



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년12월11일
(11) 등록번호 10-1807319
(24) 등록일자 2017년12월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7014272
(22) 출원일자(국제) 2009년11월20일
심사청구일자 2014년11월20일
(85) 번역문제출일자 2011년06월21일
(65) 공개번호 10-2011-0086863
(43) 공개일자 2011년08월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2009/065381
(87) 국제공개번호 WO 2010/059969
국제공개일자 2010년05월27일
(30) 우선권주장
61/117,102 2008년11월22일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
EJC Suppl., Vol. 6, No. 8, pp. 13-18
(2008.04.)*
J. Chemother., Vol. 20, No. 5, pp. 632-639
(2008.10.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
파이페, 켈들린
미국 94133 캘리포니아주 샌프란시스코 라 페레라
테라스 20
판, 시 춘
미국 94025 캘리포니아주 멘로 파크 산타 크루즈
애비뉴 2153
주, 시안
미국 94404 캘리포니아주 포스터 시티 스티븐 레인
1012
(74) 대리인
양영준, 이귀동, 위혜숙

전체 청구항 수 : 총 5 항

심사관 : 이준혁

(54) 발명의 명칭 **유방암의 치료를 위한, 화학요법과 조합된 항-VEGF 항체의 용도**

(57) 요약

본 발명은 일반적으로 항-VEGF 항체를 사용한 질환 및 병리 상태의 치료에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 항-VEGF 항체를 바람직하게는 1종 이상의 추가의 항-종양 치료제와 조합하여 사용하여 유방암에 감수성이 있거나 유방암으로 진단된 인간 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다.

(30) 우선권주장

61/178,009 2009년05월13일 미국(US)

61/179,307 2009년05월18일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

유효량의 1종 이상의 화학요법제 및 항-VEGF 항체인 베바시주맵을 포함하는, 국소 재발성 또는 전이성 유방암으로 진단된 대상체를 치료하기 위한 치료학적 조합물로서, 여기서 상기 대상체는 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 위한 임의의 화학요법제를 투여받은 적이 없고/없거나 이전의 아주반트 화학요법제를 마지막 투여 이후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없으며, 상기 치료학적 조합물은 대상체의 무진행 생존을 효과적으로 연장시키는 것이고, 상기 화학요법제는 5-플루오로우라실, 에피루비신 및 시클로포스파미드; 또는 5-플루오로우라실, 독소루비신 및 시클로포스파미드; 또는 독소루비신 및 시클로포스파미드; 또는 에피루비신 및 시클로포스파미드이고, 베바시주맵의 투여가 각 21일 주기의 제1일에 15 mg/kg IV 투여이고, 화학요법제가 3주마다 제1일에 500 mg/m²로 IV 투여되는 5-플루오로우라실, 90 내지 100 mg/m²로 IV 투여되는 에피루비신 및 500 mg/m²로 IV 투여되는 시클로포스파미드; 또는 3주마다 제1일에 500 mg/m²로 IV 투여되는 5-플루오로우라실, 50 mg/m²로 IV 투여되는 독소루비신 및 500 mg/m²로 IV 투여되는 시클로포스파미드; 또는 3주마다 제1일에 50 내지 60 mg/m²로 IV 투여되는 독소루비신 및 500 내지 600 mg/m²로 IV 투여되는 시클로포스파미드; 또는 3주마다 제1일에 90 내지 100 mg/m²로 IV 투여되는 에피루비신 및 500 내지 600 mg/m²로 IV 투여되는 시클로포스파미드인 치료학적 조합물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 항-VEGF 항체가 인간화 항체인 치료학적 조합물.

청구항 4

제1항에 있어서, 대상체가 HER2 음성인 치료학적 조합물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제1항에 있어서, 대상체의 무진행 생존이 화학요법제를 단독으로 처치한 또 다른 대상체와 비교한 경우에 1개월 연장되는 것인 치료학적 조합물.

청구항 8

제1항에 있어서, 대상체의 무진행 생존이 화학요법제를 단독으로 처치한 또 다른 대상체와 비교한 경우에 2.9개월 연장되는 것인 치료학적 조합물.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2009년 5월 18일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/179,307, 2009년 5월 13일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/178,009, 및 2008년 11월 22일자로 출원된 미국 가출원 번호 61/117,102를 우선권 주장하고 이것들의 이점을 주장하며, 상기 문헌의 명세서는 본원에 그 전문이 포함된다.

[0003] **기술 분야**

[0004] 본 발명은 일반적으로 인간 질환 및 병리 상태의 치료에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 유방암의 치료를 위해서 단독으로 수행되거나 또는 다른 항암 요법과 조합하여 수행되는 항혈관신생 요법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 암은 여전히 인간 건강에 가장 치명적인 위협 중 하나이다. 미국에서만도 매년 거의 130만명의 새로운 암 환자가 발생하고, 이는 심장 질환 다음으로 두번째로 높은 사망 원인이며, 사망자 4명 중 대략 1명에 해당한다. 유방암은 두번째로 가장 일반적인 형태의 암이며, 미국 여성에서 두번째 암 사망 원인이다. 또한, 암이 5년 이내에 제1 사망 원인으로서는 심혈관 질환을 능가할 수 있다고 예측된다. 이러한 사망의 대부분은 충실성 종양으로 인한 것이다. 특정 암의 경우에는 의학적 치료에 유의한 진보가 있었지만, 모든 암에 대한 전반적인 5년 생존율은 지난 20년 동안 겨우 약 10%만 개선되었다. 암 또는 악성 종양은 제어되지 않는 방식으로 신속하게 전이 및 성장하기 때문에 제시간에 이를 검출하고 치료하는 것은 극도로 어려운 일이다.

[0006] 유방암은 미국에서 매년 많은 여성을 사망시키는 질환이다. 미국 암 학회(American Cancer Society)에 따르면, 2008년에는 대략 40,000명이 이 질환으로 사망할 것이다. 180,000건의 새로운 유방암 사례가 매년 진단되고, 8명의 여성 중 한명에서 유방암이 발병할 것으로 추정된다. 이러한 수치는 유방암이 오늘날의 여성들에게 직면한 가장 위험한 질환 중 하나임을 나타낸다.

[0007] 전이성 유방암은 일반적으로 불치병이며, 표준 화학요법 후에 겨우 몇명의 환자만이 장기간 생존을 달성한다 ([Greenberg et al., J. Clin. Oncol. 14:2197-2205 (1996)]).

[0008] 유방암의 기본적인 생물학 지식은 지난 30년에 걸쳐 기하급수적으로 확장되었고, 일부는 요법에 영향을 주었다. HER2 과다발현 전이성 유방암을 갖는 222명의 여성을 대상으로 한 다국적 공개 제II상 실험은 HER2에 대한 재조합 인간화 모노클로날 항체 (트라스투주맙, 또한 헤르셉틴(Herceptin)[®]이라고도 공지됨, 미국 사우스 샌 프란시스코 소재의 제넨테크(Genentech)) 사용시에 반응률이 15%이며, 6명은 완전한 반응으로 확인된 것으로 나타났다 ([Cobleigh et al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 17:97 (1998)]). 무작위화 제III상 실험은 파클리탁셀 또는 독소루비신과 시클로포스파미드의 조합물을 사용한 1차 화학요법에 헤르셉틴을 추가하는 경우의 안전성 및 효능을 평가하였다. 전반적인 반응률 및 진행까지의 시간은, 상기 화학요법제 단독의 경우에 비해 화학요법에 헤르셉틴을 추가한 경우에서 유의하게 개선되었다 ([Slamon et al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 17:98 (1998)]). 더욱 중요한 것은, 헤르셉틴의 추가가 전체 생존률을 연장시켰다는 점이다 ([Norton et al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 18:127a (1999)]).

[0009] 트라스투주맙은 HER2 과다발현 암을 갖는 유방암 환자의 하위집단 치료를 위해 승인을 받은 최초의 신규한 생물학적 기제의 치료제이지만, 여러가지 다른 접근법이 유망한 것으로 나타났고 임상 실험에 들어갔다. 전이성 유방암으로 새로 진단을 받게 될 여성의 75%가 HER2-음성이라고 추정된다. 추가의 유방암 집단을 위해서 혈관신생을 억제하는 화합물에 특별한 관심이 생겼고, 이것은 미국 및 기타 국가 모두에서 임상 실험의 대상이다.

[0010] 혈관신생은 혈관 내피 세포가 증식하고 불필요한 부분을 잘라내며 재구성하여 기존의 혈관망으로부터 새로운 혈관을 형성하는 중요한 세포 사건이다. 혈관 공급의 발달이 정상적 및 병리적 증식 과정에 필수적이라는 설득력 있는 증거가 있다 ([Folkman and Klagsbrun Science 235:442-447(1987)]). 산소 및 영양분의 전달 및 또한 이화 생성물의 제거는, 다세포 유기체에서 발생하는 대다수의 성장 과정에 있어서의 속도 제한 단계를 대표한다.

[0011] 새로운 혈관의 유도가 종양 혈관신생의 우세한 방식이라고 여겨지지만, 최근의 데이터는 일부 종양이 기존의 숙주 혈관을 공동-선택하여 성장할 수 있음을 나타냈다. 이후, 공동-선택된 혈관계는 퇴행하여 종양 퇴행을 유발하고, 이것은 결국 종양 주변에서의 저산소증-유도된 혈관신생에 의해 역전된다 ([Holash et al., Science 284:1994-1998 (1999)]).

[0012] 정상적인 혈관신생과 비정상적인 혈관신생 둘다의 핵심적인 양성 조절자 중 하나는 혈관 내피 성장 인자(VEGF)-A이다. VEGF-A는 VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F 및 PlGF를 포함하는 유전자 부류의 일부이다. VEGF-A는 주로 2종의 고친화도 수용체 티로신 키나제인 VEGFR-1 (Flt-1) 및 VEGFR-2 (Flk-1/KDR)에 결합하는데, 후자의 것은 VEGF-A의 혈관 내피 세포 유사분열촉진 신호의 주요 전달자이다. 추가로, 뉴로필린-1이 헤파린 결합 VEGF-A 이소형에 대한 수용체로서 확인되었고, 이는 혈관 발생시에 소정의 역할을 할 수 있다.

[0013] VEGF는 혈관신생 및 혈관형성(vasculogenesis)에 있어서의 혈관신생 인자인 것 이외에도 다형질성 성장 인자로

서 다른 생리 과정, 예컨대 내피 세포 생존, 혈관 투과성 및 혈관확장, 단핵구 화학주성 및 칼슘 유입에서 여러 가지 생물학적 효과를 나타낸다 ([Ferrara and Davis-Smyth (1997), 상기 문헌]). 추가로, 몇가지 비-내피 세포 유형, 예를 들어 망막 색소 상피 세포, 췌장관 세포 및 쉬반 세포에 대한 VEGF의 유사분열촉진 효과가 연구에서 보고되었다 ([Guerrin et al., J. Cell Physiol. 164:385-394 (1995)], [Oberge-Welsh et al., Mol. Cell. Endocrinol. 126:125-132 (1997)], [Sondell et al., J. Neurosci. 19:5731-5740 (1999)]).

[0014] VEGF를 병리 상태에서의 혈관신생의 주요 조절자로 인식함으로써, 병리적 혈관신생과 관련이 있는 상태에서 VEGF 활성을 차단시키고자 하는 수많은 시도가 있었다. VEGF 발현은 대다수의 악성 종양에서 상향조절되고, VEGF의 과다발현은 많은 증실성 종양에서 보다 진행된 병기 또는 보다 불량한 예후와 상관관계가 있다. 따라서, VEGF 신호전달 경로를 억제하는 분자는 병리적 혈관신생이 인지되는 비교적 진행된 증실성 종양의 치료에 사용되어 왔다.

[0015] 암은 여전히 가장 치명적인 위협 중 하나이기 때문에, 환자를 위한 추가의 암 치료법이 요구된다. 구체적으로, 독성을 최소화 하면서 증상 예방을 위해 질한 제어를 개선시킨, MBC 환자의 치료법이 요구된다. 하기하는 개시 내용을 검토할 때 명백할 바와 같이, 본 발명은 이러한 요구 및 기타 요구에 관한 것이다.

발명의 내용

[0016] 요약

[0017] 본 발명은 유방암 환자를 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암에 대해 효과적으로 치료하는데 있어서 항-VEGF 항체의 용도에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 인간 대상체에서 베바시주맵 (아바스틴(AVASTIN)[®])을 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암을 갖는 대상체에서의 화학요법 처방제(chemotherapy regimen)와 조합하여 사용한 무작위화 제III상 임상 실험으로부터의 데이터를 제공한다. 이러한 화학요법 처방제는 탁산 요법 (예를 들어, 도세탁셀 또는 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산(Abraxane)[®])), 안트라사이클린 요법 (예를 들어, 독소루비신, 에피루비신 또는 이것들의 조합물) 또는 카페시타빈 요법을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 치료법은 국소 재발성 또는 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암을 위한 1차 요법으로서 사용된다. 실험의 성공은 표준 화학요법에 항-VEGF 항체를 추가하는 것이 유방암 환자에게 통계적으로 유의하고 임상적으로 의미가 있는 이점을 제공한다는 것을 보여준다. 추가로, 안전성은 이전의 베바시주맵 실험 결과와 일치했다.

[0018] 전이성 유방암을 갖는 인간 대상체에서 베바시주맵을 사용한 임상 연구로 얻어진 결과는 무진행 생존 (PFS)으로 평가하여 특히 화학요법제 단독 사용의 경우의 PFS 데이터와 비교한 경우의 효능이 양성임을 보여준다. 베바시주맵을 탁산 요법 (예를 들어, 도세탁셀 또는 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®]))/안트라사이클린 요법 (예를 들어, 독소루비신, 에피루비신 또는 이것들의 조합물)과 조합하여 투여받은 임상 실험의 대상체에서는 탁산 요법 (예를 들어, 도세탁셀 또는 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®]))/안트라사이클린 요법 (예를 들어, 독소루비신, 에피루비신 또는 이것들의 조합물)을 단독으로 처치받은 대상체에 비해 무진행 생존이 증가되었다. 베바시주맵을 하기하는 바와 같은 카페시타빈 요법과 조합하여 투여받은 임상 실험의 대상체에서는 카페시타빈 요법을 단독으로 처치받은 대상체에 비해 무진행 생존이 증가되었다. 이러한 차이는 상당히 유의하였다.

[0019] 따라서, 본원에서는 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암으로 진단된 대상체에게 유효량의 1종 이상의 화학요법제 및 항-VEGF 항체를 포함하는 치료 처방제(treatment regimen)를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 대상체는 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 위한 임의의 화학요법제를 투여받은 적이 없는, 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암으로 진단된 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 임의로, 상기 대상체는 HER2-음성이다. 일부 실시양태에서, 상기 대상체는 HER2 양성이다. 임의로, 상기 대상체는 이전의 아주반트 화학요법제를 마지막 투여 이후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없다. 화학요법 및 항-VEGF 투여를 조합한 치료 처방제는 대상체의 무진행 생존 (PFS)을 효과적으로 연장시킨다. 특정 실시양태에서, 화학요법 및 항-VEGF 항체를 조합한 치료 처방제는 이전의 베바시주맵 실험 결과와 일치하는 안전성 프로파일을 갖는다.

[0020] 추가로, 본원에서는 대상체에서 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-VEGF 항체 및 1종 이상의 화학요법제의 용도가 제공되고, 여기서 상기 대상체는 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 위한 임의의 화학요법제를 투여받은 적이 없다. 임의로, 상기 대상체는 HER2-음성이다. 일부 실시양태에서, 상기 대상체는 HER2 양성이다. 임의로, 상기 대상체는 이전의 아주반트 화학요법제를 마지막 투여 이

후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없다. 항-VEGF 및 화학요법제의 사용은 대상체의 무진행 생존 (PFS)을 효과적으로 연장시킨다. 특정 실시양태에서, 화학요법제 및 항-VEGF 항체의 사용은 이전의 베바시주맙 실험 결과와 일치하는 안전성 프로파일을 갖는다.

[0021] 또한, 본원에서는 대상체에게 유효량의 화학요법제 및 항-VEGF 항체를 포함하는 치료 처방제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 대상체는 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 위한 임의의 화학요법제를 투여받은 적이 없는, 대상체에서 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-VEGF 항체가 제공된다. 임의로, 상기 대상체는 HER2-음성이다. 일부 실시양태에서, 상기 대상체는 HER2 양성이다. 임의로, 상기 대상체는 이전의 아주반트 화학요법제를 마지막 투여 이후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없다. 화학요법 및 항-VEGF의 투여를 조합한 치료 처방제는 대상체의 무진행 생존 (PFS)을 효과적으로 연장시킨다. 특정 실시양태에서, 화학요법 및 항-VEGF 항체를 조합한 치료 처방제는 이전의 베바시주맙 실험 결과와 일치하는 안전성 프로파일을 갖는다.

