 유지용량(MD)이 될 수 있다(예컨대, 의사의 지시에 따라). 표 3은 부하용량 및 유지용량의 투여 간격의 예를 나타낸다. 표 4는 표 3에서 $+/- 3$ mg/mL 까지의 용량 가변성(“약”으로 기재함)을 허용하는 변형을 나타낸다. 표 5는 부하용량 및 유지용량의 투여 간격의 더욱 확장된 예를 나타낸다. 표 3, 표 4 및 표 5의 각 칸에서 상부 숫자는 간격 $Q \times D$ 에서 정수 \times 이고(예컨대, 칸에서 상부 숫자로서 18은 Q18D 또는 매 18일의 투여 간격을 나타낸다), 가운데 숫자는 mg/kg에서 (선택적) 부하용량을 의미하며, 하부 숫자는 mg/kg에서 유지 용량을 나타낸다. 따라서, 표 3에서 상부 칸은 매 7일에 한 번의 투여 간격($Q \times D$), 환자 몸무게 kg당 25 mg의 부하용량(선택적) 및 환자 몸무게 kg당 20 mg의 유지용량을 나타내는 반면, 표 5의 상부 열에서 가장 오른 쪽에 있는 칸은 매 7일에 한 번의 투여 간격($Q \times D$), 환자 몸무게 kg당 30 mg의 부하용량(선택적) 및 환자 몸무게 kg당 15 mg의 유지용량을 나타낸다.

표 3

7	25	20
7	40	30
14	60	45
14	90	75
21	120	105

표 4

[0111]	7 약 25 약 20
	7 약 40 약 30
	14 약 60 약 44
	14 약 90 약 75
	21 약 120 약 105

표 5

7 10 5	7 15 5	7 20 5	7 25 5	7 30 5	7 15 10	7 20 10	7 25 10	7 30 10	7 35 10	7 20 15	7 25 15	7 30 15
7 35 15	7 40 15	7 25 20	7 30 20	7 35 20	7 40 20	7 45 20	7 30 25	7 35 25	7 40 25	7 45 25	7 50 25	7 55 25
7 60 25	7 65 30	7 35 30	7 40 30	7 50 30	7 55 30	7 60 30	7 65 30	7 70 30	7 75 30	7 80 30	7 85 30	7 90 35
14 50 35	14 55 35	14 60 35	14 65 35	14 70 35	14 75 35	14 80 40	14 85 40	14 90 40	14 95 40	14 100 40	14 105 40	14 110 40
14 50 45	14 55 45	14 60 45	14 65 45	14 70 45	14 75 45	14 80 50	14 85 50	14 90 50	14 95 50	14 100 50	14 105 50	14 110 55
14 70 55	14 75 60	14 80 65	14 85 70	14 90 75	14 95 80	14 100 85	14 105 90	14 110 95	14 115 100	14 120 105	14 125 110	14 130 115
21 75 60	21 75 65	21 80 70	21 85 75	21 90 80	21 95 85	21 100 90	21 105 95	21 110 100	21 115 105	21 120 110	21 125 115	21 130 120
21 75 65	21 75 70	21 80 75	21 85 80	21 90 85								

[0112]

실시예 16: MM-111과 라파티닙 및 트라스투맙의 용량 및 투여

[0113]

트라스투맙-난치(refractory)-HER2-과발현 유방암 환자의 치료는 유방 종양학 분야에서 만족되지 못하는 부분으로 치료에 대한 새로운 접근 방식이 요구된다. 선택적 타이로신 인산화효소 억제제(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)가 특정 타이로신 인산화효소 종양유전자-유래 암 치료에 굉장히 효과적인 치료법이지만, 이들의 HER2-유래 유방암에 대한 임상학적 항-종양 효능은 적절한 체내 분포(biodistribution) 및 분명한 타겟 억제에도 불구하고 실망스러운 수준이다. 가장 유망한 치료제인 HER2 TKI, 라파티닙에 대한 임상 2상 결과, 트라스투맙-난치-HER2-과발현 유방암 환자에서 단 4-8%의 반응율(response rate)이 보고되었다. HER2+ 유방암에 대한 효과적인 치료법은 더욱 복잡하며 생각보다 회복력이 있는 것으로 현재 알려져 있다. 최근의 연구결과는 가장 강력한 티로신 키나아제 억제제(TKIs)로도 치료 인덱스를 벗어나게 하는, HER3의 역할 및 HER2 촉매 활성의 2 로그 억제에 대해 보호하는 HER2-HER3 종양 드라이버(tumor driver)에 내재된 강한 신호 완충 능력에 대해 강조하였다. 일반적으로 라파티닙은 1,000-1,500 mg 용량의 250 mg 타블렛을 하루 한번 투여한다. 라파티닙은 때때로 다른 암 치료제인 카페시타빈(capecitabine)과의 조합으로 일주일의 간격을 두고 14일간 투여하는 방식으로 이용된다.

[0114]

HER2-HER2 드라이버의 완전 불활성화가 간헐적인 투여 스케줄에서 높은 TKI를 투여하는 것에 의해 달성될 수 있

는지를 평가한 결과, 연속적인 투여보다 간헐적인 투여가 더욱 효과적이라는 것을 확인하였다. 수정된 투여 스케줄에 따라 증가된 라파티닙 용량을 14일 주기로 1-5일 째에 투여하였고, 상기 증가된 용량은 1,000-1,500 mg/일의 표준 용량보다 증가된 것이다. 일 구현예에 따르면, 높은 라파티닙 용량은 2,000 및 9,000 mg/일 사이이다. 예컨대, 높은 라파티닙 용량은 2,000, 2,250, 3,375, 3,000, 3,250, 3,500, 3,750, 4,000, 4,250, 4,500, 4,750, 5,000, 5,250, 5,500, 5,750, 6,000, 6,250, 6,500, 6,750, 7,000, 7,250, 7,500, 7,750, 8,000, 8,250, 8,500, 8,750 또는 9,000 mg/일 및 기타 등등 일 수 있다.

[0116] 특정 구현예에 따르면, 부하용량은 14일 주기의 1일째에 투여되며 이는 그 다음날부터 투여되는 유지용량보다 높은 용량이다. 예를 들면, 14일 주기의 1일째에 투여되는 부하용량은 7,000 mg/일, 이후에 투여되는 유지용량은 3,000 mg/일 일 수 있다. 부하용량 및 유지용량 조합은 표 6에 기재된 실시예에 의해 제한되지 않는다.

[0117] MM-111은 실시예 15에 기재된 바와 같이 투여한다. 일 구현예에 따르면, 치료법은 트라스투주맙을 추가적으로 포함한다. 트라스투주맙은 일반적으로 초기 부하용량을 투여한 다음, 유지용량을 투여한다. 예를 들면, 트라스투주맙은 8 mg/kg의 부하용량을 투여한 다음, 매 3주마다 6 mg/kg의 유지 용량을 투여할 수 있다.

표 6

라파티닙 투여 스케줄의 예시: mg/일의 부하용량(상부 숫자) 및 유지용량
(하부 숫자)

2000 1000	2000 1500	2000 2000	2500 1000	2500 1500	2500 2000	3000 1000	3000 1500	3000 2000	3000 2500	3000 3000	3500 1000	3500 1500
3500 2000	3500 2500	3500 3000	4000 1000	4000 1500	4000 2000	4000 2500	4000 3000	4000 3500	4500 1000	4500 1500	4500 2000	4500 2500
4500 3000	4500 3500	4500 4000	5000 1000	5000 1500	5000 2000	5000 2500	5000 3000	5000 3500	5000 4000	5000 4500	5500 1000	5500 1500
5500 2000	5500 2500	5500 3000	5500 3500	5500 4000	5500 4500	5500 5000	6000 1000	6000 1500	6000 2000	6000 2500	6000 3000	6000 3500
6000 4000	6000 4500	6000 5000	6000 5500	7500 1000	7500 1500	7500 2000	7500 2500	7500 3000	7500 3500	7500 4000	7500 4500	7500 5000
7500 5500	7500 6000	7500 6500	7500 7000	8000 1000	8000 1500	8000 2000	8000 2500	8000 3000	8000 3500	8000 4000	8000 4500	8000 5000
8000 5500	8000 6000	8000 6500	8000 7000	8000 7500	9000 1000	9000 1500	9000 2000	9000 2500	9000 3000	9000 3500	9000 4000	9000 4500
9000 5000	9000 5500	9000 6000	9000 6500	9000 7000	9000 7500	9000 8000	9000 8500					

[0118]

[0119]

[0120] 실시예 17: MM-111과 시스플라틴, 카페시타빈 및 트라스트주맙의 용량 및 투여

[0121] MM-111과 시스플라틴, 카페시타빈 및 트라스트주맙의 투여는 예를 들어 하기 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 실시한다.

[0122] 환자에게 21일 치료 주기로 투여한다. 시스플라틴은 21일 주기의 1일째에 정맥 투입(intravenous infusion)으로 80 mg/m^2 의 용량을 2시간 이상 투여한다. 카페시타빈은 매일 2회 $1,000 \text{ mg/m}^2$ 의 용량으로 구강투여한다. 시스플라틴의 21일 주기 까지 카페시타빈을 투여한다. 트라스트주맙은 부하용량 8 mg/kg으로 1일째 정맥으로 90분 이상 투여한 다음, 21일간 매일 6 mg/kg의 유지용량으로 30-90분 이상 투여한다. MM-111은 상술한 실시 예와 같이 투여한다. 예를 들면, MM-111은 초기 용량은 90분 이상 투여하고, 그 다음 주마다 60분 이상 투여 한다.

[0123] 실시예 18: MM-111과 라파티닙 및 트라스트주맙의 용량 및 투여

[0124] MM-111과 라파티닙 및 트라스트주맙의 투여는 예를 들어 하기 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 실시한다. 트라스트주맙은 부하용량 4 mg/kg으로 1일째 정맥으로 90분 이상 투여한 다음, 매주 2 mg/kg의 유지용량으로 투여한다. 라파티닙은 실시예 13에 기재된 투여 요법의 하나 또는 매일 1,000 mg 용량으로 구강 투여한다. MM-111은 상술한 실시예와 같이 투여한다. 예를 들면, MM-111은 초기 용량은 90분 이상 투여하고, 그 다음 주마다 60분 이상 투여한다.

[0125] 실시예 19: MM-111과 파클리탁셀 및 트라스트주맙의 용량 및 투여

[0126] MM-111과 파클리탁셀 및 트라스트주맙의 투여는 예를 들어 하기 방법 또는 그것의 변형된 방법을 이용하여 실시한다. 환자에게 28일 치료 주기로 투여한다. 파클리탁셀은 주기 1의 1일째에 투여를 시작한다. 파클리탁셀은 매주 80 mg/m^2 의 용량을 정맥으로 90분 이상 투여하고, 그 다음 2 mg/kg의 유지용량을 매주 투여한다. MM-111은 상술한 실시예와 같이 투여한다. 예를 들면, MM-111은 초기 용량은 90분 이상 투여하고, 그 다음 주마다 60분 이상 투여한다.

[0127] 후주(endnotes)

[0128] 본 발명은 그의 특정 구현예와 연결하여 개시되어 있고, 더 변형가능한 것으로 이해되어야 하며 이러한 적용은 임의의 변경, 사용 또는 적용에 이어, 본 발명이 속하는 기술분야에서 공지의 또는 전통적인 사용에 따른 본 발명의 상세한 설명에서 벗어나는 것을 포함하여 본 명세서에 속하고 필수적인 특징을 적용하는 일반적으로 본 발명의 원리를 포함하는 것으로 간주된다.

[0129] 본 명세서에 언급된 모든 공개 및 등록특허는 각 독립적인 공개 또는 등록특허가 그들 전체로서 참조로서 편입되는 것으로 특별하고 개별적으로 지시한 것처럼 동일한 내용으로 본 명세서에 참조로서 편입된다.