[0022] 본원에서 제공되는 임의의 방법, 용도 및 조성물의 특정 실시양태에서, PFS는 예를 들어 약 1개월, 1.2개월, 2개월, 2.4개월, 2.9개월, 3개월, 3.5개월, 4개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 1년, 약 2년, 약 3년 연장된다. 한 실시양태에서, PFS는 약 2.9개월 내지 3.5개월 (예를 들어, 카페시타빈 사용시) 연장된다. 한 실시양태에서, PFS는 약 1.2개월 내지 약 2.4개월 (예를 들어, 탁산/안트라사이클린 사용시) 연장된다.

[0023] 항암 활성을 나타내는 임의의 화학요법제가 본원에서 제공되는 임의의 방법, 용도 및 조성물에 따라 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 화학요법제는 알킬화제, 항대사물질, 염산 유사체, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 관련 억제제, 빈카 알칼로이드, 에피포도필로톡신, 항생제, L-아스파라지나제, 토포이소머라제 억제제, 인터페론, 백금 배위 착물, 안트라센디온 치환된 우레아, 메틸 히드라진 유도체, 부신피질 저해제, 아드레노코르티코스테로이드, 프로그스테인, 에스트로겐, 항에스트로겐, 안드로겐, 항안드로겐 및 고나도트로핀-방출 호르몬 유사체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 화학요법제는 예를 들어 카페시타빈, 탁산, 안트라사이클린, 파클리탁셀, 도세탁셀, 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®]), 독소루비신, 에피루비신, 5-플루오로우라실, 시클로포스파미드 또는 이것들의 조합물이다. 2종 이상의 화학요법제가 사용되어 (예를 들어, 각테일로 사용됨) 항-VEGF 항체의 투여와 조합하여 투여될 수 있다.

[0024] 본 발명에 따라 본원에서 제공되는 임의의 방법, 용도 및 조성물의 임상적 이점은 예를 들어 무진행 생존 (PFS)의 기간, 치료 실패까지의 시간, 객관적 반응을 및 반응 기간으로 결정될 수 있다.

[0025] 따라서, 본 발명은 대상체의 무진행 생존을 증가시키거나 대상체의 암 재발 위험을 감소시키거나 대상체의 생존 가능성을 증가시키기 위해서 항-VEGF 항체를 사용한 처치법을 수행하기 위한 지침을 제공함으로써 암, 예를 들어 유방암을 갖는 인간 대상체에게 지시하는 방법을 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 1종 이상의 화학요법제를 사용한 처치법을 수행하기 위한 지침을 제공하는 것을 추가로 포함한다. 항-VEGF 항체 처치는 화학요법제 처치와 동시에 이루어질 수도 있고 그와 순차적으로 이루어질 수도 있다. 특정 실시양태에서, 상기 대상체는 상기 지시 방법으로 지시되는 바에 따라 처치된다.

[0026] 본 발명은 또한 인간 대상체의 암, 예를 들어 유방암 치료를 위한 항-VEGF 항체의 투여를 홍보하는 것을 포함하는 홍보 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 1종 이상의 화학요법제의 투여를 홍보하는 것을 추가로 포함한다. 항-VEGF 항체의 투여는 화학요법제 투여와 동시에 이루어질 수도 있고 그와 순차적으로 이루어질 수도 있다. 홍보는 임의의 이용가능한 수단으로 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 홍보는 항-VEGF 항체의 시판 제제를 수반하는 포장 삽입물에 의한다. 홍보는 또한 화학요법제의 시판 제제를 수반하는 포장 삽입물에 의해 이루어질 수도 있다. 홍보는 의사 또는 건강 관리자에게 서면 또는 구두 커뮤니케이션으로 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 홍보는 항-VEGF 항체를 사용한 요법을 실시하는 지침을 제공하는 포장 삽입물에 의해 이루어진다. 일부 실시양태에서, 홍보 후에 대상체에게 화학요법제와 함께 또는 화학요법에 없이 항-VEGF 항체를 처치한다.

[0027] 본 발명은 인간 대상체의 암, 예를 들어 유방암을 치료하여 무진행 생존이 증가되거나 대상체의 암 재발 가능성이 감소되거나 대상체의 생존 가능성이 증가되도록 하는 항-VEGF 항체를 마케팅하는 것을 포함하는 영업 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 항-VEGF 항체와 조합하여 사용될 화학요법제를 마케팅하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 마케팅 후에 대상체에게 화학요법제와 함께 또는 화학요법에 없이 항-VEGF 항체를 처치한다.

[0028] 또한, 인간 대상체의 암, 예를 들어 유방암을 치료하여 무진행 생존이 증가되거나 대상체의 암 재발 가능성이

감소되거나 대상체의 생존 가능성이 증가되도록 하는 항-VEGF 항체와 조합된 화학요법제를 마케팅하는 것을 포함하는 영업 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 마케팅 후에 대상체에게 화학요법제 및 항-VEGF 항체의 조합물을 처치한다.

[0029] 본원에서 제공되는 임의의 방법, 용도 및 조성물에서, 항-VEGF 항체는 본원에 기재된 바와 같은 VEGF 특이적 길항제, 예를 들어 VEGF 수용체 분자 또는 키메라 VEGF 수용체 분자로 대체될 수 있다. 본원에서 제공되는 방법, 용도 및 조성물의 특정 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 베바시주맙이다. 항-VEGF 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 모노클로날 항체, 키메라 항체, 완전 인간 항체 또는 인간화 항체일 수 있다. 본 발명의 방법에 유용한 예시적인 항체는 베바시주맙 (아바스틴[®]), G6 항체, B20 항체, 및 이것들의 단편을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-VEGF 항체는

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW

INTYTGPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP

[0030] HYYGSSHWFYF DVWQGGLVT VSS (서열 1) 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및

DIQMTQSPSS LSASVGRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKPKAPKVLIIYF

TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ

[0031] GTKVEIKR (서열 2) 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 갖는다.

[0032] 항체 또는 그의 항원 결합 단편은 Fc 부분, F(ab')₂, Fab 또는 Fv 구조가 결합된 항체일 수도 있다.

[0033] 본원에서 제공되는 방법, 용도 및 조성물의 한 실시양태에서, 처치물은 VEGF-특이적 길항제, 예를 들어 항-VEGF 항체, 및 1종 이상의 화학요법제의 조합물이다. 본원에서 제공되는 방법, 용도 및 조성물의 다른 실시양태에서, VEGF-특이적 길항제는 단일요법제이다.

[0034] 본원에서 제공되는 임의의 방법, 용도 및 조성물 각각은 암종, 림프종, 아세포종, 육종 및 백혈병을 포함하지만 이에 제한되지 않는 암의 치료와 관련하여 실시될 수 있다. 이러한 암의 보다 특별한 예는 유방암, 편평 세포암, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평 상피암, 복막암, 간세포암, 위장암, 췌장암, 교아세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간종양, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 신장암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 위암, 흑색종, 및 다양한 유형의 두경부암을 포함한다. 본 발명의 방법의 일부 실시양태에서, 대상체는 전이성 유방암을 갖는다. 본원에서 제공되는 방법, 용도 및 조성물의 일부 실시양태에서, 대상체는 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암을 갖는다. 일부 실시양태에서, 대상체는 HER2-음성 전이성 유방암을 갖는다.

[0035] 상기 측면 각각은 암의 재발에 대해 대상체를 모니터링하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 모니터링은 예를 들어 무진행 생존 (PFS) 또는 전체 생존 (OS) 또는 객관적 반응률 (ORR)을 평가하여 달성될 수 있다. 한 실시양태에서, PFS 또는 OS 또는 ORR은 처치 개시 후에 평가된다.

[0036] 질환의 유형 및 중증도에 따라, 항-VEGF 항체, 예를 들어 베바시주맙의 바람직한 투여량은 본원에 기재되어 있고, 약 1 µg/kg 내지 약 50 mg/kg, 가장 바람직하게는 약 5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 범위, 예를 들어 (이에 제한되지 않음) 5 mg/kg, 7.5 mg/kg, 10 mg/kg 또는 15 mg/kg일 수 있다. 투여 빈도는 질환의 유형 및 중증도에 따라 달라질 것이다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우, 상태에 따라서 본원에 기재되거나 당업계에 공지된 방법으로 측정하여 암이 치료될 때까지 또는 원하는 치료 효과가 달성될 때까지 처치가 지속된다. 한 예에서, 항-VEGF 항체는 약 5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 용량 범위로, 예를 들어 (이에 제한되지 않음) 5 mg/kg, 7.5 mg/kg, 10 mg/kg 또는 15 mg/kg으로 매주, 2주마다, 또는 3주마다 1회 투여된다. 그러나, 다른 투약법이 유용할 수 있다. 본 발명의 요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정에 의해 쉽게 모니터링된다.

[0037] 상기 측면 각각의 추가의 실시양태에서, VEGF-특이적 길항제, 예를 들어 항-VEGF 항체는 국소 또는 전신 (예를 들어, 경구 또는 정맥내) 투여된다. 다른 실시양태에서, 임상가가 평가하거나 본원에 기재된 바와 같이, 처치의 한 측면은 VEGF-특이적 길항제를 단일요법으로서 사용하거나, 또는 예를 들어 연장된 처치 기간 또는 유지요법에서 VEGF-특이적 길항제 처치 기간 동안의 단일요법으로서 사용한다.

[0038] 본원에서 제공되는 방법, 용도 및 조성물의 다른 실시양태에서, VEGF-특이적 길항제를 사용한 치료, 용도 또는 조성물은 추가의 항암 요법, 예를 들어 (이에 제한되지 않음) 수술, 방사선 요법, 화학요법, 분화 요법, 생물요법, 면역 요법, 혈관신생 억제제, 세포독성제 및/또는 항증식 화합물과 조합된다. VEGF-특이적 길항제를 사용한 치료, 용도 및 조성물은 또한 상기 유형의 치료 처방의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 화학요법제 및 VEGF-특이적 길항제는 공동으로 투여된다.

[0039] 추가의 항암 요법을 포함하는 본원에서 제공되는 방법, 용도 및 조성물의 실시양태에서, 대상체는 VEGF-특이적 길항제의 투여 이전, 투여 동안 (예를 들어, 동시에) 또는 투여 이후에 추가의 항암 요법으로 추가로 처치될 수 있다. 한 실시양태에서, 단독으로 또는 항암 요법과 함께 투여되는 VEGF-특이적 길항제는 유지 요법으로서 투여될 수 있다.

[0040] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기하는 상세한 설명, 도면 및 특허청구범위로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0041] 도 1은 베바시주맵 (BV) 또는 위약 (PL)을 다양한 화학요법제와 함께 사용하는, 전이성 유방암 실험을 위한 연구 디자인을 도시한다.

도 2는 카페시타빈 실험군의 무진행 생존 (PFS) 곡선을 도시한다. INV (조사자)는 조사자가 평가한 PFS이고, IRC는 독립적인 검토 위원회 (IRC)가 평가한 PFS이며, 여기서 위약은 PL이고 베바시주맵은 BV이다.

도 3은 탁산/안트라사이클린 실험군의 PFS 곡선을 도시한다. INV는 조사자가 평가한 PFS이고, IRC는 독립적인 검토 위원회 (IRC)가 평가한 PFS이며, 여기서 위약은 PL이고 베바시주맵은 BV이다.

도 4는 카페시타빈 및 탁산/안트라사이클린 실험군에서 PFS의 하위군 분석을 도시한다.

도 5는 카페시타빈 (Cape) 및 탁산/안트라사이클린 (T/Anthra) 군의 객관적 반응률을 도시한다.

도 6은 탁산/안트라사이클린 (T/Anthra) 코호트에 대한 PFS의 하위군 분석을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] **상세한 설명**

[0043] **I. 정의**

[0044] 용어 "VEGF" 또는 "VEGF-A"는 예를 들어 문헌 [Leung et al., Science, 246:1306 (1989)] 및 [Houck et al., Mol. Endocrin., 5:1806 (1991)]에 기재된 바와 같이 165-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자 및 관련 121-, 145-, 189- 및 206-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자 및 이것들의 천연 발생 대립유전자 및 프로 세싱된 형태를 지칭하는데 사용된다. VEGF-A는 VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F 및 PlGF를 포함하는 유전자 부류의 일부이다. VEGF-A는 주로 2종의 고친화도 수용체 티로신 키나제인 VEGFR-1 (Flt-1) 및 VEGFR-2 (Flk-1/KDR)에 결합하는데, 후자의 것은 VEGF-A의 혈관 내피 세포 유사분열촉진 신호의 주요 전달자이다. 추가로, 뉴로핀틴-1이 헤파린 결합 VEGF-A 이소형에 대한 수용체로서 확인되었고, 이는 혈관 발생시에 소정의 역할을 할 수 있다. 용어 "VEGF" 또는 "VEGF-A"는 또한 비-인간 종, 예컨대 마우스, 래트 또는 영장류로부터의 VEGF를 지칭한다. 때때로, 특정 종으로부터의 VEGF는 인간 VEGF의 경우에는 hVEGF, 무린(murine) VEGF의 경우에는 mVEGF와 같은 용어로 표시된다. 전형적으로, VEGF는 인간 VEGF를 지칭한다. 용어 "VEGF"는 또한 165-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자의 아미노산 8 내지 109 또는 아미노산 1 내지 109를 포함하는 폴리펩티 드의 말단절단 형태 또는 단편을 지칭하는데 사용된다. VEGF의 임의의 이러한 형태들에 대한 언급은 본원에서 예를 들어 "VEGF (8-109)", "VEGF (1-109)" 또는 "VEGF165"로 표시될 수 있다. "말단절단형" 천연 VEGF에 대한 아미노산 위치는 천연 VEGF 서열에 표시된 바와 같이 번호매김된다. 예를 들어, 말단절단형 천연 VEGF에서의 아미노산 위치 17 (메티오닌)은 또한 천연 VEGF에서의 위치 17 (메티오닌)이다. 말단절단형 천연 VEGF는 KDR 및 Flt-1 수용체에 대해 천연 VEGF와 유사한 결합 친화도를 갖는다.

[0045] "항-VEGF 항체"는 VEGF에 충분한 친화도 및 특이성으로 결합하는 항체이다. 선택된 항체는 일반적으로 VEGF에 대해 결합 친화도를 가질 것이고, 예를 들어 상기 항체는 100 nM 내지 1 pM의 Kd 값으로 hVEGF에 결합할 수 있다. 항체 친화도는, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명 기체의 검정 (예를 들어, PCT 출원 공개 번호 WO 2005/012359에 기재된 바와 같은 BIAcore 검정), 효소-결합 면역흡착 검정 (ELISA) 및 경쟁 검정 (예를 들어, RIA)으로 결정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 항-VEGF 항체는 VEGF 활성이 관여하는 질환 또는 상

태를 표적화하고 이를 간섭하는데 있어서의 치료제로서 사용될 수 있다. 또한, 상기 항체를 대상으로 하여 기타 생물학적 활성 검정을 수행하여, 예를 들어 그의 치료제로서의 효과를 평가할 수 있다. 이러한 검정은 당업계에 공지되어 있고, 표적 항원 및 항체의 의도된 용도에 따라 달라진다. 이것의 예는 HUVEC 억제 검정, 종양 세포 성장 억제 검정 (예를 들어, WO 89/06692에 기재된 바와 같음), 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC) 및 보체-매개 세포독성 (CDC) 검정 (미국 특허 5,500,362), 및 효능제 활성 또는 조절 검정 (WO 95/27062 참조)을 포함한다. 항-VEGF 항체는 통상적으로 다른 VEGF 상동체, 예컨대 VEGF-B 또는 VEGF-C에도 결합하지 않을 것이고, 다른 성장 인자, 예컨대 PlGF, PDGF 또는 bFGF에도 결합하지 않을 것이다.

[0046] "VEGF 길항제"는 1종 이상의 VEGF 수용체에 대한 결합을 포함하는 VEGF 활성을 중화하거나 차단하거나 억제하거나 없애거나 감소시키거나 간섭할 수 있는 분자를 지칭한다. VEGF 길항제는 항-VEGF 항체 및 그의 항원 결합 단편, VEGF에 특이적으로 결합함으로써 1종 이상의 수용체에 대한 그의 결합을 방해시키는 수용체 분자 및 유도체, 항-VEGF 수용체 항체 및 VEGF 수용체 길항제, 예컨대 VEGFR 티로신 키나제의 소분자 억제제를 포함한다.

[0047] "천연 서열" 폴리펩티드는 자연계로부터 유래된 폴리펩티드와 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 따라서, 천연 서열 폴리펩티드는 임의의 포유동물로부터의 천연 발생 폴리펩티드의 아미노산 서열을 가질 수 있다. 이러한 천연 서열 폴리펩티드는 자연계로부터 단리될 수도 있고, 또는 재조합 또는 합성 수단에 의해 생성될 수도 있다. 구체적으로, 용어 "천연 서열" 폴리펩티드는 폴리펩티드의 천연 발생 말단절단형 또는 분비된 형태 (예를 들어, 세포외 도메인 서열), 폴리펩티드의 천연 발생 변이체 형태 (예를 들어, 달리 스플라이싱된 형태) 및 천연 발생 대립유전자 변이체를 포함한다.