[0130] 부록

[0131] 항암제

[0132] 항-에스트로겐 수용체 제제 또는 수용체 타이로신 인산화 역제제와 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와 공동 투여는 아래에서 선택되는 항종양성 제제를 세 번째 제제로서 추가적으로 공통 투여할 수 있다.

표 7

[0133] 유방암 치료에 대한 항종양성 제제와 이중특이성 항-ErbB2/항-ErbB3 항체 조합의 예시

치료학적 분류	예(제네릭/상품명)	권장 투여량
유사분열 억제제	파클리탁셀(TAXOL; ABRAZANE)	175 mg/m^2
	도세탁셀(TAXOTERE)	$60\text{--}100 \text{ mg/m}^2$
토포이소미라아제 억제제	캡토테신	
	토포테칸 하이드로클로라이드(HYCAMTIN)	
	에토포시드(EPOSIN)	
알킬화제	사이클로포스파미드(CYTOXAN)	600 mg/m^2
백금-기반 제제	시스플라틴	$20\text{--}100 \text{ mg/m}^2$
	카르보플라틴(PARAPLATIN)	300 mg/m^2
	네다플라틴(AQUPLA)	
	옥사리플라틴(ELOXATIN)	$65\text{--}85 \text{ mg/m}^2$
	사트라플라틴(SPERA)	

	트리플라틴 테트라니트레이트	
선택적 에스트로겐 조절자(SERM)	타목시펜(NOLVADEX)	20-40 mg/일
	랄로시펜(EVISTA)	60 mg/일
	토레미펜(FARESTON)	
항대사성물질	메토트렉사트	40 mg/m ²
	플루오르우라실(5-FU)	500 mg/m ²
	랄티트렉세드	
항종양항생물질	독소루비신(ADRIAMYCIN)	40-75 mg/m ²
	에피루비신(ELLENCE)	60-120 mg/m ²
아로마타제(aromatase) 억제제	아미노글루테티미드(CYTADREN)	250-2,000 mg/일
	아나스트로졸(ARIMIDEX)	1 mg/일
	레트로졸(FEMARA)	2.5 mg/일
	보로졸	
	액세메스탄(AROMASIN)	25-50 mg/일
	테스토락톤	
	페드로졸(AFEMA)	
항-VEGF 제제	베바시주맙(AVASTIN)	10 mg/kg
항-ErbB2(HER2/neu) 제제	트라스트주맙(HERCEPTIN)	2-8 mg/kg
	피투주맙(OMNITARG)	
항-ErbB3(HER3) 제제	U3-1287(AMG 888)	

부록

표 8

항암제

이중특이성을 갖는 항-ErbB2/항-ErbB3 항체와의 조합을 위한 다른 항암제	상표명	제조사/소유주
<u>항-IGF1R 항체</u>		
AMG 479(완전 인간화 mAb)		Amgen
IMCA12(완전 인간화 mAb)		ImClone
NSC-742460		Dyax
19D12(완전 인간화 mAb)		
CP751-871(완전 인간화 mAb)		Pfizer
H7C10(완전 인간화 mAb)		
알파IR3(마우스)		
scFV/FC(마우스/인간 키메라)		
EM/164(마우스)		
MK-0646, F50035		Pierre Fabre Medicament, Merck
<u>소분자 타겟팅 IGF1R</u>		
NVP-AEW541		Novartis
BMS-536, 924(1H-벤조이미다졸-2-일)-1H-페리딘-2-원)		Bristol-Myers Squibb
BMS-554, 417		Bristol-Myers Squibb
Cycloligan		
TAE226		
PQ401		
<u>항-EGFR 단일클론항체</u>		
INCB7839		Incyte
베바시주맙	Avastin	Genentech
세툭시맙	Erbitux	IMCLONE
mAb 806		

마투주맙(EMD72000)		
니모투주맙(TheraCLM)		
파니투무맙	Vectibix	Amgen
항-ErbB3 치료제		
U3-1287 / AMG888		U3 Pharma/Amgen
MM-121		Merrimack Pharmaceuticals
항-ErbB2 치료제		
트라스트주맙	Herceptin	Genentech
HKI-272 - 네라티닙		Wyeth
KOS-953 - 타네스피마이신		Kosan Biosciences
Her/ErbB 이합체화 억제제		
2C4, R1273 - 퍼투주맙	Omnitarg	Genentech, Roche
소분자 타겟팅 EGFR		
CI-1033(PD 183805)		Pfizer, Inc.
EKB-569		
제피티닙	IRESSA™	AstraZeneca
라파티닙 (GW572016)		GlaxoSmithKline
라파티닙 이토실레이트	Tykerb	SmithKline Beecham
엘로티닙 HCL (OSI-774)	Tarceva	OSI Pharma
PD158780		
PKI-166		Novartis
티포스틴 AG 1478(4-(3-클로로아닐리노)-6,7-디메톡시퀴나졸린)		
항-cmet 항체 치료제		
AVEO(AV299)		AVEO
AMG102		Amgen
5D5(OA-5D5)		Genentech
소분자 타겟팅 cmet		
PHA665752		
ARQ-650RP		ArQule
ARQ 197		ArQule
알킬화제		
BCNU → 1,3-bis(2-클로로에틸)-니트로수레아		
벤다무스틴		
부술판	Myleran	GlaxoSmithKline
카르보플라틴	Paraplatin	Bristol-Myers Squibb
카르보큐원		
카르무스틴		
CCNU → 1,-(2-클로로에틸)-3-시클로헥실-1-니트로수레아(메틸 CCNU)		
클로람부실	Leukeran	Smithkline Beecham
클로메틴		
시스플라틴(시스플라티늄, CDDP)	Platinol	Bristol-Myers
시클로포스파미드	Cytoxan	Bristol-Myers Squibb
	Neosar	Teva Parenteral
아카바진(DTIC)		
포테무스틴		
학사메틸멜라민(알트레타민, HMM)	Hexalen	MGI Pharma, Inc.
이포스파미드	Mitoxana	ASTA Medica
로무스틴		

<u>만노술판</u>		
멜팔란	Alkeran	GlaxoSmithKline
네다플라틴		
니무스틴		
옥사리플라틴	Eloxatin	Sanofi-Aventis US
프레드니무느틴		
프로카르바진 HCL	Matulane	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.
리보뉴클레오티드 환원효소 억제제		
라니무스틴		
사트라플라틴		
세무스틴		
스트랩토조신		
테모졸로미드		
트레오술판		
트리아지큐원		
트리틸렌 멜라민		
티오TEPA		Bedford, Abraxis, Teva
틀리플라틴 테트라니트레이트		
트로포스파미드		
우라무스틴		
<u>황대사성물질</u>		
5-아자시티딘		
플루오르우라실(5-FU)/카페시타빈		
6-머캅토퓨린(머캅토퓨린, 6-MP)		
6-티오구아닌(6-TG)	Purinethol	Teva
시토신 아라비노시드(시타라빈, Ara-C)	Thioguanine	GlaxoSmithKline
아자티오프린	Azasan	AAIPHARMA LLC
카페시타빈	XELODA	HLR(Roche)
클라드리빈(2-CdA, 2-클로로디옥시아데노신)	Leustatin	Ortho Biotech
5-트리플루오르메틸-2 '-디옥시우리딘		
플루다라빈 포스페이트	Fludara	Bayer Health Care
플록스우리딘(5-플루오르-2)	FUDR	Hospira, Inc.
메토트렉세이트 소듐	Trexall	Barr
페메트렉세드	Alimta	Lilly
펜토스타틴	Nipent	Hospira, Inc.
랄티트렉세드	Tomudex	AstraZeneca
테가푸르		
<u>아로마타제 억제제</u>		
케토코나졸		
<u>글루코코르티코이드</u>		
텍사메타손	Decadron Dexasone, Diodex, Hexadrol, Maxidex	Wyeth, Inc.
프레드니솔론		
프레드니손	Deltasone, Orasone, Liquid Pred, Sterapred	
<u>면역치료제</u>		
알파 인터페론		
헬관형성 억제제	Avastin	Genentech
IL-12 → 인터루킨 12		
IL-2 → 인터루킨 2(알테스루킨)	Proleukin	Chiron

<u>수용체 타이로신 인산화효소 억제제</u>		
AMG 386		Amgen
악시티닙(AG-013736)		Pfizer, Inc
보수티닙(SKI-606)		Wyeth
브리바닙 알라리네이트(BMS-582664)		BMS
세디라닙(AZD2171)	Recentin	AstraVeneca
다사티닙(BMS-354825)	Sprycel	Bristol-Myers Squibb
이마티닙 메실레이트	Gleevec	Novartis
레스타우르티닙(CEP-701)		Cephalon
모테사닙 디포스페이트(AMG-706)		Amgen/Takeda
니로티닙 하이드로클로라이드 모노하이드레이트	Tasigna	Novartis
파조파닙 HCL(GW786034)	Armala	GSK
세막사닙(SU5416)		Pharmacia,
소라페닙 토실레이트	Nexavar	Bayer
수니티닙 말레이트	Sutent	Pfizer, Inc.
반데타닙(AZD647)	Zactima	AstraZeneca
바타라닙; PTK-787		Novartis; Bayer Schering Pharma
XL184, NSC718781		Exelixis, GSK
<u>미세소관-타겟팅 제제</u>		
콜히친		
도세탁셀	Taxotere	Sanofi-Aventis US
익사베필론	IXEMTRA TM	Bristol-Myers Squibb
라로탁셀		Sanofi-aventis
오르타탁셀		Spectrum Pharmaceuticals
나노파티클 파클리탁셀(ABI-007)	Abraxane	Abraxis BioScience, Inc.
파클리탁셀	Taxol	Bristol-Myers Squibb
테세탁셀		Genta
빈블라스틴 설레이트	Velban	Lilly
빈크리스틴	Oncovin	Lilly
빈데신 설레이트	Eldisine	Lilly
빈플루닌		Pierre Fabre
비노렐빈 타르트레이트	Navelbine	Pierre Fabre
<u>mTOR 억제제</u>		
데포로리머스(AP23573, MK 8669)		ARIAD Pharmaceuticals, Inc
에베로리머스(RAD001, RAD001C)	Certican, Afinitor	Novartis
시로리머스(라파마이신)	Rapamune	Wyeth Pharama
템시로리머스(CCI-779)	Torisel	Wyeth Pharama
<u>단백질 합성 억제제</u>		
L-아스파라기나아제	Elspar	Merck & Co.
<u>소마토스타틴 유사체</u>		
옥트레오티드 아세테이트	Sandostatin	Novartis
<u>토포이소머라이제 억제제</u>		
액티노마이신 D		
캡토테킨(CPT)		
벨로테칸		
다우노루비신 시트레이트	Daunoxome	Gilead
독소루비신 하이드로클로라이드	Doxil	Alza
	Vepesid	Bristol-Myers Squibb
에토포시드	Etopophos	Hospira, Bedford, Teva Parenteral, Etc.