[0048] 폴리펩티드 "변이체"는 천연 서열 폴리펩티드와 적어도 약 80%의 아미노산 서열 동일성을 갖는 생물학적 활성 폴리펩티드를 의미한다. 이러한 변이체는 예를 들어 1개 이상의 아미노산 잔기가 폴리펩티드의 N- 또는 C-말단에서 부가 또는 결실된 폴리펩티드를 포함한다. 통상적으로, 변이체는 천연 서열 폴리펩티드와 적어도 약 80%의 아미노산 서열 동일성, 더욱 바람직하게는 적어도 약 90%의 아미노산 서열 동일성, 훨씬 더욱 바람직하게는 적어도 약 95%의 아미노산 서열 동일성을 가질 것이다.

[0049] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되고, 모노클로날 항체 (예를 들어, 전장 또는 무손상 모노클로날 항체), 폴리클로날 항체, 다가 항체, 다중특이적 항체 (예를 들어, 이중특이적 항체), 및 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한은 항체 단편 (하기 참조)을 포함한다.

[0050] 본 명세서 및 특허청구범위에 걸쳐서, 이뮤노글로불린 중쇄 내의 잔기에 관한 번호매김은 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)] (본원에 명백하게 참고로 포함됨)에서와 같은 EU 지수의 번호매김이다. "카바트(Kabat)에서와 같은 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 번호매김을 지칭한다.

[0051] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 "Kd" 또는 "Kd 값"은 하기 검정에서 기재되는 바와 같이 항체의 Fab 버전 및 VEGF 분자를 사용하여 수행되는 방사선표지된 VEGF 결합 검정 (RIA)으로 측정되고, 여기서 VEGF에 대한 Fab의 용액 결합 친화도를 미표지 VEGF의 일련의 적정물의 존재하에 최소 농도의 (¹²⁵I)-표지된 VEGF(109)로 Fab를 평형화시킨 후에 결합된 VEGF를 항-Fab 항체-코팅된 플레이트로 포획하여 측정한다 ([Chen, et al. (1999) J. Mol Biol 293:865-881]). 한 예에서, 검정 조건을 수립하기 위해, 마이크로타이터 플레이트 (다이넥스(Dynex))를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중 5 µg/mL의 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스(Cappel Labs))로 밤새 코팅한 후에 PBS 중 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 2시간 내지 5시간 동안 실온 (대략 23°C)에서 차단한다. 비-흡착 플레이트 (넌크(Nunc) #269620)에서 100 pM 또는 26 pM [¹²⁵I]VEGF(109)를 관심 Fab, 예를 들어 Fab-12의 계열 희석물과 혼합한다 ([Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599]). 이어서, 관심 Fab를 밤새 인큐베이션 하지만, 확실히 평형에 도달하게 하기 위해서는 65시간 동안 계속 인큐베이션할 수 있다. 그 후, 혼합물을 포획 플레이트로 옮겨서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한다. 이후, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중의 0.1% 트윈(Tween)-20으로 8회 세척한다. 플레이트를 건조시키고, 150 µl/웰의 섬광제 (마이크로싯트(MicroScint)-20, 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탑카운트(Topcount) 감마 계수기 (팩커드)에서 10분 동안 계수한다. 최대 결합의 20% 이하를 제공하는 각 Fab의 농도를 선택하여 경쟁적 결합 검정에 사용한다. 또 다른 실시양태에 따르면, Kd 또는 Kd 값을 25°C에서 약 10 반응 단위 (RU)의 고정된 hVEGF (8-109) CM5 칩으로 BIAcore™-2000 또는 BIAcore™-3000 (비아코어, 인크.(BIAcore, Inc.), 미국 뉴저지주 피스카타웨이)을 사용한 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정한다. 간략하게 설명하면, 카르복시메틸화 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코어 인크.)을 공급업체의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시수신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 인간 VEGF를 10 mM 아세트산나트

를 (pH 4.8)을 사용하여 5 µg/mL (약 0.2 µM)로 희석한 후에 커플링된 단백질 대략 10 반응 단위 (RU)가 달성 되도록 5 µl/분의 유속으로 주입한다. 인간 VEGF 주입 후, 1 M 에탄올아민을 주입하여 미반응 기를 차단한다. 역학 측정을 위해, Fab의 2배 계열 희석물 (0.78 nM 내지 500 nM)을 대략 25 µl/분의 유속으로 25°C에서 0.05% 트윈 20을 함유하는 PBS (PBST) 중에서 주입한다. 결합 속도 (k_{on}) 및 해리 속도 (k_{off})는 결합 및 해리 센서그램을 동시 피팅함으로써 단순 1:1 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델 (BIAcore 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 사용하여 계산한다. 평형 해리 상수 (Kd)는 k_{off}/k_{on} 의 비율로 계산한다. 예를 들어, 문헌 [Chen, Y., et al. (1999) J. Mol Biol 293:865-881]을 참조한다. 상기 표면 플라즈몬 공명 검정에 의한 결합속도(on-rate)가 $10^6 M^{-1} S^{-1}$ 를 초과하는 경우, 결합속도는 분광계, 예를 들어 정지 유동 설치 분광광도계 (아비브 인스트루먼트(Aviv Instruments)) 또는 8000-시리즈 SLM-아민코(Aminco) 분광광도계 (써모스펙트로닉(ThermoSpectronic)) (교반 큐벳이 장착됨)에서 측정할 때 증가하는 농도의 인간 VEGF 단쇄 형태 (8-109) 또는 마우스 VEGF의 존재하에 PBS (pH 7.2) 중 20 nM 항-VEGF 항체 (Fab 형태)의 25°C에서의 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm, 방출 = 340 nm, 16 nm 통과 대역)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 켄칭(quenching) 기술을 이용하여 결정할 수 있다.

[0052] "차단" 항체 또는 항체 "길항제"는 이것과 결합하는 항원의 생물학적 활성을 억제 또는 저하시키는 것이다. 예를 들어, VEGF-특이적 길항제 항체는 VEGF와 결합하여 혈관신생을 유도하거나 혈관 내피 세포 증식을 유도하거나 혈관 투과성을 유도하는 VEGF의 능력을 억제한다. 특정 실시양태에서, 차단 항체 또는 길항제 항체는 항원의 생물학적 활성을 완전히 억제한다.

[0053] 달리 나타내지 않는다면, 표현 "다가 항체"는 본 명세서 전반에 걸쳐 3개 이상의 항원 결합 부위를 포함하는 항체를 나타내는데 사용된다. 예를 들어, 다가 항체는 3개 이상의 항원 결합 부위를 갖도록 조작되고, 일반적으로 천연 서열 IgM 또는 IgA 항체가 아니다.

[0054] "항체 단편"은 일반적으로 무손상 항체의 항원 결합 부위를 포함하여 항원과의 결합 능력을 보유하는, 무손상 항체의 일부만을 포함한다. 이러한 정의에 포함되는 항체 단편의 예는 다음을 포함한다: (i) VL, CL, VH 및 CH1 도메인을 갖는 Fab 단편, (ii) CH1 도메인의 C-말단에 1개 이상의 시스테인 잔기를 갖는 Fab 단편인 Fab' 단편, (iii) VH 및 CH1 도메인을 갖는 Fd 단편, (iv) VH 및 CH1 도메인을 갖고 CH1 도메인의 C-말단에 1개 이상의 시스테인 잔기를 갖는 Fd' 단편, (v) 항체의 단일 아암(arm)의 VL 및 VH 도메인을 갖는 Fv 단편, (vi) VH 도메인으로 이루어지는 dAb 단편 ([Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989)]), (vii) 단리된 CDR 영역, (viii) 힌지 영역에서 디설피드 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab' 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab')₂ 단편, (ix) 단일 쇄 항체 분자 (예를 들어, 단일 쇄 Fv; scFv) ([Bird et al., Science 242:423-426 (1988)] 및 [Huston et al., PNAS (USA) 85:5879-5883 (1988)]), (x) 동일 폴리펩티드 쇄로 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는, 2개의 항원 결합 부위를 갖는 "디아바디(diabody)" (예를 들어, EP 404,097, WO 93/11161 및 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)] 참조), (xi) 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 항원 결합 영역의 쌍을 형성하는 병렬식 Fd 절편 (VH-CH1-VH-CH1)의 쌍을 포함하는 "선형 항체" ([Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995)] 및 미국 특허 번호 5,641,870).

[0055] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하고, 즉, 이러한 집단을 구성하는 개개의 항체는 미량으로 존재할 수 있는 가능한 천연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 고도로 특이적이고, 단일 항원에 대하여 지시된다. 추가로, 전형적으로 상이한 결정자 (에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와는 달리, 각각의 모노클로날 항체는 항원상의 단일 결정자에 대한 것이다. 수식어구 "모노클로날"은 임의의 특정한 방법을 통한 항체 생성이 필요하다는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용될 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al., Nature 256:495 (1975)]에 최초로 기재되었던 하이브리도마 방법으로 제조될 수도 있고, 또는 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조)으로 제조될 수도 있다. "모노클로날 항체"는 또한 예를 들어 문헌 [Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991)] 또는 [Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)]에 기재된 기술을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리할 수 있다.

[0056] "Fv" 단편은 완전한 항원 인식 및 결합 부위를 함유하는 항체 단편이다. 이러한 영역은 1개의 중쇄 가변 도메인 및 1개의 경쇄 가변 도메인이 단단하게 연결된 이량체로 이루어지며, 이러한 연결은 예를 들어 scFv에서 성질상 공유 결합일 수 있다. 이러한 형태에서, 각 가변 도메인의 3개의 CDR이 상호작용하여 VH-VL 이량체 표면의 항원 결합 부위를 규정한다. 전체적으로, 6개의 CDR 또는 이것의 하위세트가 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 1개의 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 3개의 CDR만을 포함하는 Fv의 절반)일지라도 일반

적으로 전체 결합 부위보다 친화도가 낮긴 하지만 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.

- [0057] 본원에서 사용된 바와 같이, "항체 가변 도메인"은 상보성 결정 영역 (CDR - 즉, CDR1, CDR2 및 CDR3) 및 프레임워크 영역 (FR)의 아미노산 서열을 포함하는 항체 분자의 경쇄 및 중쇄의 일부를 지칭한다. VH는 중쇄의 가변 도메인을 지칭한다. VL은 경쇄의 가변 도메인을 지칭한다. 본 발명에서 사용되는 방법에 따라, CDR 및 FR에 대해 지정된 아미노산 위치는 카바트 ([Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 및 1991)])에 따라 규정될 수 있다. 항체 또는 항원 결합 단편의 아미노산 번호매김 역시 카바트에 따른다.
- [0058] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "상보성 결정 영역" (CDR - 즉, CDR1, CDR2 및 CDR3)은 항원 결합에 필요한 항체 가변 도메인의 아미노산 잔기를 지칭한다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 CDR1, CDR2 및 CDR3으로 확인되는 3개의 CDR 영역을 갖는다. 각각의 상보성 결정 영역은 카바트에 의해 규정된 바와 같은 "상보성 결정 영역"의 아미노산 잔기 (즉, 경쇄 가변 도메인 내의 대략 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3), 및 중쇄 가변 도메인 내의 대략 잔기 31-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3); [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]) 및/또는 "초가변 루프"의 아미노산 잔기 (즉, 경쇄 가변 도메인 내의 대략 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2) 및 91-96 (L3), 및 중쇄 가변 도메인 내의 대략 잔기 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3); [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)])를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 상보성 결정 영역은 카바트에 따라 규정된 CDR 영역 및 초가변 루프 둘다로부터의 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체 4D5의 중쇄의 CDRH1은 아미노산 26 내지 35를 포함한다.
- [0059] "프레임워크 영역" (이하, FR)은 CDR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 FR1, FR2, FR3 및 FR4로 확인되는 4개의 FR을 갖는다. CDR이 카바트에 따라 정의되는 경우, 경쇄 FR 잔기는 대략 잔기 1-23 (LCFR1), 35-49 (LCFR2), 57-88 (LCFR3) 및 98-107 (LCFR4)에 위치하고, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기에서 대략 잔기 1-30 (HCFR1), 36-49 (HCFR2), 66-94 (HCFR3) 및 103-113 (HCFR4)에 위치한다. CDR이 초가변 루프의 아미노산 잔기를 포함하는 경우, 경쇄 FR 잔기는 경쇄에서 대략 잔기 1-25 (LCFR1), 33-49 (LCFR2), 53-90 (LCFR3) 및 97-107 (LCFR4)에 위치하고, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기에서 대략 잔기 1-25 (HCFR1), 33-52 (HCFR2), 56-95 (HCFR3) 및 102-113 (HCFR4)에 위치한다. 일부 경우에, CDR이 카바트에 의해 정의된 바와 같은 CDR의 아미노산과 초가변 루프의 아미노산 둘다를 포함하는 경우에는 FR 잔기가 그에 따라 조정될 것이다. 예를 들어, CDRH1이 아미노산 H26-H35를 포함하는 경우, 중쇄 FR1 잔기는 위치 1 내지 25에 존재하고 FR2 잔기는 위치 36 내지 49에 존재한다.
- [0060] "Fab" 단편은 경쇄의 가변 및 불변 도메인 및 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. F(ab')₂ 항체 단편은 한 쌍의 Fab 단편 사이에서 이것들의 카르복시 말단 근처에서 힌지 시스테인에 의해 일반적으로 공유 연결된 한 쌍의 Fab 단편을 포함한다. 항체 단편의 기타 화학적 커플링 또한 당업계에 공지되어 있다.
- [0061] "단일 쇠 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 쇠 내에 존재하는, 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 일반적으로, Fv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있도록 하는, VH 및 VL 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 추가로 포함한다. scFv의 검토를 위해서는 문헌 [Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다.
- [0062] 용어 "디아바디"는 동일 폴리펩티드 쇠 (VH 및 VL)로 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함하는, 2개의 항원 결합 부위를 갖는 작은 항체 단편을 지칭한다. 동일 쇠 상의 2개의 도메인 사이의 쌍 형성을 허용하기에는 지나치게 짧은 링커를 사용함으로써, 상기 도메인은 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍을 형성하게 되어 2개의 항원 결합 부위를 생성하게 된다. 디아바디는 예를 들어 EP 404,097, WO 93/11161 및 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)]에 더욱 상세하게 기재되어 있다.
- [0063] 표현 "선형 항체"는 문헌 [Zapata et al., Protein Eng., 8(10):1057-1062 (1995)]에 기재된 항체를 지칭한다. 간략하게 설명하면, 이들 항체는 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 항원 결합 영역의 쌍을 형성하는 병렬식 Fd 절편의 쌍 (VH-CH1-VH-CH1)을 포함한다. 선형 항체는 이중특이적 또는 단일특이적일 수 있다.
- [0064] 구체적으로, 본원에서의 모노클로날 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이고, 쇠 (들)의 나머지 부분은 또

다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체 (이뮤노글로불린), 및 또한 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한은 이러한 항체의 단편을 포함한다 (미국 특허 번호 4,816,567 및 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)]).

[0065] "인간화" 형태의 비-인간 (예를 들어, 무인) 항체는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분의 경우, 인간화 항체는 수용자의 초가변 영역의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 능력을 보유하는 마우스, 래트, 토끼 또는 비-인간 영장류와 같은 비-인간 종 (공여 항체)의 초가변 영역의 잔기로 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기를 상응하는 비-인간 잔기로 대체한다. 추가로, 인간화 항체는 수용 항체 또는 공여 항체에서는 발견되지 않는 잔기를 포함할 수도 있다. 이러한 변형은 항체 성능이 추가로 증진되도록 이루어질 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 1개 이상, 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 또한, 인간화 항체는 임의로 이뮤노글로불린 불변 영역 (Fc) 중 적어도 일부, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 추가의 세부사항에 대하여는 문헌 [Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)], [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)] 및 [Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)]을 참조한다.