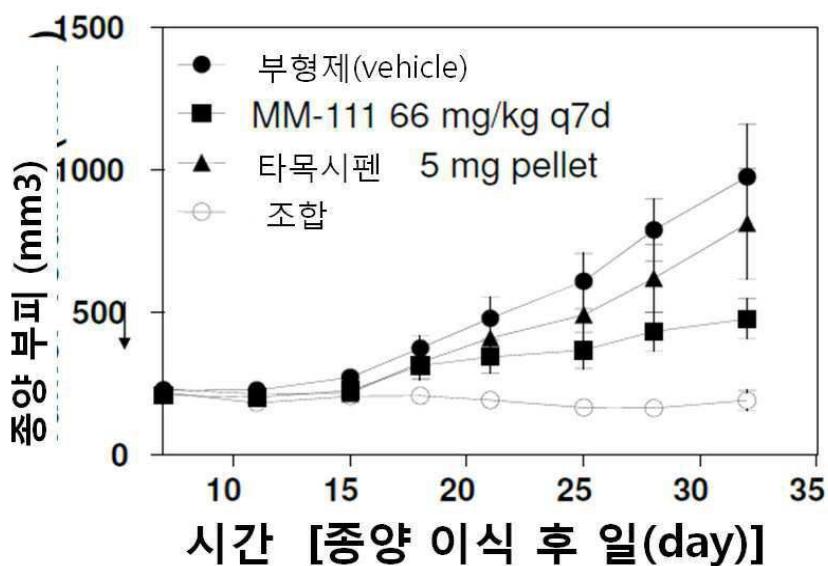
이리노테칸 HCL(CPT-11)	Camptosar	Pharmacia & Upjohn
미톡산트론 HCL	Novantrone	EMD Serono
루비테칸		
테니포시드(VM-26)	Vumon	Bristol-Myers Squibb
토포테칸 HCL	Hycamtin	GlaxoSmithKline
화학요법제		
아드리아마이신, 5-플루오르우라실, 시토신, 블레오마이신, 미토마이신 C, 다우노마이신, 카르미노마이신, 아미노테린, 닥티노마이신, 미토마이신, 에스페라마이신, 플로파라빈, 머캅토퓨린, 펜토스타틴, 티오구아닌, 시타라빈, 데시타빈, 플록스우리딘, 켐시타빈(Gemzar), 엔도시타빈, 사파시타빈		
호르몬 치료제		
아바렐릭스	Plenaxis™	Amgen
아비라테론 아세테이트	CB7630	BTG ple
아피목시펜	TamoGel	Ascend Therapeutics, Inc.
아나스트라졸	Arimidex	AstraZeneca
아로마타제 억제제	Atamestane plus toremifene	Intarcia Therapeutics, Inc.
	Arzoxifene	Eli Lilly & Co.
아센타; DN-101		Novartis; Oregon Health & Science Univ.
비칼루타미드	Casodex	AstraZeneca
부세렐린	Suprefact	Sanofi Aventis
세트로리릭스	Cetrotide	EMD Serono
엑세메스탄	Aromasin	Pfizer
엑세메스탄	Xtane	Natco Pharma, Ltd.
파드로졸(CGS 16949A)		
플루타미드	Eulexin	Schering
플루타미드	Prostacur	Laboratorios Almirall, S.A.
풀베스트란트	Faslodex	AstraZeneca
고세렐린 아세테이트	Zoladex	AstraZeneca
레트로졸	Femara	Novartis
레트로졸(CGS20267)	Femara	Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.
레트로졸	Estrochek	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
레트로졸	Letrozole	Indchemie Health Specialities
루프롤리드 아세테이트	Eligard	Sanofi Aventis
루프롤리드 아세테이트	Leopril	VHB Life Sciences, Inc.
루프롤리드 아세테이트	Lupron/Lupron Depot	TAP Pharma
루프롤리드 아세테이트	Viador	Bayer AG
메게스트롤 아세테이트	Megace	Bristol-Myers Squibb
메게스트롤 아세테이트	Estradio valerate(Delestrogen)	Jagsonpal Pharmaceuticals, Ltd.
메드록시프로게스테론 아세테이트	Veraplex	Combiphar
MT206		Medisyn Technologies, Inc.
나파렐린		
난드롤론 디카노에이트	Zestabolin	Mankind Pharma, Ltd.
니루타미드	Nilandron	Aventis Pharmaceuticals
라록시펜 HCL	Evista	Lilly
타목시펜	Taxifen	Yung Shin Pharmaceutical
타목시펜	Tomifen	Alkem Laboratories, Ltd.
타목시펜 시트레이트	Nolvadex	AstraZeneca

타목시펜 시트레이트	Soltamox	EUSA Pharma, Inc.
타목시펜 시트레이트	Tamoxifen citrate SOPHARMA	Sopharma JSCo.
토레미펜 시트레이트	Fareston	GTX, Inc.
트리프토렐린 파모에이트	Trelstar	Watson Labs
트리프토렐린 파모에이트	Trelstar Depot	Paladin Labs, Inc.
단백질 인산화 효소 B 억제제		
Akt 억제제 ASTEX		Astex Therapeutics
Akt 억제제 NERVIANO		Nerviano Medical Sciences
AKT 인산화효소 억제제 TELIK		Telik, Inc.
AKT DECIPHERA		Deciphera Pharmaceuticals, LLC
페리포신(KRX0401, D-21266)		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
도세탁셀과 페리포신		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
젠티타빈과 페리포신		AEterna Zentaris, Inc.
파클리탁셀과 페리포신		Keryx Biopharmaceuticals, Inc., AEterna Zentaris, Inc.
단백질 인산화효소-B 억제제 DEVELOGEN		DeveloGen AG
PX316		Oncothyreon, Inc.
RX0183		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
RX0201		Rexahn Pharmaceuticals, Inc.
VQD002		VioQuest Pharmaceuticals, Inc.
XL418		Exelixis, Inc.
ZEN027		AEterna Zentaris, Inc.
포스파티딜이노시톨 3-인산화효소 억제제		
BEZ235		Novartis AG
BGT226		Novartis AG
CAL101		Calistoga Pharmaceuticals, Inc.
CHR4432		Chroma Therapeutics, Ltd.
Erk/PI3K 억제제 ETERNA		AEterna Zentaris, Inc.
GDC0941		Genentech Inc./Piramed Limited/Roche Holdings, Ltd.
Enzastaurin HCL(LY317615)	Enzastaurin	Eli Lilly
LY294002/Wortmannin		
PI3K 억제제 SEMAFORE		Semafore Pharmaceuticals
PX866		Oncothyreon, Inc.
SF1126		Semafore Pharmaceuticals
VMD-8000		VM Discovery, Inc.
XL147		Exelixis, Inc.
XL147과 XL647		Exelixis, Inc.
XL765		Exelixis, Inc.
PI-103		Roche/Piramed
사이클린-의존적 인산화효소 억제제		
CYC200, r-로스코비틴	Seliciclib	Cyclacel Pharma
NSC-649890, L86-8275, HMR-J275	Alvocidib	NCI
TLR9, CD289		

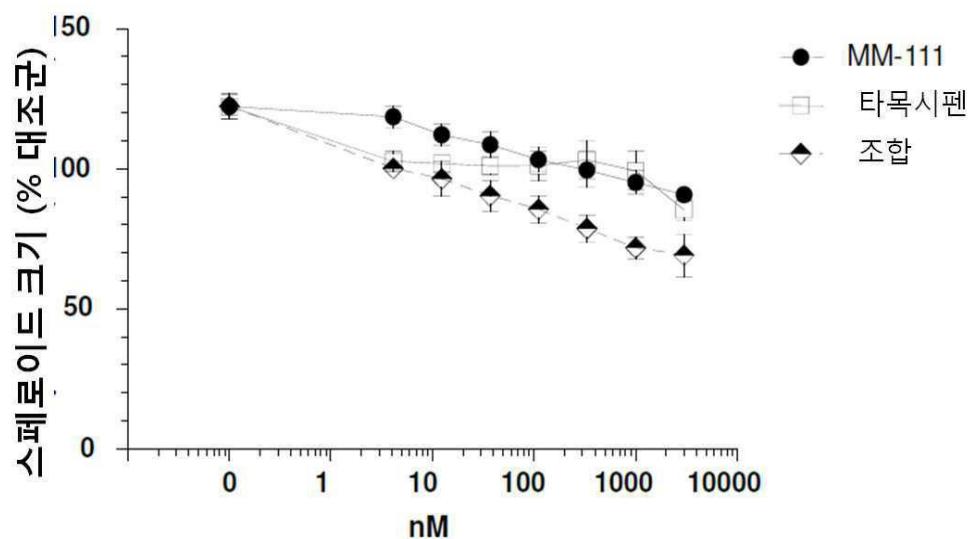
IMOxine		Merck KGaA
HYB2055		Idera
IMO-2055		Isis Pharma
1018ISS		Dynavax Technologies/UCSF
PF-3512676		Pfizer
효소 억제제		
로나파르닙(SCH66336)	Sarasar	SuperGen, U Arizona
항-TRAIL		
AMG-655		Aeterna Zentaris, Keryx Biopharma
Apo2L/TRAIL, AMG951		Genentech, Amgen
아포맙(완전 인간화 mAb)		Genentech
기타		
임프라임 PGG		Biothera
CHR-2797	AminopeptidaseM1	Chroma Therapeutics
E7820, NSC 719239	Integrin-alpha2	Eisai
INCB007839	ADAM 17, TACE	Incyte
CNF2024, BIIB021	Hsp90	Biogen Idec
MP470, HPK-56	Kit/Met/Ret	Shering-Plough
SNDX-275/MS-275	HDAC	Syndax
자르네스트라, 티피파르닙, R115777	Ras	Janssen Pharma
볼로식시맙; Eos200-4, M200	alpha5beta1 integrin	Biogen Idec; Eli Lilly/UCSF/PDL BioPharma
아프리콕십(TP2001)	COX-2 inhibitor	Daiichi Sankyo; Tragara Pharma