[0066] "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 갖고/갖거나 본원에 개시된 바와 같은 인간 항체 제조 기술 중 임의의 것을 이용하여 제조된 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비-인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 명확하게 제외한다. 인간 항체는 당업계에서 공지된 다양한 기술을 이용하여 제조될 수 있다. 한 실시양태에서, 인간 항체는 인간 항체를 발현하는 파지 라이브러리로부터 선별된다 ([Vaughan et al., Nature Biotechnology 14:309-314 (1996)], [Sheets et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 95:6157-6162 (1998)], [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)], [Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991)]). 인간 항체는 인간 이뮤노글로불린 유전자좌를 내인성 이뮤노글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 불활성화된 트랜스제닉 동물, 예를 들어 마우스에 도입시켜 제조될 수도 있다. 시험접종시에, 인간 항체 생성이 관찰되고, 이것은 유전자 재배열, 조립 및 항체 레퍼토리를 비롯한 모든 면에서 인간에서 관찰되는 것과 매우 유사하다. 이러한 접근법은 예를 들어 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016 및 하기 학술 간행물에 기재되어 있다: [Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)], [Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994)], [Morrison, Nature 368:812-13 (1994)], [Fishwild et al., Nature Biotechnology 14: 845-51 (1996)], [Neuberger, Nature Biotechnology 14: 826 (1996)], [Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995)]. 대안적으로, 인간 항체는 표적 항원에 대해 지시된 항체를 생성하는 인간 B 림프구를 불멸화시킴으로써 제조될 수 있다 (이러한 B 림프구는 개체로부터 회수될 수도 있고, 또는 시험관내 면역화되었을 수도 있음). 예를 들어, 문헌 [Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)], [Boerner et al., J. Immunol., 147 (1):86-95 (1991)] 및 미국 특허 번호 5,750,373을 참조한다.

[0067] "친화도 성숙" 항체는 변경(들)을 갖지 않는 모 항체에 비해 항원에 대한 항체의 친화도를 개선시키는, 1개 이상의 CDR에 1개 이상의 변경을 갖는 항체이다. 바람직한 친화도 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어는 피코몰의 친화도를 가질 것이다. 친화도 성숙 항체는 당업계에 공지된 절차에 의해 제조된다. 문헌 [Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)]은 VH 및 VL 도메인 셔플링(shuffling)에 의한 친화도 성숙을 기재한다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 문헌 [Barbas et al., Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813 (1994)], [Schier et al., Gene 169:147-155 (1995)], [Yelton et al., J. Immunol. 155:1994-2004 (1995)], [Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995)] 및 [Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)]에 기재되어 있다.

[0068] 항체의 "기능적 항원 결합 부위"는 표적 항원과 결합할 수 있는 부위이다. 항원 결합 부위의 항원 결합 친화도는 항원 결합 부위가 유래된 모 항체만큼 강력할 필요는 없지만, 항원에 결합하는 능력은 항원에 대한 항체 결합을 평가하는 것과 관련하여 공지된 다양한 방법 중 임의의 하나로 측정가능해야 한다. 추가로, 본원에서의 다량 항체의 항원 결합 부위 각각의 항원 결합 친화도가 정량적으로 동일할 필요는 없다. 본원에서의 다량체 항체의 경우, 기능적 항원 결합 부위의 수는 미국 특허 출원 공개 번호 20050186208의 실시예 2에 기재된 바와 같은 초원심분리 분석을 이용하여 평가할 수 있다. 이러한 분석 방법에 따라, 다량체 항체에 대한 표적 항원의 상이한 비율을 조합하고, 기능적 결합 부위의 상이한 수를 추정하여 복합체의 평균 분자량을 계산한다. 이러한

이론적 값을 수득된 실제 실험 값과 비교하여 기능적 결합 부위의 수를 평가한다.

- [0069] 지정된 항체의 "생물학적 특징"을 갖는 항체는 이러한 항체를 동일 항원에 결합하는 다른 항체와 구별시켜 주는, 항체의 하나 이상의 생물학적 특징을 보유하는 항체이다.
- [0070] 관심 항체가 결합하는 항원상의 에피토프에 결합하는 항체를 스크리닝하기 위해, 통상의 교차-차단 검정, 예컨대 문헌 [Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)]에 기재된 검정을 수행할 수 있다.
- [0071] "중-의존적 항체"는 제1 포유동물 종으로부터의 항원에 대한 결합 친화도가 제2 포유동물 종으로부터의 상기 항원의 상동체에 대한 결합 친화도보다 더 강력한 항체이다. 통상적으로, 중-의존적 항체는 인간 항원에 "특이적으로 결합" (즉, 결합 친화도 (Kd) 값이 약 1×10^{-7} M 이하, 바람직하게는 약 1×10^{-8} M 이하, 가장 바람직하게는 약 1×10^{-9} M 이하)하지만, 제2의 비-인간 포유동물 종으로부터의 상기 항원의 상동체에 대한 결합 친화도는 인간 항원에 대한 결합 친화도보다 적어도 약 50배 또는 적어도 약 500배 또는 적어도 약 1,000배 더 약하다. 중-의존적 항체는 상기 정의된 바와 같은 임의의 다양한 유형의 항체일 수 있으나, 전형적으로는 인간화 또는 인간 항체이다.
- [0072] 본원에서 사용된 바와 같이, "항체 돌연변이체" 또는 "항체 변이체"는 중-의존적 항체의 1개 이상의 아미노산 잔기를 변형시킨, 중-의존적 항체의 아미노산 서열 변이체를 지칭한다. 이러한 돌연변이체는 중-의존적 항체와 반드시 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 가져야 한다. 한 실시양태에서, 항체 돌연변이체는 중-의존적 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인의 아미노산 서열과 적어도 75%, 더욱 바람직하게는 적어도 80%, 더욱 바람직하게는 적어도 85%, 더욱 바람직하게는 적어도 90%, 가장 바람직하게는 적어도 95%의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성을 갖는 아미노산 서열을 가질 것이다. 본원에서, 이러한 서열과 관련된 동일성 또는 유사성은 서열을 정렬하고 필요한 경우에는 최대 서열 동일성(%)을 달성하기 위한 갭(gap)을 도입한 후에 중-의존적 항체 잔기와 동일 (즉, 동일 잔기) 또는 유사한 (즉, 공통적인 측쇄 특성을 기초로 할 때 동일 군으로부터의 아미노산 잔기 - 하기 참조) 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율(%)로서 정의된다. 가변 도메인에 속하지 않는 항체 서열에서의 N-말단, C-말단 또는 내부 연장, 결실 또는 삽입 어느 것도 서열 동일성 또는 유사성에 영향을 미치는 것으로 해석되지 않아야 한다.
- [0073] 본 발명의 아미노산 서열을 함유하는 항체 또는 폴리펩티드의 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어 미국 특허 5,739,277에 기재된 바와 같이 샐비지(salvage) 수용체 결합 에피토프를 항체 (특히, 항체 단편)에 부착시킬 수 있다. 예를 들어, 이러한 샐비지 수용체 결합 에피토프를 코딩하는 핵산 분자를 본 발명의 폴리펩티드 서열을 코딩하는 핵산과 프레임에 맞게 연결시켜서, 조작된 핵산 분자에 의해 발현된 융합 단백질이 샐비지 수용체 결합 에피토프 및 본 발명의 폴리펩티드 서열을 포함하게 할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "샐비지 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자의 생체내 혈청 반감기 증가를 담당하는 IgG 분자 (예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄)의 Fc 영역의 에피토프를 지칭한다 (예를 들어, 문헌 [Ghetie et al., Ann. Rev. Immunol. 18:739-766 (2000)]의 표 1]). Fc 영역 내에 치환이 있고 혈청 반감기가 증가된 항체가 또한 WO 00/42072, WO 02/060919, [Shields et al., J. Biol. Chem. 276:6591-6604 (2001)], [Hinton, J. Biol. Chem. 279:6213-6216 (2004)]에도 기재되어 있다. 또 다른 실시양태에서, 혈청 반감기는 또한 예를 들어 다른 폴리펩티드 서열을 부착시켜 증가될 수도 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법에 유용한 항체 또는 기타 폴리펩티드를 FcRn 수용체에 결합하는 혈청 알부민 또는 혈청 알부민의 일부, 또는 혈청 알부민 결합 펩티드에 부착시켜서 혈청 알부민이 이러한 항체 또는 폴리펩티드와 결합되도록 할 수 있고, 예를 들어 이러한 폴리펩티드 서열은 WO 01/45746에 기재되어 있다. 한 실시양태에서, 부착될 혈청 알부민 펩티드는 아미노산 서열 DICLPRWGCLW를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, Fab의 반감기는 이들 방법에 의해 증가된다. 또한, 혈청 알부민 결합 펩티드 서열에 대해서는 문헌 [Dennis et al., J. Biol. Chem. 277:35035-35043 (2002)]을 참조한다.
- [0074] "키메라 VEGF 수용체 단백질"은, 적어도 하나가 VEGF 수용체 단백질인 2종 이상의 상이한 단백질로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 VEGF 수용체 분자이다. 특정 실시양태에서, 키메라 VEGF 수용체 단백질은 VEGF와 결합하여 그의 생물학적 활성을 억제할 수 있다.
- [0075] "단리된" 항체는 천연 환경의 성분으로부터 확인 및 분리 및/또는 회수된 항체이다. 이것의 천연 환경의 오염 성분은 항체에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비-단백질성 용질을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리(Lowry) 방법으로 측정시에 항체의 95 중량%를 초과하는 정도, 가장 바람직하게는 99 중량%를 초과하는 정도로, (2) 스피닝 컵 시퀀네이터를 사용하여

N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 15개 이상의 잔기를 얻기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 은 염색을 이용하여 환원 또는 비-환원 조건하에 SDS-PAGE에 의해 균일한 것으로 나타날 정도로 정제될 것이다. 단리된 항체는 제조합 세포 내의 계내 항체를 포함하는데, 이는 항체 천연 환경의 1종 이상의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 그러나, 통상적으로, 단리된 항체는 1회 이상의 정제 단계를 통해 제조될 것이다.

[0076] "단편"은 바람직하게는 참조 핵산 분자 또는 폴리펩티드 전체 길이의 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 이상을 함유하는 폴리펩티드 또는 핵산 분자의 일부를 의미한다. 단편은 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100, 200, 300, 400, 500, 600개 이상의 뉴클레오티드, 또는 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 190, 200개 이상의 아미노산을 함유할 수 있다.

[0077] "항혈관신생제" 또는 "혈관신생 억제제"는 혈관신생, 혈관형성, 또는 바람직하지 않은 혈관 투과성을 직접적으로 또는 간접적으로 억제하는 저분자량 물질, 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 단리된 단백질, 제조합 단백질, 항체, 또는 이것들의 접합체 또는 융합 단백질을 지칭한다. 항혈관신생제는 혈관신생 인자 또는 그의 수용체에 결합하고 이것의 혈관신생 활성을 차단하는 작용제를 포함한다는 것을 이해해야 한다. 예를 들어, 항혈관신생제는 본 명세서에서 정의된 바와 같거나 또는 당업계에 공지된 혈관신생제에 대한 항체 또는 기타 길항제, 예를 들어 (이에 제한되지 않음) VEGF-A 또는 VEGF-A 수용체 (예를 들어, KDR 수용체 또는 Flt-1 수용체)에 대한 항체, VEGF-trap, 항-PDGFR 억제제, 예컨대 글리벡(Gleevec)TM (이마티닙 메실레이트)이다. 항혈관신생제는 또한 천연 혈관신생 억제제, 예를 들어 안지오테닌, 엔도스타틴 등을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Klagsbrun and D'Amore, Annu. Rev. Physiol., 53:217-39 (1991)], [Streit and Detmar, Oncogene, 22:3172-3179 (2003)] (예를 들어, 악성 흑색종에서의 항혈관신생 요법을 기재한 표 3), [Ferrara & Alitalo, Nature Medicine 5:1359-1364 (1999)], [Tonini et al., Oncogene, 22:6549-6556 (2003)] (예를 들어, 공지의 항혈관신생 인자를 기재한 표 2) 및 [Sato. Int. J. Clin. Oncol., 8:200-206 (2003)] (예를 들어, 임상 실험에 사용된 항혈관신생제를 기재한 표 1)을 참조한다.

[0078] 본원에서의 "유지" 용량은 처치 기간에 걸쳐서 또는 처치 기간 이후에 대상체에게 투여되는 치료제의 1회 이상의 용량을 지칭한다. 통상적으로, 유지 용량은 처치 시간 간격을 두고 투여되며, 예를 들어 대략 매주, 대략 2주마다, 대략 3주마다, 또는 대략 4주마다 투여된다.

[0079] "생존"은 대상체가 살아있는 상태를 지칭하며, 무진행 생존 (PFS) 및 전체 생존 (OS)을 포함한다. 생존은 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 방법으로 추정될 수 있고, 생존에서의 임의의 차이는 층상 로그-랭크 시험을 이용하여 전산화된다.

[0080] "무진행 생존 (PFS)"은 처치 (또는 무작위화) 시점부터 최초의 질환 진행 또는 사망 시점까지의 시간을 지칭한다. 예를 들어, 대상체가 처치 개시 시점 또는 초기 진단 시점으로부터 암의 재발 없이 예를 들어 규정된 기간의 시간, 예컨대 약 1개월, 1.2개월, 2개월, 2.4개월, 2.9개월, 3개월, 3.5개월, 4개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 1년, 약 2년, 약 3년 등 동안 살아있는 시간이다. 한 실시양태에서, PFS는 약 2.9개월 내지 3.5개월 (예를 들어, 카페시타빈 사용시) 연장된다. 한 실시양태에서, PFS는 약 1.2개월 내지 약 2.4개월 (예를 들어, 탁산/안트라사이클린 사용시) 연장된다. 본 발명의 한 측면에서, PFS는 충실성 종양에서의 반응 평가 기준 (RECIST)으로 평가될 수 있다.

[0081] "전체 생존"은 대상체가 처치 개시 시점 또는 초기 진단 시점으로부터 규정된 기간의 시간, 예컨대 약 1년, 약 2년, 약 3년, 약 4년, 약 5년, 약 10년 등 동안 살아있는 상태를 지칭한다. 본 발명의 기초가 되는 연구에서, 생존 분석을 위해 사용된 사건은 임의의 원인으로 인한 사망이었다.

[0082] "생존 연장" 또는 "생존 가능성의 증가"는 미처치 대상체에 비해 (즉, VEGF-특이적 길항제, 예를 들어 VEGF 항체를 처치하지 않은 대상체에 비해) 또는 화학요법제, 예를 들어 유방암에 대한 표준 치료법에 사용되는 것들, 예컨대 카페시타빈, 탁산, 안트라사이클린, 파클리탁셀, 도세탁셀, 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®]), 독소루비신, 에피루비신, 5-플루오로우라실, 시클로포스파미드 또는 이것들의 조합물만을 처치하는 것과 같은 대조군 처치 프로토콜에 비해 처치받은 대상체에서 PFS 및/또는 OS가 증가된 것을 의미한다. 생존은 처치 개시 후 또는 초기 진단 후 적어도 약 1개월, 2개월, 4개월, 6개월, 9개월, 또는 적어도 약 1년, 또는 적어도 약 2년, 또는 적어도 약 3년, 또는 적어도 약 4년, 또는 적어도 약 5년, 또는 적어도 약 10년 등 동안 모니터링된다.

[0083] 위험 비율 (HR)은 사건 발생률에 대한 통계적 정의이다. 본 발명의 목적상, 위험 비율은 임의의 특정 시점에서 실험군에서의 사건 확률을 대조군에서의 사건 확률로 나눈 것으로 정의된다. 무진행 생존 분석에서의 "위험 비

을"은 이후의 기간 전반에 걸쳐서 대조군과 비교하여 처치시의 사망 위험의 감소를 나타내는, 2개의 무진행 생존 곡선 사이의 차이에 관한 요약이다.

- [0084] 본원에서, 용어 "공동으로"는 투여의 적어도 일부가 시간상 중첩되는, 2종 이상의 치료제의 투여를 지칭하는데 사용된다. 따라서, 공동 투여는 1종 이상의 다른 작용제(들)을 불연속적으로 투여한 후에 연속하여 1종 이상의 작용제(들)을 투여하는 경우의 투약법을 포함한다.
- [0085] "단일요법"은 처치 기간 동안 암 또는 종양을 치료하기 위해서 오직 1종의 치료제만을 포함하는 치료 처방을 의미한다. VEGF-특이적 길항제를 사용한 단일요법은 VEGF-특이적 길항제가 처치 기간 동안 추가의 항암 요법 없이 투여되는 것을 의미한다.
- [0086] "유지 요법"은 질환의 재발 또는 진행 가능성을 감소시키기 위해 제공되는 치료 처방을 의미한다. 유지 요법은 최대로는 대상체의 수명까지 연장된 기간을 포함하는 임의의 길이의 시간 동안 제공될 수 있다. 유지 요법은 초기 요법 후에 제공될 수도 있고, 또는 초기 또는 추가의 요법과 연계해서 제공될 수도 있다. 유지 요법에 사용되는 투여량은 다양할 수 있고, 다른 유형의 요법에 사용되는 투여량과 비교할 때 감소된 투여량을 포함할 수 있다. 또한, 본원에서의 "유지"를 참조한다.
- [0087] 용어 "암" 및 "암성"은 조절되지 않는 세포 성장을 전형적인 특징으로 하는 포유동물에서의 생리적 상태를 지칭하거나 기재한다. 이것의 정의에는 양성 및 악성 암 및 또한 잠복기 종양 또는 미세전이물이 포함된다. 암의 예는 암종, 림프종, 아세포종, 육종 및 백혈병을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이러한 암의 보다 특별한 예는 유방암, 편평 세포 암, 폐암 (예를 들어, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 및 폐의 편평 상피암), 복막암, 간세포암, 위암(gastric 또는 stomach cancer) (예를 들어, 위장암), 췌장암, 교아세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간종양, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암 (kidney 또는 renal cancer), 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종 및 다양한 유형의 두경부암, 및 또한 B-세포 림프종 (예를 들어, 저악성도/소포 비-호지킨 림프종 (NHL); 소형 림프구성 (SL) NHL; 중간 악성도/소포 NHL; 중간 악성도 미만성 NHL; 고 악성도 면역모구성 NHL; 고 악성도 림프모구성 NHL; 고 악성도 소 비-절단 세포 NHL; 거대 질환 NHL; 외투 세포 림프종; AIDS-관련 림프종; 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증); 만성 림프구성 백혈병 (CLL); 급성 림프모구성 백혈병 (ALL); 모발 세포 백혈병; 만성 림프모구성 백혈병; 및 이식 후 림프구성 장애 (PTLD), 및 또한 모반증과 관련이 있는 비정상적인 혈관 증식, 부종 (예를 들어, 뇌 종양과 관련이 있는 부종) 및 메이그스 증후군을 포함한다.
- [0088] "전이"는 암이 그의 원발성 부위로부터 신체 내 다른 부위로 확산되는 것을 의미한다. 암 세포는 원발성 종양으로부터 분리되어, 림프관 및 혈관 내로 침투하고, 혈류를 통하여 순환하여 신체 내 그 밖의 정상 조직의 원위 중심에서 성장 (전이)할 수 있다. 전이는 국소 또는 원위일 수 있다. 전이는 원발성 종양으로부터 분리된 종양 세포에 우발적으로 발생하고 혈류를 통해 이동하여 원위 부위에서 중단하는 순차적 과정이다. 이러한 새로운 부위에서 상기 세포는 혈류 공급을 확립시키고 성장하여 생명을 위협하는 덩어리를 형성할 수 있다. 종양 세포 내에서의 자극성 분자 경로와 억제성 분자 경로 모두가 이러한 거동을 조절하고, 종양 세포와 원위 부위의 숙주 세포 사이의 상호 작용이 또한 유의하다.
- [0089] "대상체"는 인간 또는 비-인간 포유동물, 예컨대 소, 말, 개, 양 또는 고양이를 포함하지만 이에 제한되지 않는 포유동물을 의미한다. 바람직하게는, 대상체는 인간이다. 환자 역시 본원에서의 대상체이다.
- [0090] 본 발명의 방법과 관련하여, 대상체에게 "지시하는"이라는 용어는 임의의 수단에 의하지만 바람직하게는 서면, 예컨대 포장 삽입물 또는 기타 서면 홍보물의 형태로 이루어지는, 적용가능한 요법, 약제, 치료제, 치료법 등에 관한 지침을 제공하는 것을 의미한다.
- [0091] 본 발명의 방법과 관련하여, 용어 "홍보한다"는 포장 삽입물 형태와 같은 서면을 비롯한 임의의 수단을 이용하여 특정 약물, 약물 조합물, 또는 처치법을 제공하거나 광고하거나 판매하거나 설명하는 것을 의미한다. 본원에서의 홍보는 적응증, 예컨대 유방암 치료와 관련한 치료제, 예컨대 VEGF 길항제, 예를 들어 항-VEGF 항체 또는 화학요법제에 대한 홍보를 지칭하며, 이러한 홍보는 대상체 집단 내 통계적으로 유의한 치료 효능 및 허용되는 안전성과 관련이 있는 것으로 입증되어야 식약청 (FDA)의 승인을 받게 된다.
- [0092] 본원에서, 용어 "마케팅"은 생성물 (예를 들어, 약물)의 홍보, 판매 또는 분배를 기재하는데 사용된다. 구체적으로, 마케팅은 포장, 광고, 및 생성물 영리화의 목적으로 행해지는 임의의 영업 활동을 포함한다.
- [0093] 대상체의 "집단"은 임상 실험에서와 같이, 또는 유방암 요법과 같은 특정 적응증에 대한 FDA 승인 후에 종양학자가 관찰하는 바와 같이 암을 갖는 대상체의 군을 지칭한다. 한 실시양태에서, 집단은 적어도 약 1200명의 대

상체를 포함한다.

[0094] 용어 "항암 요법"은 암 치료에 유용한 요법을 지칭한다. 항암 치료제의 예는 예를 들어 수술, 화학요법제, 성장 억제제, 세포독성제, 방사선 요법에 사용되는 작용제, 항혈관신생제, 세포자멸제, 항-튜블린제, 및 암 치료를 위한 기타 작용제, 예컨대 항-HER-2 항체 (예를 들어, 헤르셉틴[®]), 항-CD20 항체, 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[™] (이마티닙 메실레이트)), COX-2 억제제 (예를 들어, 셀레콕싹), 인터페론, 시토키인, ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-베타, BlyS, APRIL, BCMA 또는 VEGF 수용체(들) 표적 중 1종 이상과 결합하는 길항제 (예를 들어, 중화 항체), TRAIL/Apo2, 및 기타 생물활성 및 유기 화학제 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이것들의 조합물 역시 본 발명에 포함된다.

[0095] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제 또는 저해하고/하거나 세포의 파괴를 야기하는 물질을 지칭한다. 상기 용어는 방사성 동위원소 (예를 들어, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³², 및 Lu의 방사성 동위원소), 화학요법제, 및 독소, 예컨대 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소, 예를 들어 그의 단편 및/또는 변이체를 포함한다.

[0096] "화학요법제"는 암 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학요법제의 예는 암 치료에 유용한 화학적 화합물을 포함한다. 화학요법제의 예는 다음을 포함한다: 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 시톡산(CYTOXAN)[®] 시클로스포스파미드; 알킬 술포네이트, 예컨대 부솔판, 임프로솔판 및 피포솔판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메트우레도파 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민, 예를 들어 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리에틸올로멜라민; 아세토게닌 (특히, 불라타신 및 불라타시논); 캄프토테신 (예를 들어, 합성 유사체 토포테칸); 브리오스타틴; 칼리스트아틴; CC-1065 (예를 들어, 그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체); 크립토파이신 (특히, 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 둘라스타틴; 듀오카르마이신 (예를 들어, 합성 유사체인 KW-2189 및 CB1-TM1); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코디타인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노베티친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라니무스틴; 항생제, 예컨대 에네디인 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 특히 갈리케아미신 감마II 및 갈리케아미신 오메가I1 (예를 들어, 문헌 [Agnew, Chem Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); 다이네미신, 예를 들어 다이네미신 A; 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트; 에스페라미신; 및 또한 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색단백질 에네디인 항생제 발색단, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 아드리아마이신(ADRIAMYCIN)[®] 독소루비신 (예를 들어, 모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 펠프로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물질, 예컨대 메토타렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 엽산 유사체, 예컨대 데노프테린, 메토타렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피리딘, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자유리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시유리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록시유리딘; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스톨락톤; 항-부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충물, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트랙세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르니틴; 엘리프티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK[®] 폴리사카라이드 복합체 (제이에이치에스 내추럴 프로덕츠(JHS Natural Products), 미국 오레곤주 유진); 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히, T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안귀딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노

시드 ("Ara-C"); 시클로포스파미드; 티오테과; 탁소이드, 예를 들어 탁솔(TAXOL)[®] 파클리탁셀 (브리스톨-마이어스 스쿼브 온콜로지(Bristol-Myers Squibb Oncology), 미국 뉴저지주 프린스턴), 아브락산[®] 크레모포르-무함유, 파클리탁셀의 알부민-조작 나노입자 제제 (아메리칸 파마슈티칼 파트너즈(American Pharmaceutical Partners), 미국 일리노이주 샤움버그), 및 탁소테레(TAXOTERE)[®] 도세탁셀 (론-프랑 로리(Rhone-Poulenc Rorer), 프랑스 안토니); 클로란부실; 겐자르(GEMZAR)[®] 겐시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토피린; 메토티렉세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 나벨빈(NAVELBINE)[®] 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 크셀로다; 이반드로네이트; 이리노테칸 (캄프토사르(Camptosar), CPT-11) (예를 들어, 이리노테칸 및 5-FU 및 류코보린을 사용한 처치법); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 카페시타빈; 콤프레타스타틴; 류코보린 (LV); 옥살리플라틴, 예를 들어 옥살리플라틴 처치법 (FOLFOX); 라파티닙 (티커브(Tykerb)[®]); 세포 증식을 감소시키는 PKC-알파, Raf, H-Ras, EGFR (예를 들어, 에를로티닙 (타르세바[®])) 및 VEGF-A의 억제제, 및 이것들 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체.

[0097] 또한, 상기 정의에는 종양에 대한 호르몬 작용을 조절하거나 억제하는 작용을 하는 항-호르몬제, 예컨대 항-에스트로겐 및 선택적인 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM), 예를 들어 타목시펜 (예를 들어, 놀바덱스(NOLVADEX)[®] 타목시펜), 탈록시펜, 드롤록시펜, 4-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤, 및 파레스톤(FARESTON)·토레미펜; 부신에서의 에스트로겐 생성을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예를 들어 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메가스(MEGASE)[®] 메게스트롤 아세테이트, 아로마신(AROMASIN)[®] 엑세메스탄, 포르메스타니, 파드로졸, 리비소르(RIVISOR)[®] 보로졸, 페마라(FEMARA)[®] 레트로졸, 및 아리미덱스(ARIMIDEX)[®] 아나스트로졸; 및 항-안드로겐, 예컨대 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드 및 고세렐린; 및 또한 트룩사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오티드, 특히 이상 세포 증식과 관련이 있는 신호전달 경로에서의 유전자 발현을 억제하는 것, 예를 들어 PKC-알파, Ralf 및 H-Ras; 리보자임, 예컨대 VEGF 발현 억제제 (예를 들어, 안지오자임(ANGIOZYME)[®] 리보자임) 및 HER2 발현 억제제; 백신, 예컨대 유전자 요법 백신, 예를 들어 알로벡틴(ALLOVECTIN)[®] 백신, 류벡틴(LEUVECTIN)[®] 백신, 및 박시드(VAXID)[®] 백신; 프로류킨(PROLEUKIN)[®] rIL-2; 루르토테칸(LURTOTECAN)[®] 토포이소머라제 1 억제제; 아바렐릭스(ABARELIX)[®] rmRH; 및 이것들 중 임의의 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체가 포함된다.

[0098] 용어 "시토카인"은 세포간 매개자로서 또 다른 세포에 대해 작용하는, 한 세포 집단에 의해 방출되는 단백질에 대한 일반 용어이다. 이러한 시토카인의 예는 림포카인, 모노카인 및 통상적인 폴리펩티드 호르몬이다. 시토카인에는 성장 호르몬, 예컨대 인간 성장 호르몬, N-메티오닐 인간 성장 호르몬, 및 소 성장 호르몬; 부갑상선 호르몬; 티록신; 인슐린; 프로인슐린; 릴렉신; 프로릴렉신; 당단백질 호르몬, 예컨대 여포 자극 호르몬 (FSH), 갑상선 자극 호르몬 (TSH), 및 황체형성 호르몬 (LH); 표피 성장 인자; 간 성장 인자; 섬유모세포 성장 인자; 프로락틴; 태반 락토겐; 중앙 괴사 인자-알파 및 -베타; 물러-억제 물질; 마우스 고나도트로핀-관련 펩티드; 인히빈; 액티빈; 혈관 내피 성장 인자; 인테그린; 트롬보포이에틴 (TPO); 신경 성장 인자, 예컨대 NGF-알파; 혈소판-성장 인자; 형질전환 성장 인자 (TGF), 예컨대 TGF-알파 및 TGF-베타; 인슐린-유사 성장 인자-I 및 -II; 에리트로포이에틴 (EPO); 글유도 인자; 인터페론, 예컨대 인터페론-알파, -베타 및 -감마 콜로니 자극 인자 (CSF), 예컨대 대식세포-CSF (M-CSF); 과립구-대식세포-CSF (GM-CSF); 및 과립구-CSF (G-CSF); 인터류킨 (IL), 예컨대 IL-1, IL-1알파, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; 중앙 괴사 인자, 예컨대 TNF-알파 또는 TNF-베타; 및 기타 폴리펩티드 인자, 예를 들어 LIF 및 키트 리간드 (KL)가 포함된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 시토카인은 천연 공급원 또는 재조합 세포 배양물로부터의 단백질 및 천연 서열 시토카인의 생물학적 활성 등가물을 포함한다.

[0099] "성장 억제제"가 본원에서 사용되는 경우, 이것은 세포의 성장을 시험관내 및/또는 생체내 억제하는 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 따라서, 성장 억제제는 S기에서 세포의 백분율(%)을 유의하게 감소시키는 것일 수 있다. 성장 억제제의 예는 세포 주기 진행을 (S기 이외의 다른 단계에) 차단하는 작용제, 예컨대 G1 정지 및 M기

정지를 유도하는 작용제를 포함한다. 전통적인 M기 차단제는 빈카 (빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁솔[®], 및 토포 II 억제제, 예컨대 독소루비신, 에피루비신, 다우노루비신, 에토포시드 및 블레오마이신을 포함한다. G1을 정지시키는 작용제, 예를 들어 DNA 알킬화제, 예컨대 타목시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로레타민, 시스플라틴, 메토티렉세이트, 5-플루오로우라실 및 ara-C는 S기 정지르까지 이어질 수도 있다. 추가의 정보는 문헌 [The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn and Israel, eds.]의 제1장 (영문 제목: "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs") (Murakami et al. (WB Saunders: Philadelphia, 1995)), 특히 제13면에서 찾을 수 있다.

- [0100] 본 출원에서 사용된 바와 같이, 용어 "전구약물"은 모 약물에 비해 중양 세포에 덜 세포독성이고, 효소에 의해 활성화되거나 전환되어 더욱 활성인 모 형태가 될 수 있는, 제약 활성 물질의 전구체 또는 유도체 형태를 지칭한다. 예를 들어, 문헌 [Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986)] 및 [Stella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt et al. (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)]을 참조한다. 본 발명의 전구약물은 포스페이트-함유 전구약물, 티오포스페이트-함유 전구약물, 술페이트-함유 전구약물, 펩티드-함유 전구약물, D-아미노산-변형된 전구약물, 글리코실화된 전구약물, β-락탐-함유 전구약물, 임의로 치환된 페녹시아세트아미드-함유 전구약물 또는 임의로 치환된 페닐아세트아미드-함유 전구약물, 5-플루오로시토신, 및 더욱 활성이고 세포독성이 없는 약물로 전환될 수 있는 기타 5-플루오로우리딘 전구약물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명에 사용하기 위한 전구약물 형태로 유도체화될 수 있는 세포독성 약물의 예는 상기 기재된 화학요법제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0101] "방사선 요법"은, 정상적으로 기능하거나 세포를 파괴시키는 능력이 완전히 제한되도록 세포에 대한 충분한 손상을 유도시키기 위해 지정된 감마선 또는 베타선을 사용하는 것을 의미한다. 당업계에는 투여량 및 처치 기간을 결정하는 수많은 방법이 공지되어 있음을 이해할 것이다. 전형적인 처치는 1회 투여로 제공되며, 전형적인 투여량은 1일 당 10 내지 200 단위 (그레이(Gray))의 범위이다.
- [0102] "감소 또는 억제"는 바람직하게는 20% 이상, 더욱 바람직하게는 50% 이상, 가장 바람직하게는 75%, 85%, 90%, 95% 이상의 전반적인 감소를 야기하는 능력을 의미한다. 감소 또는 억제는 치료할 장애의 증상, 전이물 또는 미세전이물의 존재 또는 크기, 원발성 종양의 크기, 잠복기 종양의 존재 또는 크기, 또는 혈관신생 장애에서 혈관의 크기 또는 수를 지칭할 수 있다.
- [0103] 용어 "정맥내 주입"은 약물을 대략 5분 초과, 바람직하게는 대략 30분 내지 90분의 기간에 걸쳐 동물 또는 인간 대상체의 정맥 내로 도입하는 것을 지칭하지만, 본 발명에 따라 정맥내 주입은 대안적으로 10시간 이하 동안 투여되기도 한다.
- [0104] 용어 "정맥내 볼루스" 또는 "정맥내 푸시(push)"는 신체가 약물을 대략 15분 이하, 바람직하게는 5분 이하로 수용하도록 동물 또는 인간의 정맥 내로 약물을 투여하는 것을 지칭한다.
- [0105] 용어 "피하 투여"는 약물 리셉터클로부터 비교적 저속의 지속적인 전달에 의해 동물 또는 인간 대상체의 피부 아래쪽으로, 바람직하게는 피부와 기저 조직 사이의 포켓 내로 약물이 도입되는 것을 지칭한다. 포켓은 피부를 기저 조직으로부터 펀칭 또는 드로잉하여 생성될 수 있다.
- [0106] 용어 "피하 주입"은 30분 이하 또는 90분 이하를 포함하지만 이에 제한되지 않는 기간의 시간 동안 약물 리셉터클로부터 비교적 저속의 지속적인 전달에 의해 동물 또는 인간 대상체의 피부 아래쪽으로, 바람직하게는 피부와 기저 조직 사이의 포켓 내로 약물이 도입되는 것을 지칭한다. 임의로, 주입은 동물 또는 인간 대상체의 피부 아래쪽에 이식된 약물 전달 펌프의 피하 이식에 의해 이루어질 수 있는데, 이러한 펌프는 소정량의 약물을 소정 기간의 시간, 예컨대 30분, 90분, 또는 처치 기간 전체에 걸쳐 전달한다.
- [0107] 용어 "피하 볼루스"는 동물 또는 인간 대상체의 피부 밑으로의 약물 투여를 지칭하고, 여기서 볼루스 약물 전달은 바람직하게는 대략 15분 미만, 더욱 바람직하게는 5분 미만, 가장 바람직하게는 60초 미만이다. 투여는 바람직하게는 피부와 기저 조직 사이의 포켓 내에서 이루어지고, 포켓은 예를 들어 피부를 기저 조직으로부터 펀칭 또는 드로잉하여 생성된다.
- [0108] "장애"는 항체를 사용한 치료가 유익할 임의의 상태이다. 이것은 포유동물이 해당 장애에 걸리기 쉽게 하는 병리 상태를 포함하는, 만성 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다. 본원에서 치료할 장애의 비-제한적인 예는 암; 양성 및 악성 종양; 백혈병 및 림프계 악성종양; 뉴런, 신경교, 성상세포, 시상하부 및 기타 분비선

(glandular), 대식세포, 상피, 간질 및 포배강 장애; 및 염증성, 혈관신생 및 면역계 장애를 포함한다.