도면

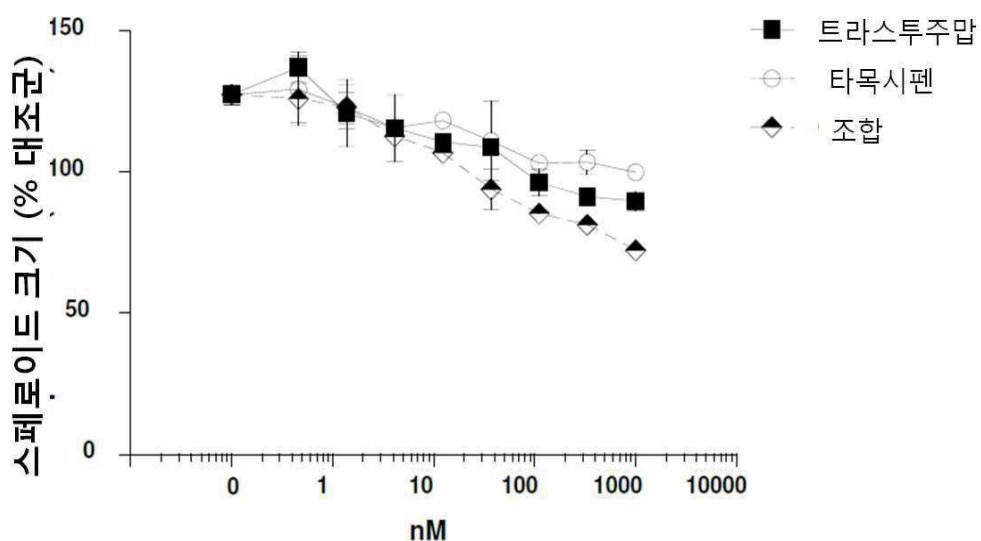
도면1



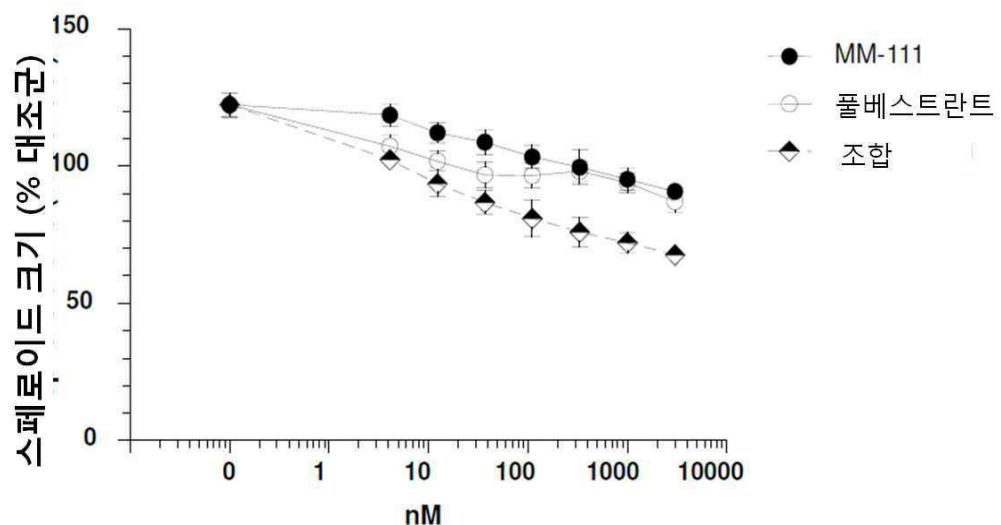
도면2a



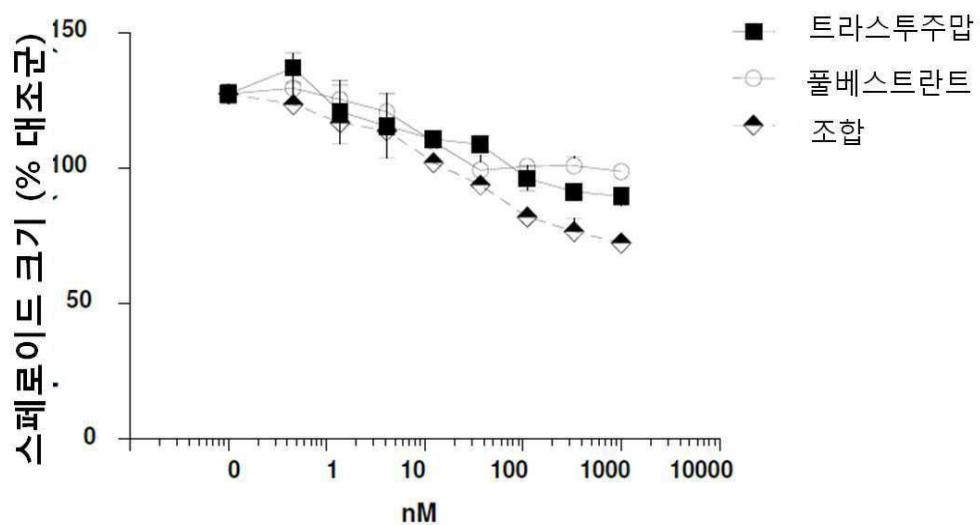
도면2b



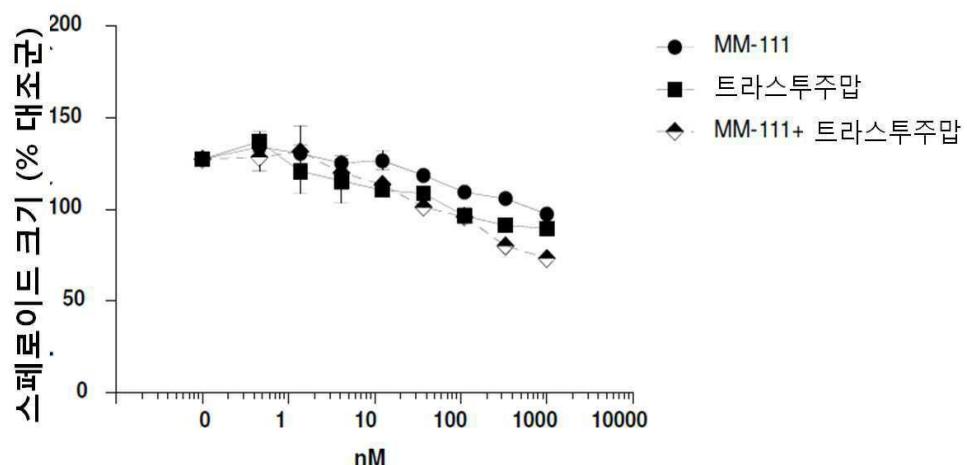
도면2c



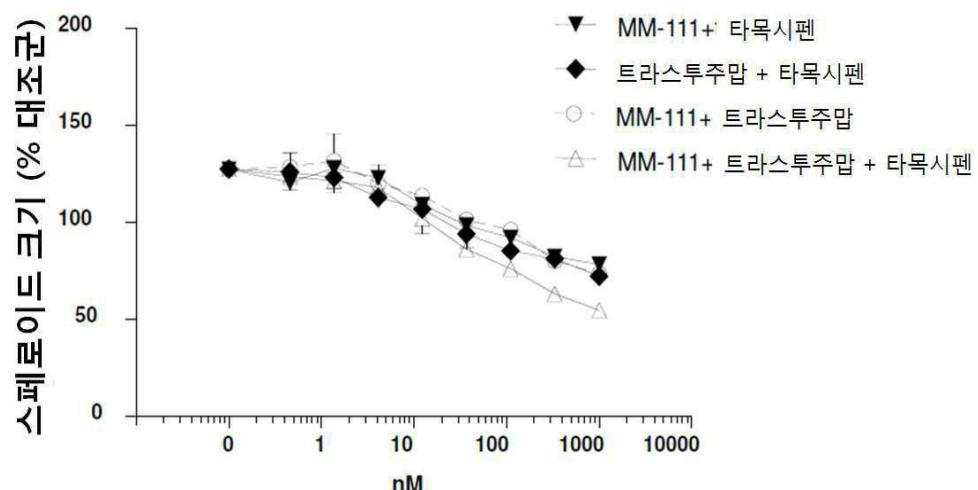
도면2d



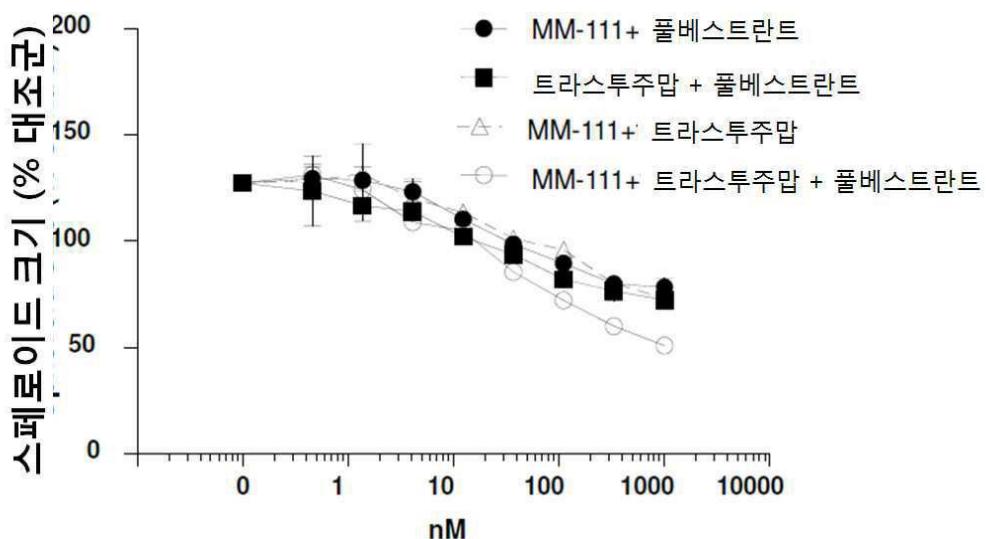
도면2e



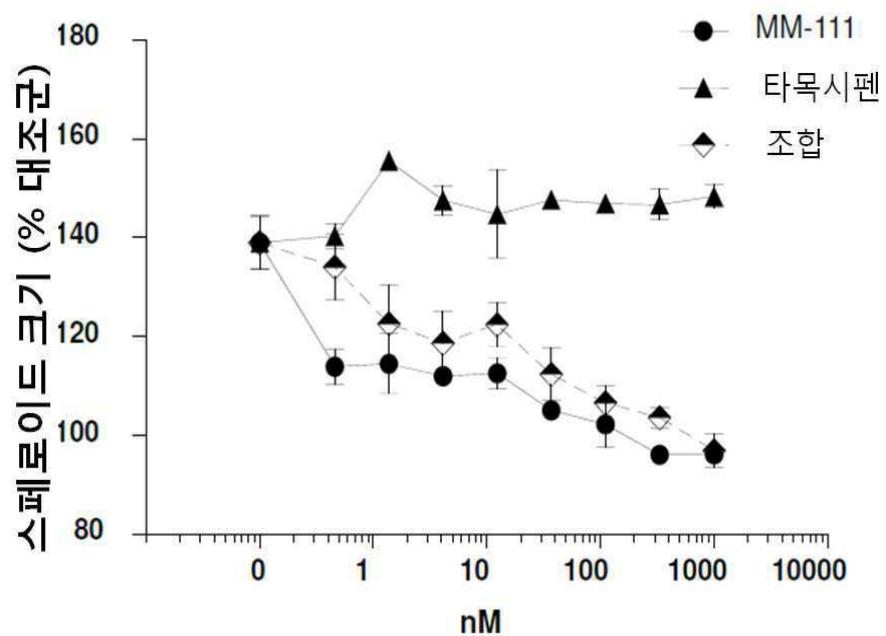
도면2f



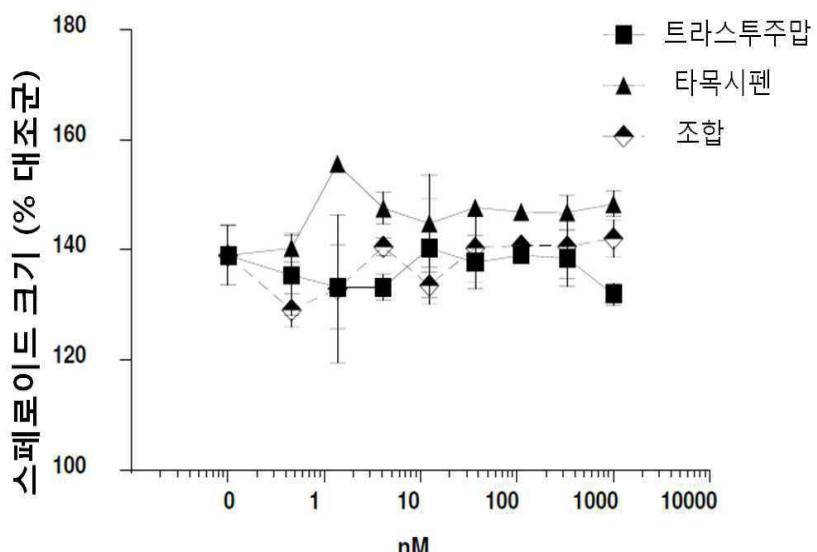
도면2g



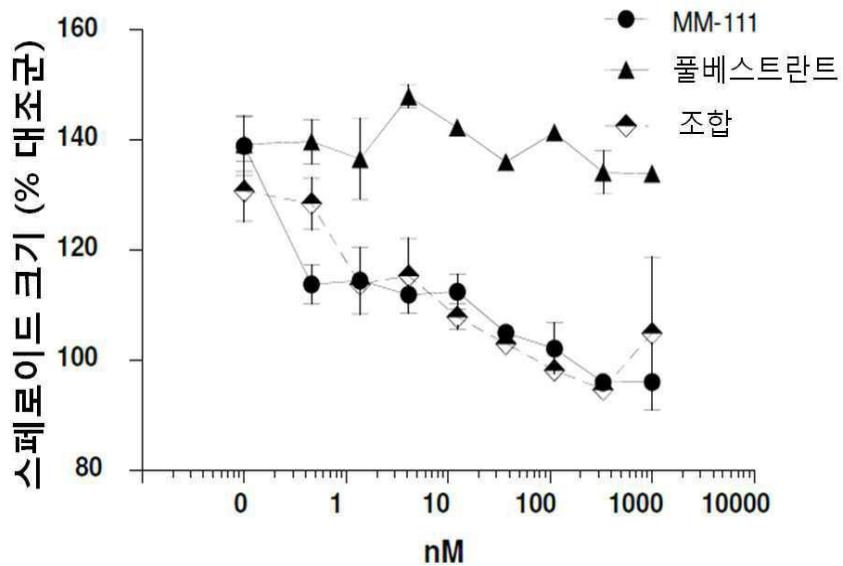
도면3a



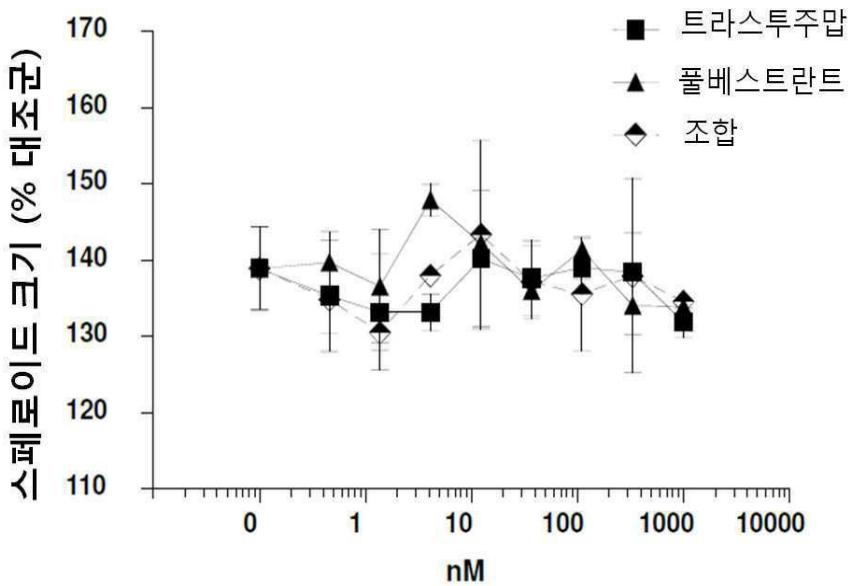
도면3b



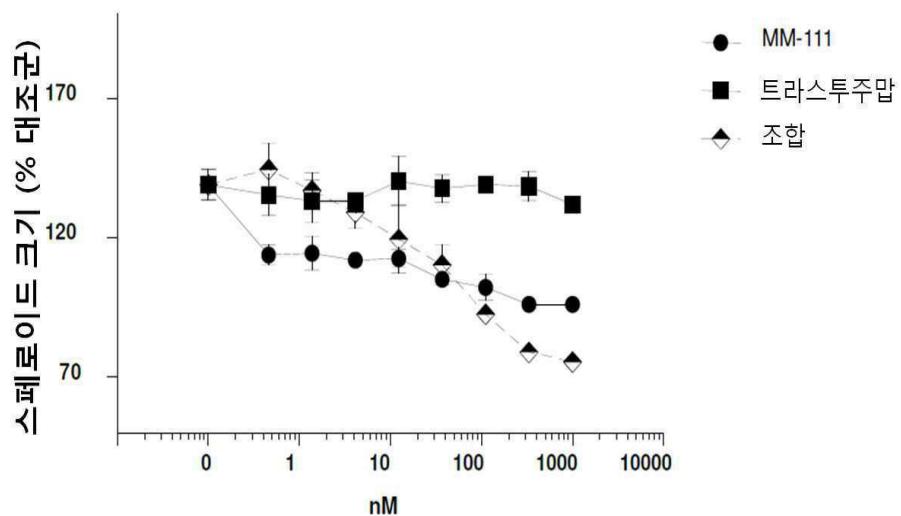
도면3c



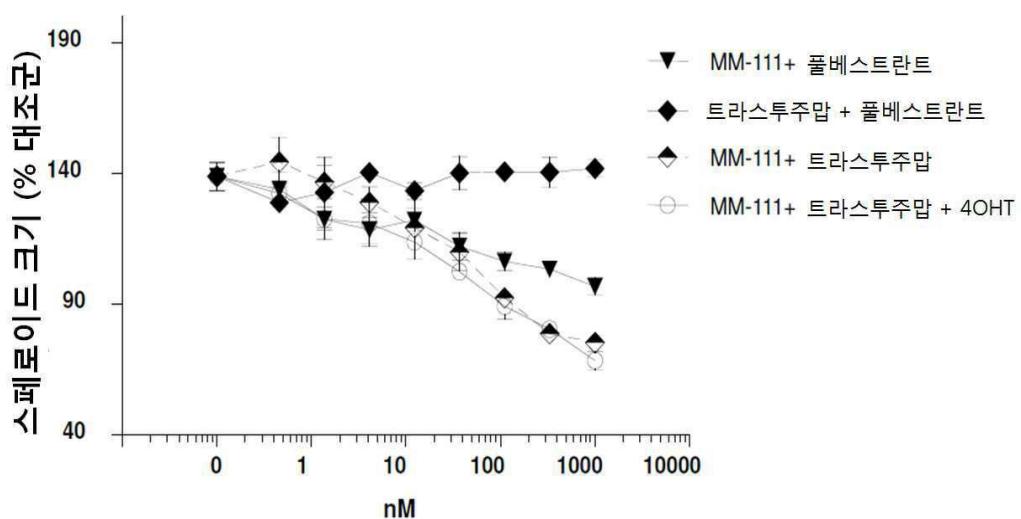
도면3d



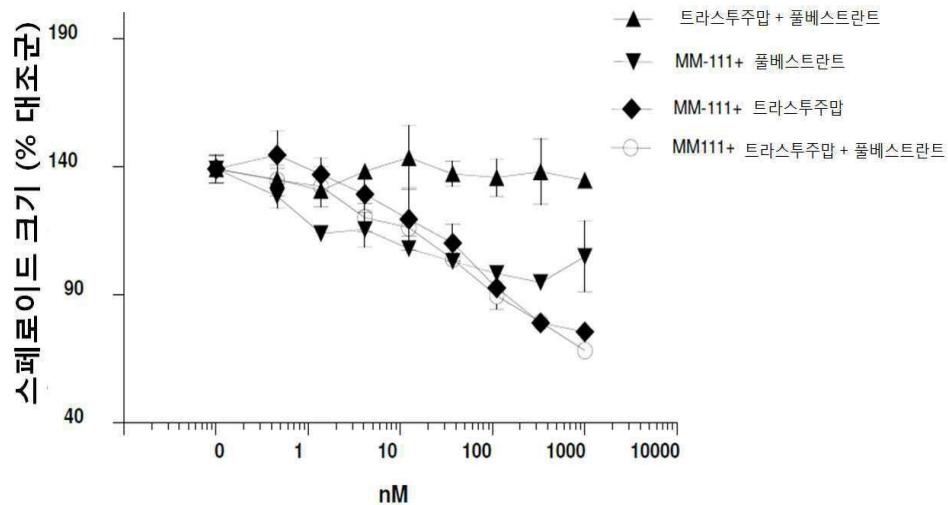
도면3e



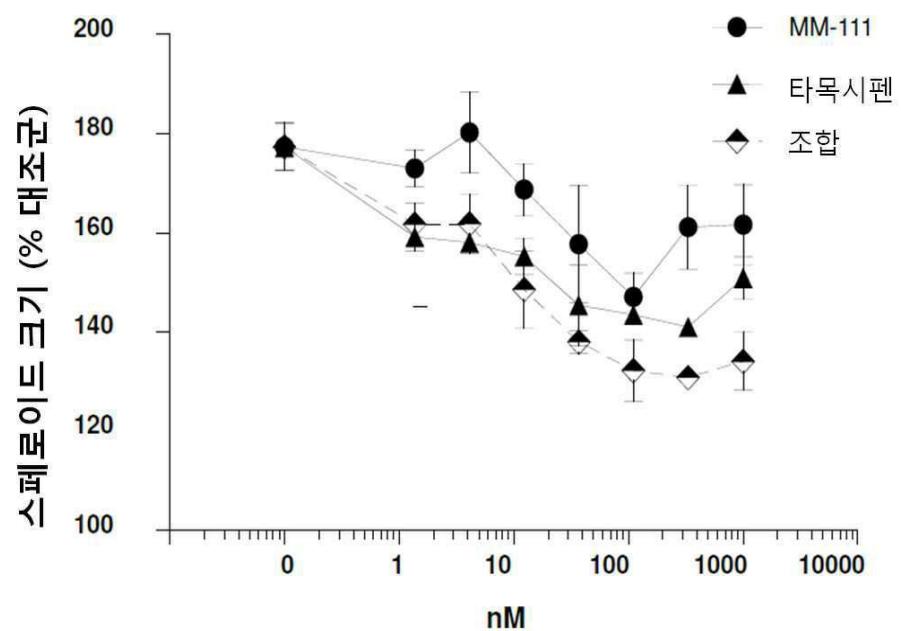
도면3f



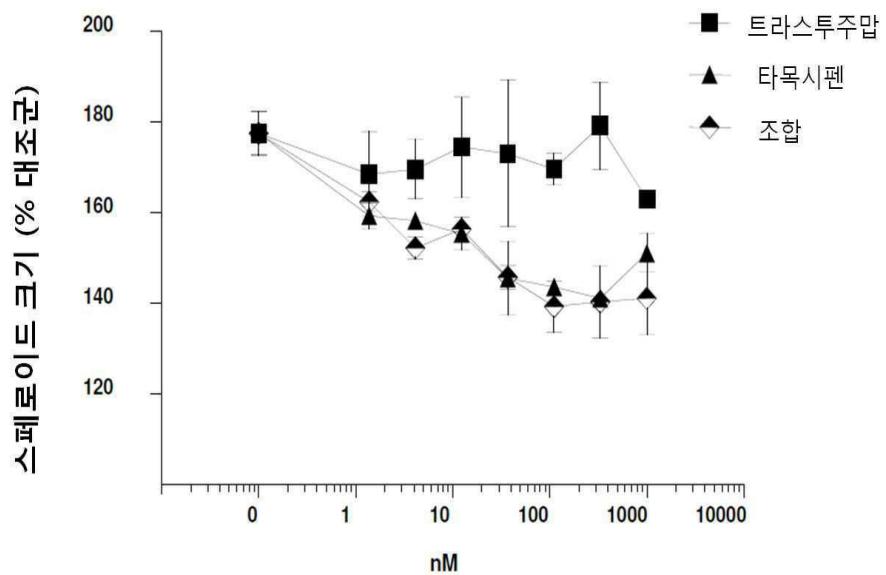
도면3g



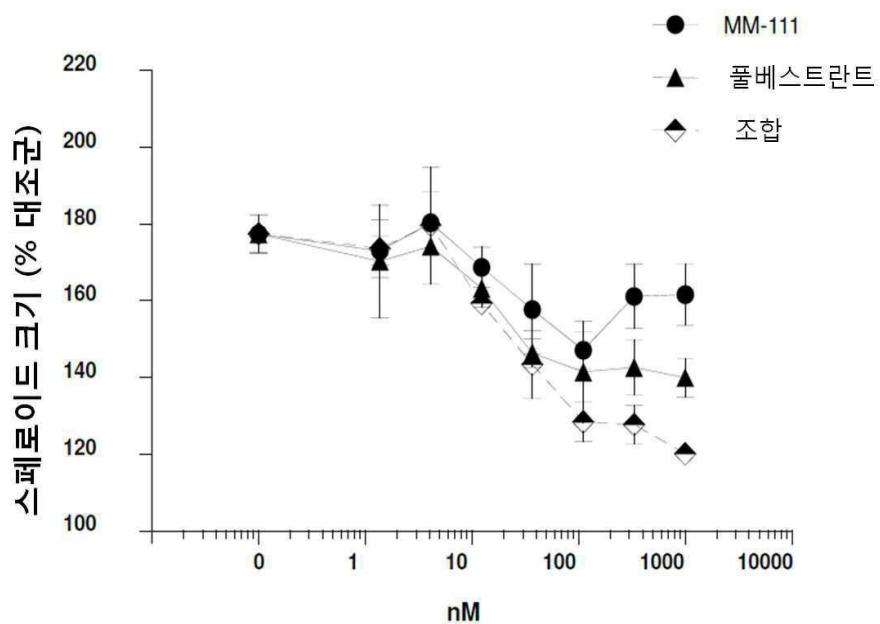
도면4a



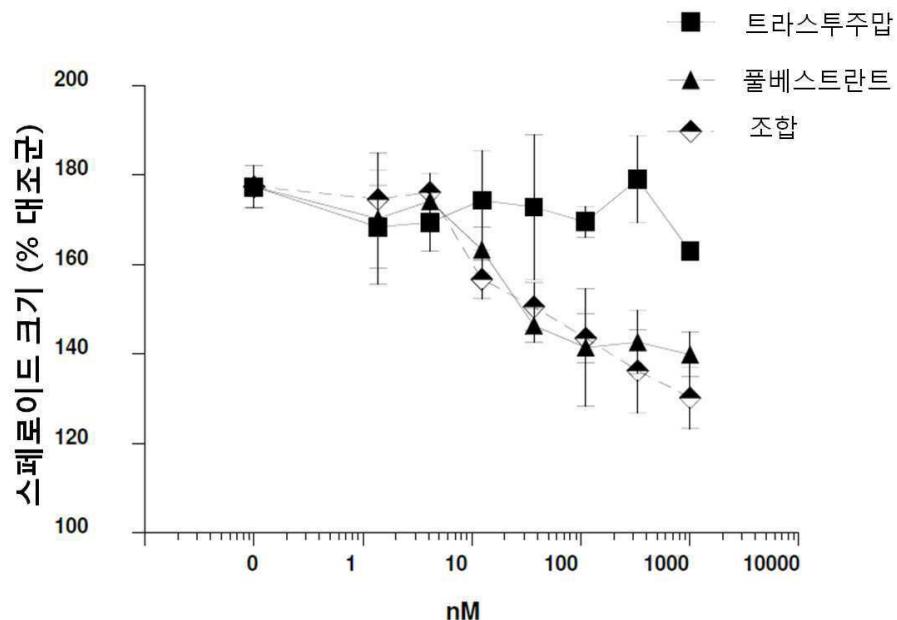
도면4b



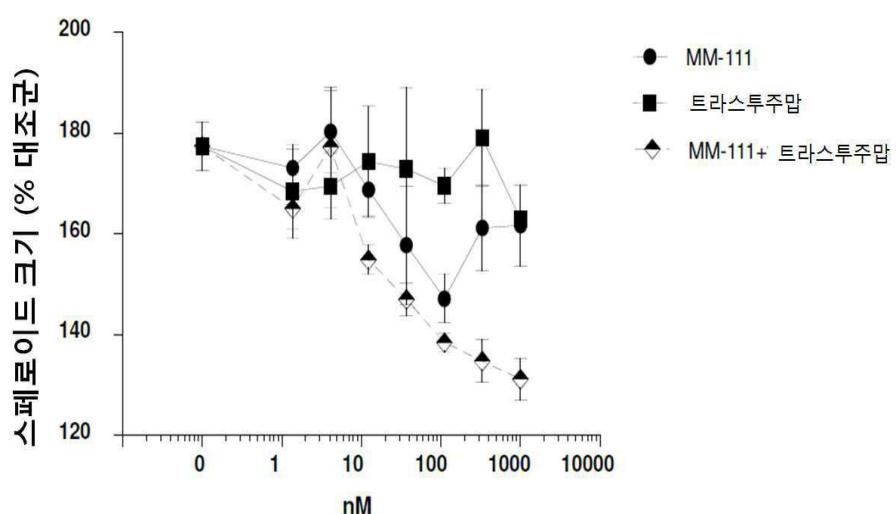
도면4c



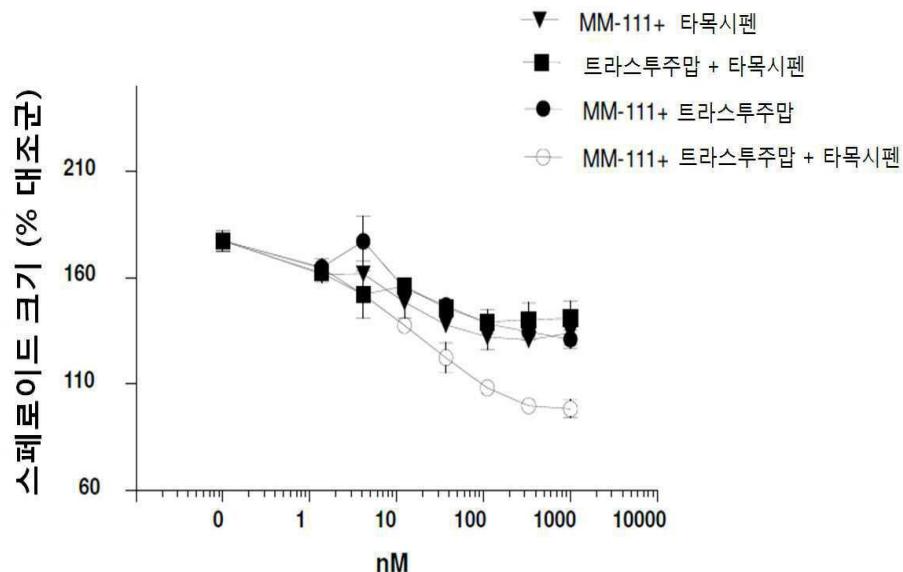
도면4d



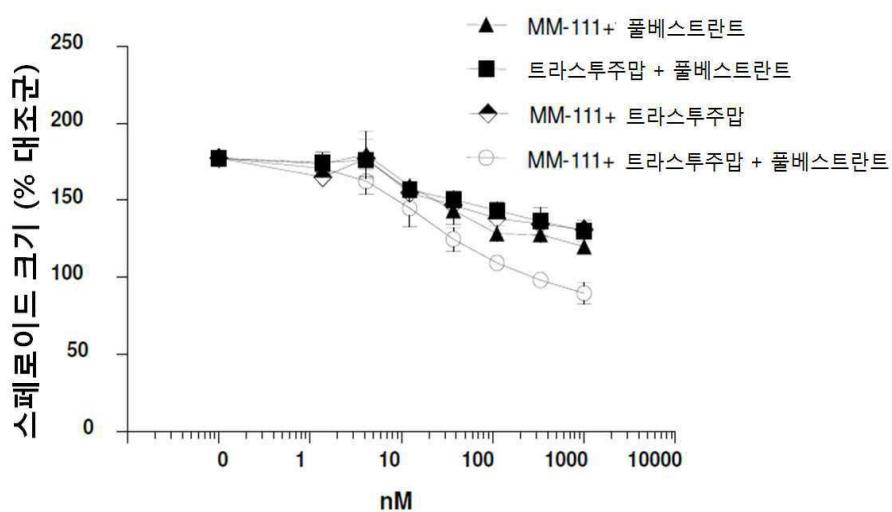
도면4e



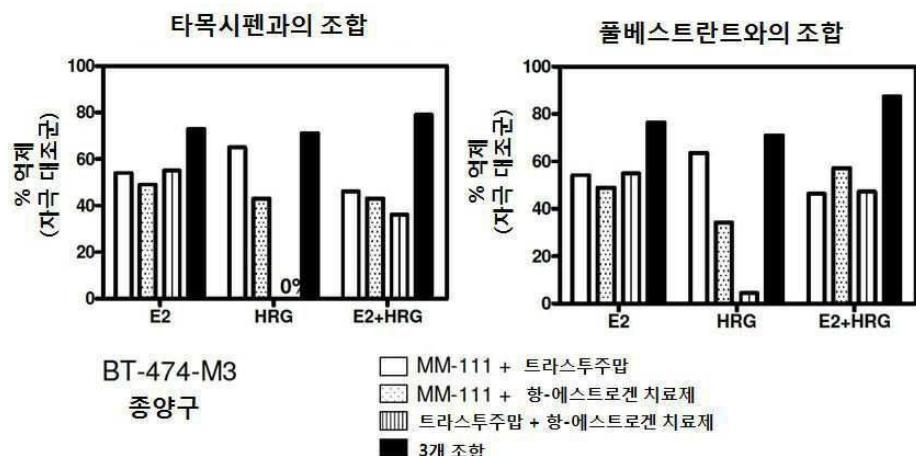
도면4f



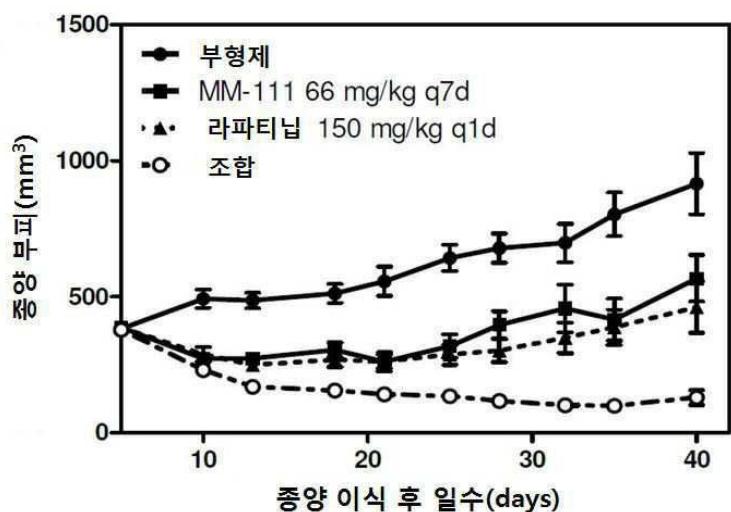
도면4g



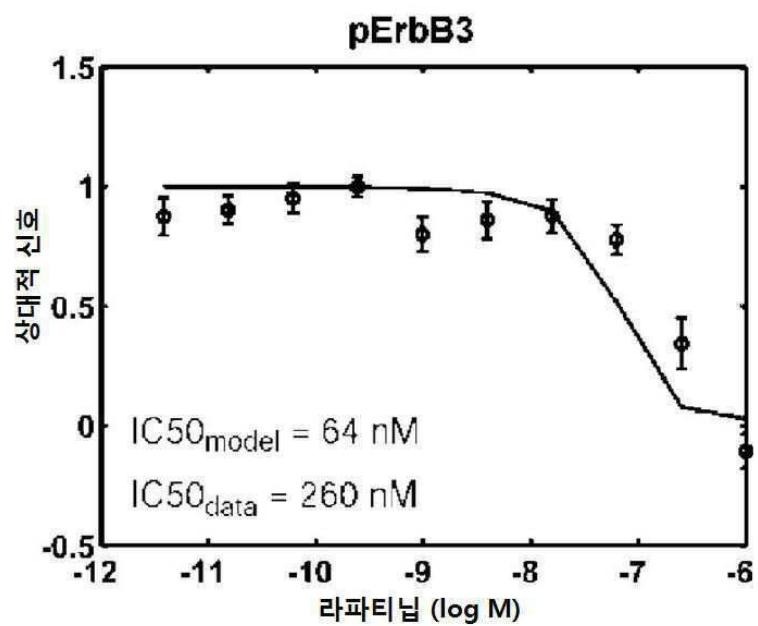
도면5



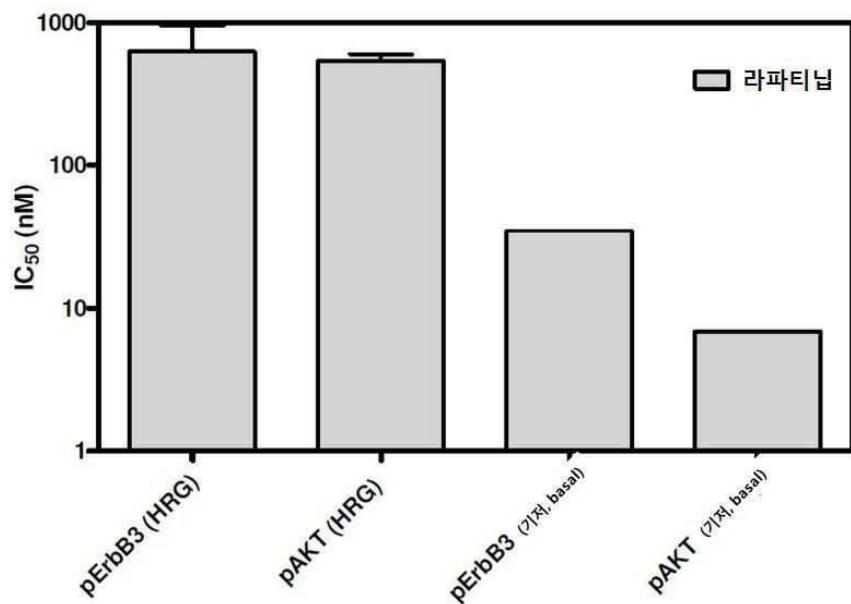
도면6



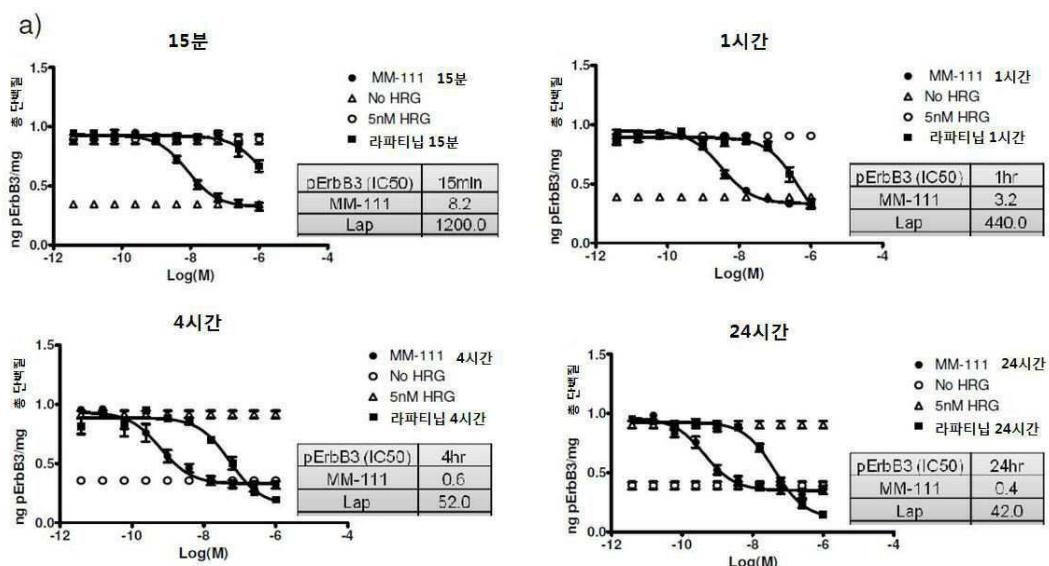
도면7a



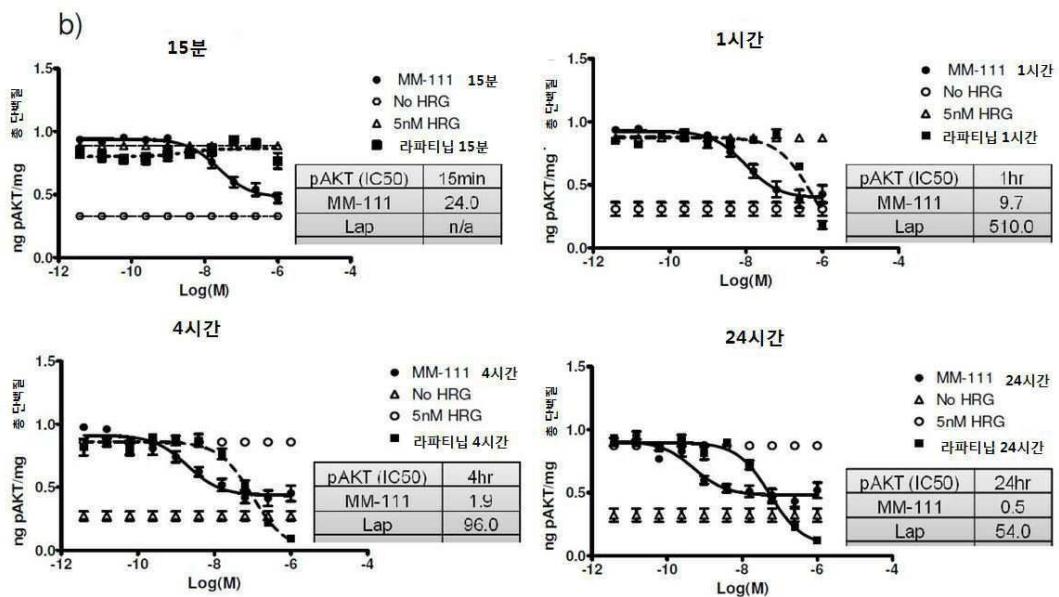
도면7b



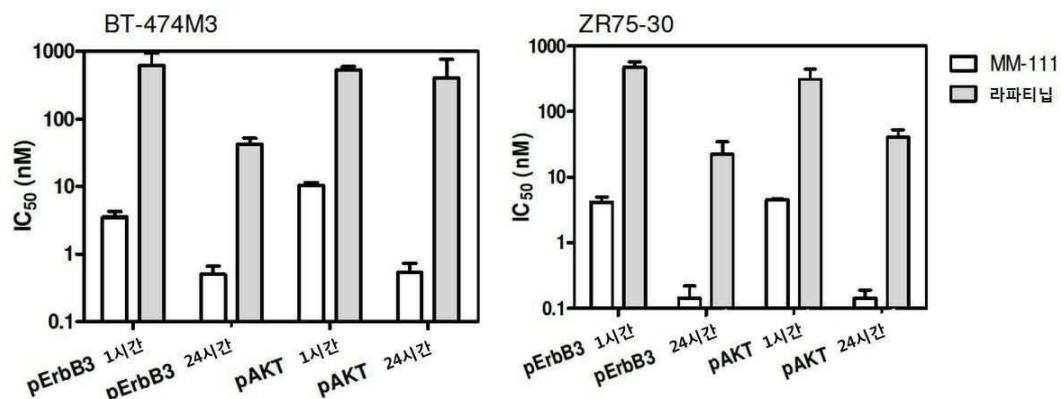
도면8a



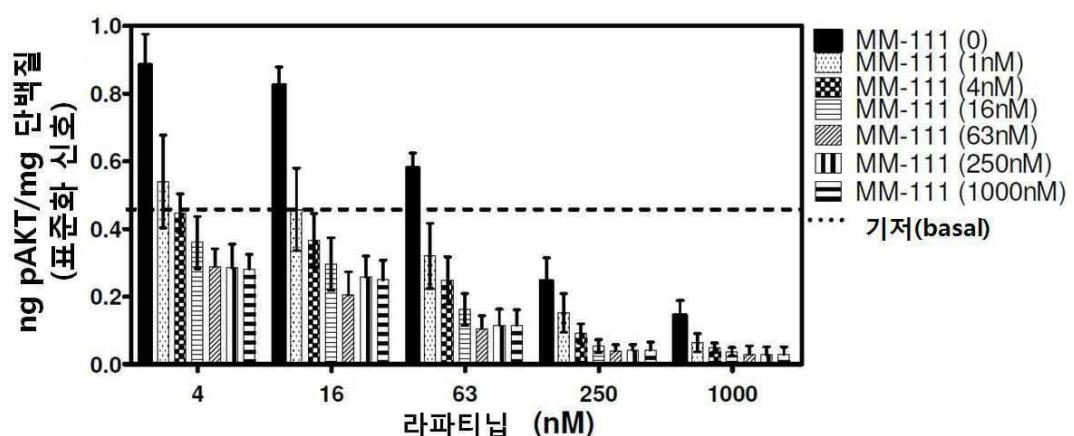
도면8b



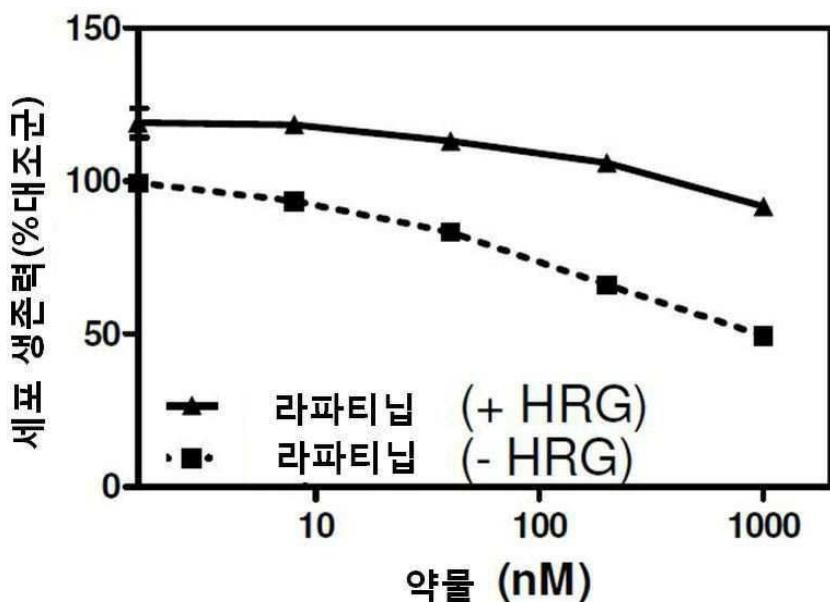
도면8c



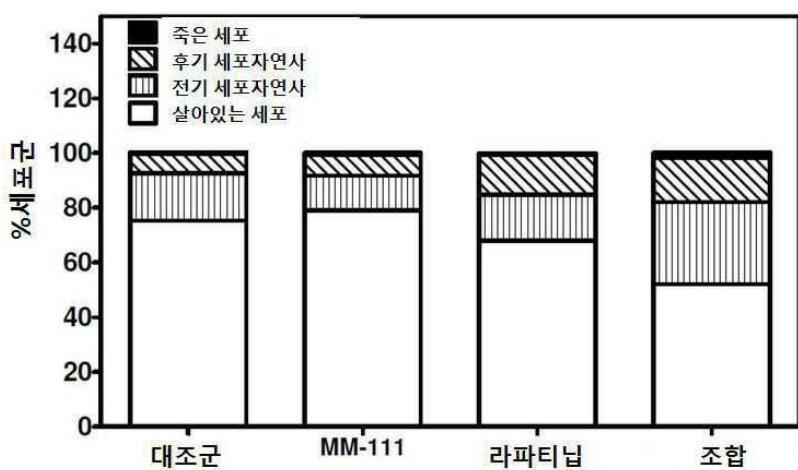
도면9



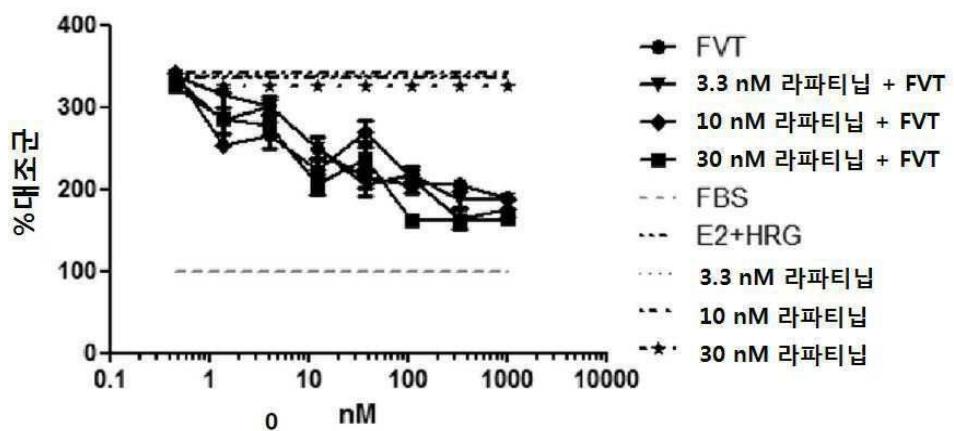