[0109] 용어 "치료 유효량"은 포유동물에서 질환 또는 장애의 치료에 효과적인 약물의 양을 지칭한다. 암의 경우에, 치료 유효량의 약물은 암 세포의 수 감소, 종양 크기의 감소, 말초 장기로의 암 세포 침윤의 억제 (즉, 어느 정도 저속화되고 바람직하게는 멈추는 것), 종양 전이의 억제 (즉, 어느 정도 저속화되고 바람직하게는 멈추는 것), 종양 성장의 어느 정도의 억제, 및/또는 장애와 관련이 있는 하나 이상의 증상의 어느 정도의 경감을 유도할 수 있다. 약물이 기존 암 세포의 성장을 예방하고/하거나 기존 암 세포를 사멸시킬 수 있는 정도라면, 이것은 세포증식억제성 및/또는 세포독성일 수 있다. 암 요법의 경우, 생체내 효능은 예를 들어 생존 기간, 무진행 생존 (PFS)의 기간, 반응률 (RR), 반응 기간, 및/또는 삶의 질을 평가하여 결정될 수 있다.

[0110] "치료"는 치료학적 처치 및 예방적 또는 방지적 조치 둘다를 지칭한다. 치료를 필요로 하는 대상체는 이미 해당 장애가 있는 대상체 및 또한 이러한 장애를 예방할 대상체를 포함한다.

[0111] 본원에 사용된 경우의 용어 "표지"는 폴리펩티드와 직접적으로 또는 간접적으로 접합되는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 표지는 그 자체로 검출가능할 수도 있고 (예를 들어, 방사선동위원소 표지 또는 형광 표지), 또는 효소 표지의 경우에는 기질 화합물 또는 조성물의 검출가능한 화학적 변형을 촉매할 수도 있다.

[0112] **II. 항-VEGF 항체 및 길항제**

[0113] (i) VEGF 항원

[0114] 항체 생성에 사용될 VEGF 항원은 VEGF₁₆₅분자 및 또한 원하는 에피토프를 함유하는 VEGF의 다른 이소형 또는 그의 단편일 수 있다. 본 발명의 항-VEGF 항체 생성에 유용한 다른 형태의 VEGF는 당업자에게 명백할 것이다.

[0115] 인간 VEGF는 소 VEGF cDNA를 혼성화 프로브로 사용하여 인간 세포로부터 제조된 cDNA 라이브러리를 처음 스크리닝하여 획득되었다 ([Leung et al. (1989) Science, 246:1306]). 이로써 확인된 cDNA 중 하나가 소 VEGF와 95% 초과 상동성을 갖는 165-아미노산 단백질을 코딩하며, 이러한 165-아미노산 단백질은 전형적으로 인간 VEGF (hVEGF) 또는 VEGF₁₆₅라 지칭된다. 인간 VEGF의 유사분열촉진 활성은 포유동물 숙주 세포에서의 인간 VEGF cDNA 발현으로 확인되었다. 인간 VEGF cDNA로 형질감염된 세포에 의해 조건화된 배지는 모세관 내피 세포의 증식을 촉진시켰지만, 대조군 세포는 그렇지 않았다 ([Leung et al. (1989) Science, 상기 문헌]). 추가의 노력으로, 재조합 DNA 기술을 통해 VEGF가 클로닝되고 발현되었다 (예를 들어, 문헌 [Ferrara, Laboratory Investigation 72:615-618 (1995)] 및 상기 문헌에서 인용된 참조문헌 참조).

[0116] VEGF는 여러 조직에서 대안적인 RNA 스플라이싱으로 인한 다양한 동종이량체 형태 (단량체마다 121, 145, 165, 189 및 206개 아미노산)로서 발현된다. VEGF₁₂₁은 헤파린과 결합하지 않는 가용성 유사분열촉진인자이고, VEGF가 보다 긴 형태를 가질 수록 점진적으로 더 높은 친화도로 헤파린과 결합한다. VEGF의 헤파린 결합 형태는 플라스민에 의해 카르복시 말단에서 절단되어 확산가능한 형태(들)의 VEGF를 방출시킬 수 있다. 플라스민 절단 후에 확인된 카르복시 말단 펩티드의 아미노산 서열분석은 Arg₁₁₀-Ala₁₁₁이다. 동종이량체로서 단리된 아미노 말단 "코어" 단백질인 VEGF (1-110)은 중화 모노클로날 항체 (예를 들어, 4.6.1 및 3.2E3.1.1이라 지칭되는 항체) 및 가용성 형태의 VEGF 수용체에 무손상 VEGF₁₆₅ 동종이량체와 유사한 친화도로 결합한다.

[0117] 또한, 태반 성장 인자 (PlGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D 및 VEGF-E를 비롯하여 VEGF와 구조적으로 관련이 있는 여러 분자가 최근 확인된 바 있다 ([Ferrara and Davis-Smyth (1987) Endocr. Rev., 상기 문헌], [Ogawa et al., J. Biological Chem. 273:31273-31281 (1998)], [Meyer et al., EMBO J., 18:363-374 (1999)]). 수용체 티로신 키나제, Flt-4 (VEGFR-3)는 VEGF-C 및 VEGF-D에 대한 수용체로서 확인되었다 ([Joukov et al., EMBO. J. 15:1751 (1996)], [Lee et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:1988-1992 (1996)], [Achen et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:548-553]). VEGF-C는 림프 혈관신생의 조절에 관여하는 것으로 밝혀졌다 ([Jeltsch et al., Science 276:1423-1425 (1997)]).

[0118] Flt-1 (VEGFR-1이라고도 불림) 및 KDR (VEGFR-2라고도 불림)의 2종의 VEGF 수용체가 확인된 바 있다 ([Shibuya et al. (1990) Oncogene 8:519-527], [de Vries et al. (1992) Science 255:989-991], [Terman et al. (1992) Biochem. Biophys. Res. Commun. 187:1579-1586]). 뉴로필린-1은 헤파린 결합 VEGF 이소형에 결합할 수 있는 선택적인 VEGF 수용체인 것으로 나타났다 ([Soker et al. (1998) Cell 92:735-45]).

[0119] (ii) 항-VEGF 항체

- [0120] 본 발명의 방법에 유용한 항-VEGF 항체는 VEGF에 충분한 친화도 및 특이성으로 결합하고 VEGF의 생물학적 활성을 감소 또는 억제시킬 수 있는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함한다. 통상적으로, 항-VEGF 항체는 다른 VEGF 상동체, 예컨대 VEGF-B 또는 VEGF-C에도 결합하지 않을 것이고, 다른 성장 인자, 예컨대 PlGF, PDGF 또는 bFGF에도 결합하지 않을 것이다.
- [0121] 본 발명의 특정 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생성된 모노클로날 항-VEGF 항체 A4.6.1과 동일한 에피토프에 결합하는 모노클로날 항체; 문헌 [Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599]에 따라 생성된 재조합 인간화 항-VEGF 모노클로날 항체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 한 실시양태에서, 항-VEGF 항체는 "rhuMAb VEGF" 또는 "아바스틴[®]"이라고도 공지된 "베바시주맙 (BV)"이다. 이것은 돌연변이된 인간 IgG1 프레임워크 영역, 및 인간 VEGF의 그의 수용체에 대한 결합을 차단하는 무린 항-hVEGF 모노클로날 항체 A.4.6.1로부터의 항원 결합 상보성-결정 영역을 포함한다. 베바시주맙의 아미노산 서열의 대략 93% (대부분의 프레임워크 영역 포함)는 인간 IgG1로부터 유래되고, 서열의 약 7%는 무린 항체 A4.6.1로부터 유래된다.
- [0122] 베바시주맙 (아바스틴[®])은 FDA의 승인을 받은 최초의 항혈관신생 요법제였고, 전이성 결장직장암 (정맥내 5-FU-기제의 화학요법과 조합된 1차 및 2차 치료), 진행성 비-편평, 비-소세포 폐암 (NSCLC) (카르보플라틴 및 파클리탁셀과 조합된 절제불가능, 국소 진행성, 재발성 또는 전이성 NSCLC의 1차 치료) 및 전이성 HER2-음성 유방암 (파클리탁셀과 조합된, 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 HER2-음성 유방암)의 치료용으로 승인을 받았다.
- [0123] 베바시주맙 및 기타 인간화 항-VEGF 항체는 2005년 2월 26일자로 허여된 미국 특허 번호 6,884,879에 추가로 기재되어 있다. 추가의 항체는 PCT 공개 번호 WO 2005/012359, PCT 공개 번호 WO 2005/044853, 및 미국 특허 출원 60/991,302 (이들 특허 출원의 내용은 본원에 명백하게 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같은 G6 또는 B20 시리즈 항체 (예를 들어, G6-31, B20-4.1)를 포함한다. 추가의 항체에 대하여는, 미국 특허 번호 7,060,269, 6,582,959, 6,703,020, 6,054,297, WO 98/45332, WO 96/30046, WO 94/10202, EP 0666868B1, 미국 특허 출원 공개 번호 2006009360, 20050186208, 20030206899, 20030190317, 20030203409, 및 20050112126, 및 문헌 [Popkov et al., Journal of Immunological Methods 288:149-164 (2004)]을 참조한다. 다른 항체는 잔기 F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I91, K101, E103 및 C104로 이루어지거나, 또는 대안적으로는 잔기 F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 및 Q89를 포함하는, 인간 VEGF상의 기능적 에피토프에 결합하는 것을 포함한다.
- [0124] 본 발명의 한 실시양태에서, 항-VEGF 항체는
 EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVWGW
 INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
- [0125] HYYGSSHWFY DVWGGQTLVT VSS (서열 1) 의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및
 DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKPK GKAPKVLIIYF
 TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
- [0126] GTKVEIKR (서열 2) 의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 갖는다.
- [0127] 본 발명에 따른 "G6 시리즈 항체"는 PCT 공개 번호 WO 2005/012359 (이것의 전체 개시내용은 본원에 명백하게 참고로 포함됨)의 도 7, 24-26 및 34-35 중 어느 하나에 따른 G6 항체 또는 G6-유래 항체의 서열로부터 유래된 항-VEGF 항체이다. 또한, PCT 공개 번호 WO 2005/044853 (이것의 전체 개시내용은 본원에 명백하게 참고로 포함됨)을 참조한다. 한 실시양태에서, G6 시리즈 항체는 잔기 F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 및 Q89를 포함하는 인간 VEGF상의 기능적 에피토프에 결합한다.
- [0128] 본 발명에 따른 "B20 시리즈 항체"는 PCT 공개 번호 WO 2005/012359 (이것의 전체 개시내용은 본원에 명백하게 참고로 포함됨)의 도 27-29 중 어느 하나에 따른 B20 항체 또는 B20-유래 항체의 서열로부터 유래된 항-VEGF 항체이다. 또한, PCT 공개 번호 WO 2005/044853, 및 미국 특허 출원 60/991,302 (이들 특허 출원의 내용은 본원에 명백하게 참고로 포함됨)를 참조한다. 한 실시양태에서, B20 시리즈 항체는 잔기 F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I91, K101, E103 및 C104를 포함하는 인간 VEGF상의 기능적 에피토프에 결합한다.

- [0129] 본 발명에 따른 "기능적 에피토프"는 항체의 결합에 강력하게 기여하는 항원의 아미노산 잔기를 지칭한다. 이와 같이 강력하게 기여하는 항원 잔기 중 임의의 것을 돌연변이시키면 (예를 들어, 알라닌에 의한 야생형 VEGF의 돌연변이 또는 동족체 돌연변이) 항체의 결합성이 파괴되어 항체의 상대적인 친화도 비율 (IC₅₀돌연변이체 VEGF/IC₅₀야생형 VEGF)은 5 초과가 될 것이다 (WO 2005/012359의 실시예 2 참조). 한 실시양태에서, 상대적 친화도 비율은 용액 결합 파지 디스플레이 ELISA로 결정된다. 간략하게 설명하면, 96웰 맥시소르프(Maxisorp) 이뮤노플레이트 (넉크(NUNC))를 4°C에서 PBS 중 2 μg/mL 농도의 시험할 항체의 Fab 형태로 밤새 코팅한 후에 2 시간 동안 실온에서 PBS, 0.5% BSA 및 0.05% 트윈20 (PBT)으로 차단한다. PBT 중 hVEGF 알라닌 점 돌연변이체 (잔기 8-109 형태) 또는 야생형 hVEGF (8-109)를 디스플레이하는 파지의 계열 희석물을 우선 실온에서 15분 동안 Fab-코팅된 플레이트에서 인큐베이션하고, 상기 플레이트를 PBS, 0.05% 트윈20 (PBST)으로 세척한다. 결합된 파지는 PBT 중에서 1:5000으로 희석된 항-M13 모노클로날 항체 양고추냉이 퍼옥시다제 (아머삼 파마시아 (Amersham Pharmacia)) 접합체로 검출하고, 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB, 키르케가아드 앤드 페리 랩스 (Kirkegaard & Perry Labs), 미국 메릴랜드주 게이터스버그) 기질로 대략 5분 동안 발색시키며, 1.0 M H₃PO₄로 켄칭시킨 후에 450 nm에서 분광광도계로 판독한다. IC₅₀ 값의 비율 (IC_{50,ala}/IC_{50,wt})은 결합 친화도에 있어서의 감소 배수 (상대적 결합 친화도)를 나타낸다.
- [0130] (iii) VEGF 수용체 분자
- [0131] 가장 잘 특징규명된 2종의 VEGF 수용체는 VEGFR1 (또한, Flt-1이라고도 공지됨) 및 VEGFR2 (또한, KDR 및 FLK-1 (뮤린 동족체)이라고도 공지됨)이다. 각 VEGF 부류 구성원에 대한 각 수용체의 특이성은 다양하지만, VEGF-A는 Flt-1 및 KDR 둘다에 결합한다. Flt-1 및 KDR 둘다 수용체 티로신 키나제 (RTK) 부류에 속한다. RTK는 다양한 생물학적 활성을 갖는 막형단 수용체의 거대 부류를 포함한다. 적어도 열아홉 (19)종의 별개의 RTK 하위 부류가 확인되었다. 수용체 티로신 키나제 (RTK) 부류는 다양한 세포 유형의 성장 및 분화에 중요한 수용체를 포함한다 ([Yarden and Ullrich (1988) Ann. Rev. Biochem. 57:433-478], [Ullrich and Schlessinger (1990) Cell 61:243-254]). RTK의 내재적 기능은 수용체 및 여러 세포 기질의 인산화 및 이후 다양한 세포 반응을 야기하는 리간드 결합시에 활성화된다 ([Ullrich & Schlessinger (1990) Cell 61:203-212]). 따라서, 수용체 티로신 키나제 매개된 신호 도입은 특정 성장 인자 (리간드)와의 세포의 상호작용으로 개시되고, 전형적으로는 이후에 수용체 이량체화, 내재적 단백질 티로신 키나제 활성의 자극 및 수용체 인산 전달이 일어난다. 이에 따라 세포내 신호 도입 분자를 위한 결합 부위가 생성되고, 적절한 세포 반응 (예를 들어, 세포 분열, 분화, 대사 효과, 세포의 미소환경의 변화)을 용이하게 하는 세포질 신호전달 분자의 스펙트럼을 갖는 복합체가 형성된다. 문헌 [Schlessinger and Ullrich (1992) Neuron 9:1-20]을 참조한다. 구조적으로, Flt-1 및 KDR 둘다 세포의 도메인의 7개 이뮤노글로불린-유사 도메인, 단일 막형단 영역, 및 키나제-삽입 도메인이 개재된 컨센서스 티로신 키나제 서열을 갖는다 ([Matthews et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9026-9030], [Terman et al. (1991) Oncogene 6:1677-1683]). 세포의 도메인은 VEGF의 결합에 관여하고, 세포내 도메인은 신호 도입에 관여한다.
- [0132] VEGF에 특이적으로 결합하는 VEGF 수용체 분자 또는 그의 단편은, 본 발명의 방법에 사용하여 VEGF 단백질에 결합하고 이를 격리시킴으로써 이것의 신호전달을 저해할 수 있다. 특정 실시양태에서, VEGF 수용체 분자 또는 그의 VEGF 결합 단편은 가용성 형태, 예를 들어 sFlt-1이다. 가용성 형태의 수용체는 VEGF와 결합함으로써 VEGF 단백질의 생물학적 활성에 대한 억제 효과를 발휘하여 VEGF 단백질이 표적 세포 표면에 존재하는 이것의 천연 수용체와 결합하는 것을 저해한다. 또한, VEGF 수용체 융합 단백질이 포함되는데, 이것의 예는 아래에 기재되어 있다.
- [0133] 키메라 VEGF 수용체 단백질은 적어도 2종의 상이한 단백질로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 수용체 분자로서, 이중 적어도 1종은 VEGF와 결합하여 그의 생물학적 활성을 억제할 수 있는 VEGF 수용체 단백질 (예를 들어, flt-1 또는 KDR 수용체)이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 VEGF 수용체 단백질은 오직 2종의 상이한 VEGF 수용체 분자로부터 유래된 아미노산 서열로 이루어지지만, flt-1 및/또는 KDR 수용체의 세포의 리간드 결합 영역으로부터의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 또는 7개 모든 Ig-유사 도메인을 포함하는 아미노산 서열이 다른 무관한 단백질로부터의 아미노산 서열, 예를 들어 이뮤노글로불린 서열에 연결될 수 있다. Ig-유사 도메인과 조합되는 다른 아미노산 서열은 당업자에게 매우 명백할 것이다. 키메라 VEGF 수용체 단백질의 예는, 예를 들어 가용성 Flt-1/Fc, KDR/Fc 또는 Flt-1/KDR/Fc (또한, VEGF Trap이라고도 공지됨)를 포함한다 (예를 들어, PCT 출원 공개 번호 WO 97/44453 참조).
- [0134] 본 발명의 가용성 VEGF 수용체 단백질 또는 키메라 VEGF 수용체 단백질은 막형단 도메인을 통해 세포의 표면에

고정되지 않는 VEGF 수용체 단백질을 포함한다. 가용성 형태의 VEGF 수용체, 예를 들어 키메라 수용체 단백질은 그 자체로 VEGF와 결합하여 이것을 불활성화시키면서도 막횡단 도메인을 포함하지 않기 때문에 일반적으로는 해당 분자가 발현되는 세포의 세포막과 결합되지 않는다.

[0135] **III. 항-VEGF 항체의 치료 용도 및 조성물**

[0136] 본 발명은 종양 성장을 지지하는 영양분 제공에 필요한 종양 혈관의 발달 억제를 목표로 하는 신규 암 치료 전략인 항혈관신생 요법을 포함한다. 혈관신생이 원발성 종양 성장 및 전이 둘다에 관여하기 때문에, 본 발명이 제공하는 항혈관신생 치료는 원발성 부위에서의 종양의 신생물성 성장을 억제할 수 있을 뿐만이 아니라, 또한 2차 부위에서의 종양의 전이를 예방할 수도 있고, 따라서 다른 치료제에 의한 종양의 공격을 허용한다.

[0137] 구체적으로, 본원에서는 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암으로 진단된 대상체에게 유효량의 1종 이상의 화학요법제 및 항-VEGF 항체를 포함하는 치료 처방제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 대상체는 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 위한 임의의 화학요법제를 투여받은 적이 없는, 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암으로 진단된 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 임의로, 상기 대상체는 이전의 아주반트 화학요법제를 마지막 투여 이후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없다. 화학요법 및 항-VEGF의 투여를 조합한 치료 처방제는 대상체의 무진행 생존 (PFS)을 효과적으로 연장시킨다. 추가로, 본원에서는 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 위한 임의의 화학요법제를 투여받은 적이 없는 대상체에서 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 항-VEGF 항체 및 1종 이상의 화학요법제의 용도를 제공한다. 임의로, 상기 대상체는 이전의 아주반트 화학요법제를 마지막 투여 이후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없다. 항-VEGF 및 화학요법제의 사용은 대상체의 무진행 생존 (PFS)을 효과적으로 연장시킨다. 또한, 본원에서는 대상체에게 유효량의 1종 이상의 화학요법제 및 항-VEGF 항체를 포함하는 치료 처방제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서 상기 대상체는 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 위한 임의의 화학요법제를 투여받은 적이 없는, 대상체에서 국소 재발성 또는 전이성 유방암을 치료하는 방법에 사용하기 위한 항-VEGF 항체가 제공된다. 임의로, 상기 대상체는 이전의 아주반트 화학요법제를 마지막 투여 이후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없다. 항-VEGF 및 화학요법제의 사용은 대상체의 무진행 생존 (PFS)을 효과적으로 연장시킨다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 임의의 방법, 용도 및 조성물에서, 화학요법 및 항-VEGF 항체의 투여는 이전의 베바시주맙 실험 결과와 일치하는 안전성 프로파일을 갖는다 (예를 들어, 베바시주맙 생성물 삽입 참조).

[0138] 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 대상체는 HER2 음성이다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 상기 대상체는 HER2 양성이다. HER2는 일부 유방암에서 중요한 예측 및 예후 인자로 인식된다. 예를 들어, 문헌 [Slamon DJ, et al., Science. 1989;244:707-712] 및 [Sjoegren S, et al., J Clin Oncol. 1998;16:462-469]을 참조한다. HER2 유전자 증폭은 HER2 수용체 (HER2 단백질)의 연속적인 과다발현을 야기하는 영구적인 유전자 변화이다. 예를 들어, 문헌 [Simon R, et al., J Natl Cancer Inst. 2001;93:1141-11465] 및 [Sliwkowski MX, et al., Semin Oncol. 1999;26(suppl 12):60-70]을 참조한다. 여러 연구는 HER2 과다발현 (유전자 자체의 엑스트라 카피 또는 과량의 유전자 단백질 생성물)이 전체 생존율의 감소와 관련이 있음을 보여주었다. 예를 들어, 문헌 [Slamon DJ, et al., Science. 1987;235:177-182] 및 [Paik S, et al., J Clin Oncol. 1990;8:103-112]를 참조한다. HER2 상태의 결정에 이용가능한 여러 시판 검정물이 존재하고, 예를 들어 단백질의 경우에는 헤르셉테스트(HerceptTest)[®] 및 패스웨이(Pathway)[™], 유전자 변경의 경우에는 패스비전(PathVysion)[®] 및 HER2 FISH 판디엑스(pharmDx)[™]를 들 수 있다.

[0139] **조합 요법**

[0140] 본 발명은 적어도 1종의 VEGF-특이적 길항제와 1종 이상의 추가의 항암 요법의 조합의 용도 또는 이것의 조성물을 특징으로 한다. 항암 요법의 예는 수술, 방사선 요법 (방사선요법), 생물요법, 면역요법, 화학요법, 또는 이들 요법의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 추가로, 세포독성제, 항혈관신생제 및 항증식제는 VEGF-특이적 길항제와 조합되어 사용될 수 있다.

[0141] 임의의 방법 및 용도의 특정 측면에서, 본 발명은 유효량의 항-VEGF 항체 및 1종 이상의 화학요법제를 국소 재발성 또는 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 암에 감수성이 있거나 그러한 암으로 진단받은 대상체에게 투여하여 유방암을 치료하는 방법을 제공한다. 다양한 화학요법제가 본 발명의 조합 치료 방법 및 용도에서 사용될 수 있다. 고려되는 화학요법제의 예시적이고 비-제한적인 목록은 본원에서 "정의" 섹션에서 제공되거나 본원에 기재되어 있다.

[0142] 한 예에서, 본 발명은 VEGF-특이적 길항제 및 1종 이상의 화학요법제 (예를 들어, 캅테일) 또는 이것들의 임의

의 조합물을 사용한 방법 및 용도를 특징으로 한다. 특정 실시양태에서, 화학요법제는 예를 들어 카페시타빈, 탁산, 안트라사이클린, 파클리탁셀, 도세탁셀, 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브라산[®]), 독소루비신, 에피루비신, 5-플루오로우라실, 시클로포스파미드 또는 이것들의 조합 요법이다. 특정 실시양태에서, VEGF 길항제 (예를 들어, 항-VEGF 항체)는 라파티닙 (티커브[®])과 조합된다. 조합 투여는 별개의 제제 또는 단일 제 약 제제를 사용한 동시 투여 및 임의의 순서로의 연속 투여를 포함하고, 여기서 바람직하게는 2종의 모든 (또는 모든) 활성 작용제가 이것들의 생물학적 활성을 동시에 발휘하는 기간이 존재한다. 이러한 화학요법제에 대한 제조 및 투여 스케줄은 제조업체의 지침에 따라 또는 숙련된 전문인이 경험적으로 결정하는 바에 따라 이용될 수 있다. 화학요법에 대한 제조 및 투여 스케줄은 또한 문헌 [Chemotherapy Service Ed., M. C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (1992)]에도 기재되어 있다. 화학요법제는 VEGF-특이적 길항제의 투여 이전 또는 이후에 투여될 수도 있고, 또는 VEGF-특이적 길항제와 동시에 투여될 수도 있다.

[0143] 임의의 방법 및 용도의 일부 다른 측면에서, 본 발명의 항체와의 조합 종양 요법에 유용한 다른 치료제는 종양 성장에 관여하는 다른 인자, 예컨대 EGFR, ErbB2 (또한, Her2라고도 공지됨), ErbB3, ErbB4 또는 TNF의 길항제를 포함한다. 때때로, 1종 이상의 사이토킨을 대상체에게 투여하는 것이 유익할 수도 있다. 한 실시양태에서, VEGF 항체는 성장 억제제와 공동 투여된다. 예를 들어, 성장 억제제가 먼저 투여된 후에 VEGF 항체가 투여될 수 있다. 그러나, 동시 투여 또는 VEGF 항체의 우선 투여 역시 고려된다. 성장 억제제의 적합한 투여량은 현재 사용되고 있는 양이며, 성장 억제제 및 항-VEGF 항체의 조합 작용 (상승작용)으로 인해 저하될 수 있다.

[0144] 본원의 제제는 또한 치료할 특정 적응증에 필요한 경우에는 1종 초과 of 활성 화합물, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 것들을 함유할 수 있다. 예를 들어, 하나의 제제 중에 EGFR, VEGF (예를 들어, VEGF상의 상이한 에피토프 또는 동일한 에피토프와 결합하는 항체), VEGFR 또는 ErbB2 (예를 들어, 헤르셉틴[®])와 결합하는 항체를 추가로 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 조성물은 세포 독성제, 시토키인, 성장 억제제 및/또는 VEGFR 길항제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 적합하게는 의도된 목적에 효과적인 양으로 조합되어 존재한다.

[0145] 임의의 방법 및 용도의 특정 측면에서, 본 발명의 항체와의 조합 암 요법에 유용한 다른 치료제는 기타 항혈관 신생제를 포함한다. 많은 항혈관신생제가 당업계에서 확인되었고 공지되어 있으며, 예를 들어 문헌 [Carmeliet and Jain (2000)]에 기재되어 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항-VEGF 항체는 또 다른 VEGF 길항제 또는 VEGF 수용체 길항제, 예컨대 VEGF 변이체, 가용성 VEGF 수용체 단편, VEGF 또는 VEGFR을 차단시킬 수 있는 압타머, 중화 항-VEGFR 항체, VEGFR 티로신 키나제의 저분자량 억제제, 및 이것들의 임의의 조합물과 조합되어 사용된다. 대안적으로 또는 추가로, 2종 이상의 항-VEGF 항체가 대상체에게 공동 투여될 수 있다.

[0146] 질환의 예방 또는 치료에 적절한 VEGF-특이적 길항제의 투여량은 상기 정의된 바와 같은 치료할 질환의 유형, 질환의 중증도 및 경과, VEGF-특이적 길항제가 예방 목적으로 투여되는지 치료 목적으로 투여되는지의 여부, 선행 요법, 대상체의 임상적 병력 및 VEGF-특이적 길항제에 대한 반응, 및 담당 의사의 판단에 따라 달라질 것이다. VEGF-특이적 길항제는 대상체에게 적합하게는 1회 또는 일련의 처치에 걸쳐 투여된다. 조합 요법에서는, 본 발명의 VEGF-특이적 길항제 및 1종 이상의 항암 치료제는 치료 유효량 또는 치료적 상승작용량으로 투여된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 치료 유효량은 VEGF-특이적 길항제 및 1종 이상의 다른 치료제의 공동 투여 또는 본 발명의 조성물의 투여로 인해 상기 기재된 바와 같이 암이 감소 또는 억제되는 양이다. 치료적 상승작용량은, 특정 질환과 관련이 있는 상태 또는 증상을 상승작용적으로 또는 유의하게 감소시키거나 없애는데 필요한, VEGF-특이적 길항제 및 1종 이상의 다른 치료제의 양이다.

[0147] VEGF-특이적 길항제 및 1종 이상의 다른 치료제는 종양, 암복기 종양 또는 미세전이물의 발생 또는 재발을 감소시키거나 없애는데 충분한 양으로 충분한 시간 동안 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. VEGF-특이적 길항제 및 1종 이상의 다른 치료제는 종양 재발의 가능성을 예방하거나 감소시키기 위한 유지 요법으로서 투여될 수 있다.

[0148] 당업자에게 이해되는 바와 같이, 화학요법제 또는 기타 항암제의 적절한 용량은 일반적으로 예를 들어 화학요법제가 단독으로 또는 다른 화학요법제와 조합하여 투여되는 임상 요법에서 이미 사용된 용량 정도일 것이다. 치료할 상태에 따라 투여량에서 변동이 발생할 것이다. 치료를 관리하는 전문의는 개개의 대상체에게 적절한 용량을 결정할 수 있을 것이다.

[0149] 상기 치료법 이외에도, 대상체에게 방사선 요법을 수행할 수 있다.