도면10



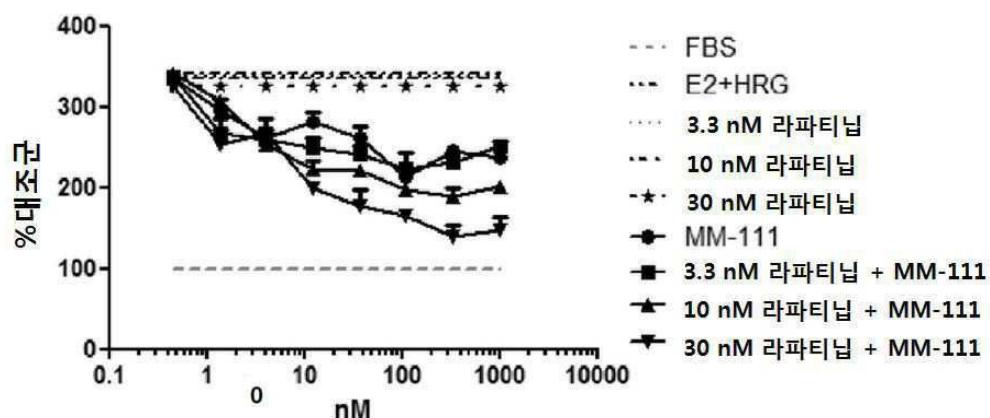
도면11



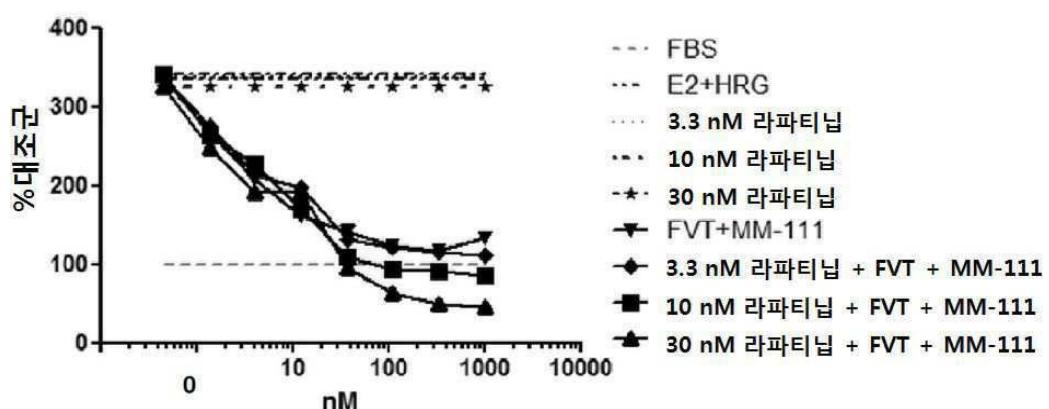
도면12a



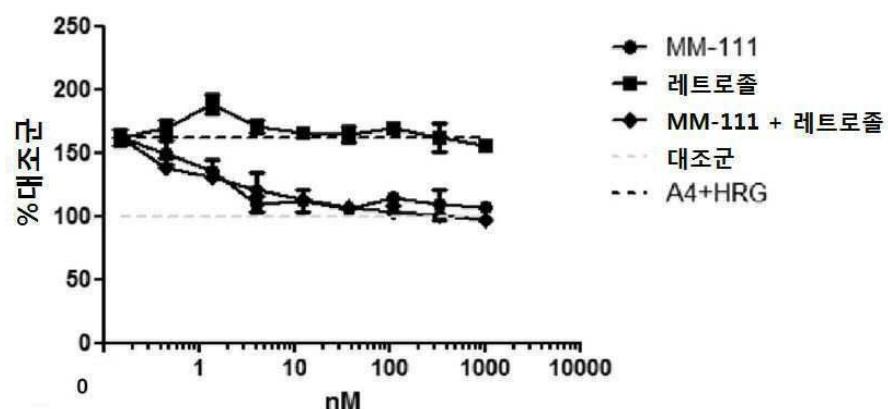
도면12b



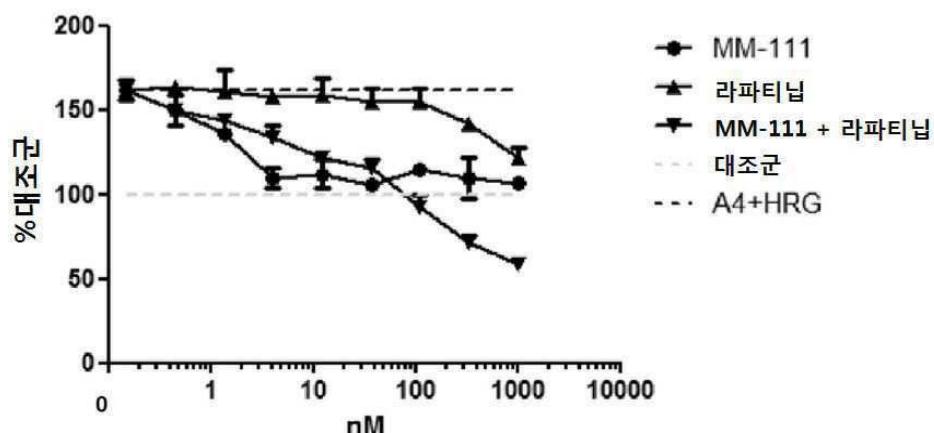
도면12c



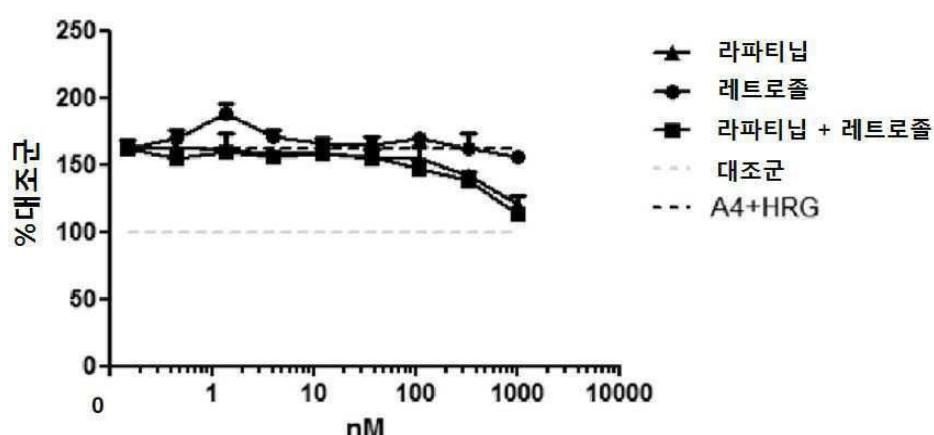
도면13a



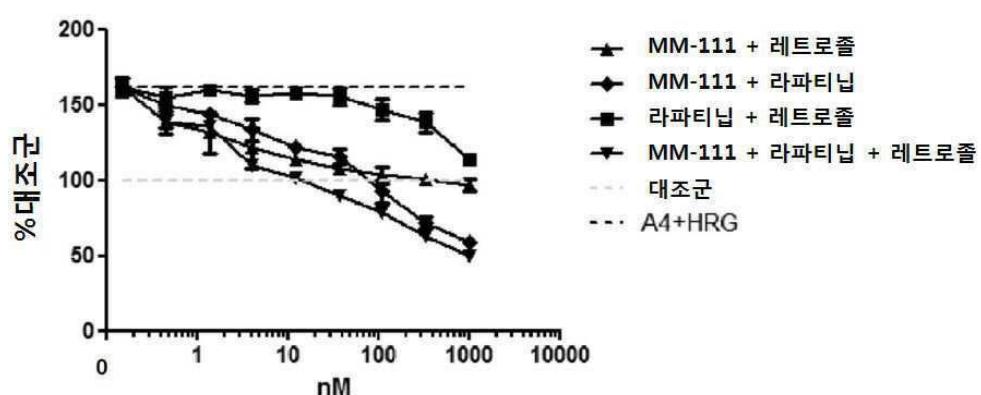
도면13b



도면13c



도면13d



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Merrimack Pharmaceuticals, Inc.

<120> COMBINATION THERAPIES COMPRISING ANTI-ERBB3 AGENTS

<130> 06727/033W03
 <140> PCT/US2012/026602
 <141> 2012-02-24
 <150> US 61/470,848
 <151> 2011-04-01
 <150> US 61/446,326
 <151> 2011-02-24
 <160> 1
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 1095
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 1

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

1	5	10	15												
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
20															
Trp	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35															
Ala	Asn	Ile	Asn	Arg	Asp	Gly	Ser	Ala	Ser	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val
50															
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr
65															
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85															
Ala	Arg	Asp	Arg	Gly	Val	Gly	Tyr	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly	Arg	Gly	Thr
100															
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
115															
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	

130	135	140
Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly		
145	150	155
Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln		
165	170	175
His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp Val Ser Asp Arg		
180	185	190
Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr		
195	200	205
Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr		
210	215	220
Tyr Cys Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Thr His Val Ile Phe Gly Gly		
225	230	235
Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ser Asp Ala His Lys Ser		
245	250	255
Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala		
260	265	270
Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu		
275	280	285
Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys		
290	295	300
Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu		
305	310	315
Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly		
325	330	335
Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys		
340	345	350
Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg		
355	360	365
Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr		
370	375	380

Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe

385 390 395 400

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe

405 410 415

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

420 425 430

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg

435 440 445

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala

450 455 460

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala

465 470 475 480

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys

485 490 495

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala

500 505 510

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu

515 520 525

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val

530 535 540

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe

545 550 555 560

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val

565 570 575

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr

580 585 590

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu

595 600 605

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val

610 615 620

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys

625	630	635	640
Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn			
645	650	655	
Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro			
660	665	670	
Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys			
675	680	685	
Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu			
690	695	700	
Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val			
705	710	715	720
Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg			
725	730	735	
Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu			
740	745	750	
Phe Gln Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser			
755	760	765	
Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val			
770	775	780	
Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp			
785	790	795	800
Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu			
805	810	815	
Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala			
820	825	830	
Ala Leu Gly Leu Ala Ala Leu Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly			
835	840	845	
Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly			
850	855	860	
Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Ala Trp Val Arg Gln Met			
865	870	875	880

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Met Gly Leu Ile Tyr Pro Gly Asp Ser

885 890 895

Asp Thr Lys Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val

900 905 910

Asp Lys Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Pro

915 920 925

Ser Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg His Asp Val Gly Tyr Cys

930 935 940

Thr Asp Arg Thr Cys Ala Lys Trp Pro Glu Trp Leu Gly Val Trp Gly

945 950 955 960

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly

965 970 975

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro

980 985 990

Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly

995 1000 1005

Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln

1010 1015 1020

Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp His Thr Asn

1025 1030 1035

Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly

1040 1045 1050

Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Phe Arg Ser Glu Asp Glu

1055 1060 1065

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Tyr Thr Leu Ser Gly Trp

1070 1075 1080

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly

1085 1090 1095