- [0150] 임의의 방법, 용도 및 조성물의 특정 실시양태에서, 투여되는 VEGF 항체는 무손상의 네이키드(naked) 항체이다. 그러나, VEGF 항체는 세포독성제와 결합될 수 있다. 임의의 방법 및 용도의 특정 실시양태에서, 결합된 항체 및/또는 이것과 결합되는 항원은 세포에 의해 내재화되어, 이와 결합되는 암 세포를 사멸시키는데 있어서의 결합체의 치료 효능을 증가시킨다. 한 실시양태에서, 세포독성제는 암 세포 중의 핵산을 표적으로 하거나 이를 방해한다. 이러한 세포독성제의 예는 메이탄시노이드, 칼리케아미신, 리보뉴클라아제 및 DNA 엔도뉴클레아제를 포함한다.
- [0151] 본 발명은 또한 유방암을 갖는 인간 대상체 또는 건강 관리자에게 항-VEGF 항체를 사용한 처치법을 수행하기 위한 지침을 제공함으로써 무진행 생존 시간이 증가되거나, 대상체의 암 재발 위험이 감소되거나, 또는 대상체의 생존 가능성이 증가되도록 지시하는 방법을 특징으로 한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 1종 이상의 화학요법제를 사용한 처치법을 수행하기 위한 지침을 제공하는 것을 추가로 포함한다. 항-VEGF 항체의 처치는 화학요법제의 처치와 동시에 이루어질 수도 있고 그와 순차적으로 이루어질 수도 있다. 특정 실시양태에서, 대상체는 상기 지시 방법으로 지시되는 바에 따라 처치된다. 화학요법제와 함께 또는 화학요법제 없이 항-VEGF 항체를 투여하여 이루어지는 유방암의 치료는, 암 재발 또는 사망시까지 계속될 수 있다.
- [0152] 본 발명은 인간 대상체에서의 유방암 치료를 위한 항-VEGF 항체의 투여를 홍보하는 것을 포함하는 홍보 방법을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 1종 이상의 화학요법제의 투여를 홍보하는 것을 추가로 포함한다. 항-VEGF 항체의 투여는 화학요법제 투여와 동시에 이루어질 수도 있고 그와 순차적으로 이루어질 수도 있다. 홍보는 이용가능한 임의의 수단에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시양태에서, 홍보는 항-VEGF 항체의 시판 제제를 수반하는 포장 삽입물에 의해 행해진다. 홍보는 또한 화학요법제의 시판 제제를 수반하는 포장 삽입물에 의해 행해질 수도 있다. 홍보는 의사 또는 건강 관리자에 대한 서면 또는 구두 커뮤니케이션으로 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 홍보는 항-VEGF 항체를 사용한 유방암 요법을 받는 것에 대한 지침을 제공하는 포장 삽입물에 의해 행해진다. 추가의 실시양태에서, 포장 삽입물은 실시예 1의 일부 또는 모든 결과를 포함한다. 일부 실시양태에서, 홍보 후에 대상체를 화학요법제와 함께 또는 화학요법제 없이 항-VEGF 항체로 처치한다.
- [0153] 본 발명은 인간 대상체의 유방암을 치료하여 상기 대상체의 무진행 생존 시간이 증가되거나 상기 대상체의 암 재발 가능성이 감소되거나 상기 대상체의 생존 가능성이 증가되도록 항-VEGF 항체를 마케팅하는 것을 포함하는 영업 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상기 방법은 항-VEGF 항체와 조합하여 사용될 화학요법제를 마케팅하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 마케팅 후에 대상체에게 화학요법제와 함께 또는 화학요법제 없이 항-VEGF 항체를 처치한다.
- [0154] 또한, 인간 대상체의 유방암의 치료하여 상기 대상체의 무진행 생존 시간이 증가되거나 상기 대상체의 암 재발 가능성이 감소되거나 상기 대상체의 생존 가능성이 증가되도록 항-VEGF 항체와 조합된 화학요법제를 마케팅하는 것을 포함하는 영업 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 마케팅 후에 대상체에게 화학요법제 및 항-VEGF 항체의 조합물을 처치한다.
- [0155] **IV. 투여량 및 기간**
- [0156] VEGF-특이적 길항제 조성물은 양호한 의료 관행과 일치하는 방식으로 제제화되어 투여량에 따라 분배되고 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 인자는 치료할 특정 장애, 치료받을 특정 대상체, 개개의 대상체의 임상적 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄, 및 의료 전문인에게 공지된 기타 인자를 포함한다. 투여될 VEGF-특이적 길항제의 "치료 유효량"은 이러한 고려사항에 따라 달라질 것이고, 암을 예방하거나 호전시키거나 치료하거나 안정화시키거나, 진행까지의 시간 (무진행 생존의 기간)을 늘리거나, 또는 종양, 잠복기 종양 또는 미세전이물을 치료 또는 이것의 발생 또는 재발을 예방하는데 필요한 최소량이다. VEGF-특이적 길항제는 암을 예방 또는 치료하거나 암 발생 위험을 감소시키기 위해 현재 사용되는 1종 이상의 작용제와 함께 반드시 함께 제제화될 필요는 없지만 임의로는 이것과 함께 제제화된다. 이러한 기타 작용제의 유효량은 제제 내에 존재하는 VEGF-특이적 길항제의 양, 장애 또는 치료의 유형, 및 상기 논의된 기타 인자에 따라 달라진다. 일반적으로, 이것들은 이전에 사용되던 것과 동일한 투여량 및 투여 경로로 사용되거나, 이전에 사용되던 투여량의 약 1% 내지 99%로 사용된다.
- [0157] 질환의 유형 및 중증도에 따라, 예를 들어 1회 이상의 별개 투여에 의해서든 연속 주입에 의해서든 지간에 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 100 mg/kg (예를 들어, 0.1 내지 20 mg/kg)의 VEGF-특이적 길항제가 대상체에게 투여할 초기 후보 투여량이다. 상기 언급된 인자에 따라, 전형적인 1일 투여량은 약 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 100 mg/kg 이상의 범위일 수 있다. 특히 바람직한 투여량은 예를 들어 5 mg/kg , 7.5 mg/kg , 10 mg/kg 및 15 mg/kg 을 포함한다. 수일

이상에 걸친 반복 투여의 경우, 처치는 상태에 따라서 상기 기재되거나 당업계에 공지된 방법으로 측정시에 암이 치료될 때까지 지속된다. 그러나, 다른 투약법이 유용할 수 있다. 한 예에서, VEGF-특이적 길항제가 항체인 경우, 본 발명의 항체는 약 5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 예를 들어 (이에 제한되지 않음) 5 mg/kg, 7.5 mg/kg, 10 mg/kg 또는 15 mg/kg의 용량 범위로 매주, 2주마다 또는 3주마다 1회씩 투여된다. 본 발명의 요법의 진행은 통상적인 기술 및 감정에 의해 쉽게 모니터링된다. 다른 실시양태에서, 이러한 투약법은 국소 재발성 또는 전이성 유방암의 치료를 위한 1차 요법으로서 화학요법 처방제와 조합되어 사용된다. 적합한 투여량에 대한 추가의 정보는 하기 실시예에서 제공된다.

[0158] 요법의 기간은 의학적으로 나타나는 한 계속되거나 원하는 치료 효과 (예를 들어, 본원에 기재된 효과)가 달성될 때까지 지속될 것이다. 특정 실시양태에서, VEGF-특이적 길항제 요법은 1개월, 2개월, 4개월, 6개월, 8개월, 10개월, 1년, 2년, 3년, 4년, 5년, 또는 최대로는 대상체의 수명까지의 기간 동안 지속된다.

[0159] 본 발명의 VEGF-특이적 길항제는 공지의 방법에 따라, 예를 들어 볼루스로서 또는 일정 기간에 걸친 연속 주입에 의한 정맥내 투여, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 피하, 관절내, 활액낭내, 경막내, 경구, 국소 또는 흡입 경로에 의해 대상체, 예를 들어 인간 대상체에 투여된다. 광범위한 부작용 또는 독성이 VEGF 길항제와 관련이 있는 경우에는 국소 투여가 특히 요망된다. 치료 용도에 생체의 전략을 사용할 수도 있다. 생체의 전략은 대상체로부터 수득된 세포를 VEGF 길항제를 코딩하는 폴리뉴클레오티드로 형질감염 또는 형질도입시키는 것을 포함한다. 이어서, 상기 형질감염 또는 형질도입된 세포를 대상체에 다시 주입한다. 세포는 조혈 세포 (예를 들어, 골수 세포, 대식세포, 단핵구, 수지상 세포, T 세포 또는 B 세포), 섬유모세포, 상피 세포, 내피 세포, 각질세포 또는 근육 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 광범위한 범위의 유형일 수 있다.

[0160] 예를 들어, VEGF-특이적 길항제가 항체인 경우, 이러한 항체는 임의의 적합한 수단, 예를 들어 비경구, 피하, 복강내, 폐내 및 비내, 및 국소 면역억제제 처치를 위해 원한다면 병변내 투여를 통해 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하 투여를 포함한다. 추가로, 항체는 특히 항체의 용량을 감소시킨 펄스 주입에 의해 적합하게 투여된다. 바람직하게는, 투여는 부분적으로는 투여가 단기인지 장기인지에 따라 주사, 가장 바람직하게는 정맥내 또는 피하 주사에 의해 제공된다.

[0161] 또 다른 예에서, VEGF-특이적 길항제 화합물은 예를 들어 장애 또는 종양의 위치가 허용된다면 직접 주사를 통해 국소 투여되고, 상기 주사는 주기적으로 반복될 수 있다. VEGF-특이적 길항제는 또한 예를 들어 잠복기 종양 또는 미세전이물의 국소 재발 또는 전이를 예방하거나 감소시키기 위해서 종양의 수술적 절제 이후에 대상체에 전신 전달될 수도 있고, 또는 종양 세포에, 예를 들어 종양 또는 종양 층에 직접 전달될 수도 있다.

[0162] 대안적으로, VEGF-특이적 길항제를 코딩하는 핵산 서열을 함유하는 억제성 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오티드를 대상체의 적절한 세포에 전달할 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 핵산은 종양 자체에 대해 지시될 수 있다.

[0163] 핵산은 이용된 벡터에 적절한 임의의 수단에 의해 세포 내로 도입될 수 있다. 많은 이러한 방법이 당업계에 공지되어 있다 ([Sambrook et al., 상기 문헌] 및 [Watson et al., Recombinant DNA, Chapter 12, 2d edition, Scientific American Books, 1992]). 유전자 전달 방법의 예는 리포솜 매개 형질감염, 전기천공, 인산칼슘/DEAE 텍스트란 방법, 유전자 총 및 미세주입을 포함한다.

[0164] **V. 제약 제제**

[0165] 본 발명에 따라 사용되는 작용제 (예를 들어, 항체)의 치료 제제는 원하는 정도의 순도를 갖는 항체를 임의의 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제 ([Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)])와 혼합하여 동결건조된 제제 또는 수용액의 형태로 저장되도록 제조된다. 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 기타 유기 산; 항산화제, 예를 들어 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제 (예를 들어, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 잔기 미만) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드 및 기타 탄수화물, 예를 들어 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이팅제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대 이온, 예컨대 나트륨; 금속 복합체 (예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈™, 플루로닉스(PLURONICS)™ 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다. 동결건조된 항-VEGF 항체 제제는

본원에 참고로 명백하게 포함되는 WO 97/04801에 기재되어 있다.

[0166] 임의로, 그러나 바람직하게는, 제제는 제약상 허용되는 염, 전형적으로는 예를 들어 염화나트륨을 바람직하게는 대략 생리적 농도로 함유한다. 임의로, 본 발명의 제제는 제약상 허용되는 보존제를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 보존제 농도는 0.1 내지 2.0%, 전형적으로는 v/v의 범위이다. 적합한 보존제는 제약 업계에 공지된 것을 포함한다. 벤질 알콜, 페놀, m-크레졸, 메틸파라벤 및 프로필파라벤이 보존제의 예이다. 임의로, 본 발명의 제제는 0.005 내지 0.02% 농도의 제약상 허용되는 계면활성제를 포함할 수 있다.

[0167] 전형적으로, 베바시주맙은 4 mL 또는 16 mL의 베바시주맙을 전달하기 위해 100 mg 및 400 mg 보존제-무함유 1회 용 바이알에서 치료 용도를 위해 제공된다 (25 mg/mL). 100 mg 생성물은 240 mg α, α-트레할로스 이수화물, 23.2 mg 인산나트륨 (일염기성, 일수화물), 4.8 mg 인산나트륨 (이염기성, 무수), 1.6 mg 폴리소르베이트 20, 및 주사용수, USP 중에 제제화된다. 400 mg 생성물은 960 mg α, α-트레할로스 이수화물, 92.8 mg 인산나트륨 (일염기성, 일수화물), 19.2 mg 인산나트륨 (이염기성, 무수), 6.4 mg 폴리소르베이트 20, 및 주사용수, USP 중에 제제화된다. 또한, 베바시주맙에 대한 라벨을 참조한다.

[0168] 본원에서의 제제는 또한 치료할 특정 적응증에 필요한 경우에는 1종 초과 의 활성 화합물, 바람직하게는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 화합물을 함유할 수 있다. 예를 들어, 하나의 제제 중에 EGFR, VEGF (예를 들어, VEGF상의 상이한 에피토프에 결합하는 항체), VEGFR 또는 ErbB2 (예를 들어, 헤르셉틴®)에 결합하는 항체를 추가로 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 상기 조성물은 세포독성제, 시토키인, 성장 억제제 및/또는 VEGFR 길항제를 포함할 수 있다. 이러한 분자는 적합하게는 의도된 목적에 효과적인 양으로 조합되어 존재한다.

[0169] 활성 성분은 또한 예를 들어 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 미소구, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐)에, 또는 마크로에멀전에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0170] 지속 방출형 제제를 제조할 수 있다. 지속 방출형 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 이러한 매트릭스는 성형 용품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속 방출형 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 히드로겔 (예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산 및 γ 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예컨대 루프론 테포(LUPRON DEPOT)TM (락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 이루어진 주사가 가능한 미소구), 및 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체는 100일이 넘는 기간 동안 분자를 방출할 수 있게 하지만, 특정 히드로겔은 보다 짧은 기간 동안 단백질을 방출한다. 포획된 항체가 오랜 시간 동안 신체 내에 유지되는 경우, 이것들은 37°C에서 습기에 노출될 때 변성 또는 응집되어 생물학적 활성의 손실 및 면역원성의 가능한 변화가 야기될 수 있다. 관련 메카니즘에 따라, 안정화를 위한 합리적 전략을 고안할 수 있다. 예를 들어, 응집 메카니즘이 티오-디설피드 상호교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 발견되면, 안정화는 설피드릴 잔기의 변형, 산성 용액으로부터의 동결건조, 수분 함량의 제어, 적절한 첨가제의 사용, 및 특정 중합체 매트릭스 조성물의 개발에 의해 달성될 수 있다.

[0171] 생체내 투여에 사용될 제제는 멸균될 수 있다. 이는 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다.

[0172] **VI. 치료 효능**

[0173] 본원에서 제공되는 임의의 방법, 용도 및 조성물의 주요 이점은 유의한 독성 또는 부작용 없이 인간 대상체에서 현저한 항암 효과를 생성하는 능력이며, 이로써 대상체는 치료로 인해 전반적으로 이롭다. 임의의 방법, 용도 또는 조성물의 한 실시양태에서, 안전성 프로파일은 이전의 베바시주맙 제III상 연구와 유사하다. 본 발명의 치료 효능은 암 치료의 평가에 통상적으로 사용되는 다양한 종점, 예를 들어 (이에 제한되지 않음) 종양 퇴행, 종양 중량 또는 크기 수축, 진행까지의 시간, 생존 기간, 무진행 생존, 전반적인 반응률, 반응 기간 및 삶의 질로 결정될 수 있다. 본 발명의 항혈관신생제가 종양 혈관계를 표적으로 하고 반드시 신생물성 세포 자체를 표적으로 하는 것은 아니기 때문에, 이것들은 독특한 클래스의 항암 약물을 나타내고, 따라서 약물에 대한 임상 반응의 독특한 측정법 및 정의를 필요로 할 수 있다. 예를 들어, 2차원 분석에서 50% 초과 종양 수축이 반응을 선언하는 표준 컷-오프(cut-off)이다. 그러나, 본 발명의 항-VEGF 항체는 원발성 종양의 수축 없이도 전

이성 확산을 억제할 수도 있고, 또는 단순히 종양증식억제 효과를 발휘할 수도 있다. 따라서, 예를 들어 혈관 신생의 혈장 또는 소변 마커의 측정 및 방사선 영상화를 통한 반응의 측정을 포함하는, 항혈관신생 요법의 효능을 결정하는 새로운 접근법을 이용해야 한다.

[0174] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 암에 감수성이 있거나 암으로 진단된 인간 대상체의 무진행 생존을 증가시키는 방법을 제공한다. 질환 진행까지의 시간은 약물 투여 시점으로부터 질환 진행 또는 사망 시점까지의 시간으로 정의된다. 바람직한 실시양태에서, 항-VEGF 항체 및 1종 이상의 화학요법제를 사용한 본 발명의 조합 처치는 화학요법제 단독으로 처치시와 비교할 때 무진행 생존을 적어도 약 1개월, 1.2개월, 2개월, 2.4개월, 2.9개월, 3.5개월, 바람직하게는 약 1개월 내지 약 5개월 유의하게 증가시킨다. 한 실시양태에서, 베바시주맙 및 탁산 요법 (예를 들어, 도세탁셀 또는 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®])/안트라사이클린 요법 (예를 들어, 독소루비신, 에피루비신 또는 이것들의 조합물)을 처치한 대상체에서 개월수로 표시한 PFS 중앙값 (95% CI)은 9.2개월 (8.6, 10.1)인데 비해 베바시주맙 없이 탁산/안트라사이클린 요법을 사용한 경우는 8.0개월 (6.7, 8.4)이다 (HR (95% CI) 0.644 (0.522, 0.795), p-값 (로그-랭크) 0.0001 미만). 한 실시양태에서, 베바시주맙 및 탁산/안트라사이클린을 처치한 대상체에서의 PFS는 10.7개월인데 비해, 위약 및 탁산/안트라사이클린을 처치한 대상체에서는 8.3개월이다. 한 실시양태에서, 베바시주맙 및 카페시타빈을 처치한 대상체에서 개월수로 표시한 PFS 중앙값 (95% CI)은 8.6개월 (8.1, 9.5)인데 비해 베바시주맙 없이 카페시타빈 요법을 수행한 경우에는 5.7개월 (4.3, 6.2)이다 (HR (95% CI) 0.688 (0.564, 0.840), p-값 (로그-랭크) 0.0002). 한 실시양태에서, 베바시주맙 및 카페시타빈을 처치한 대상체에서의 PFS는 9.7개월인데 비해 위약 및 카페시타빈을 처치한 대상체에서는 6.2개월이다.

[0175] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 치료는 다양한 치료제를 처치받는, 암에 감수성이 있거나 암으로 진단된 인간 대상체의 군에서 반응률을 유의하게 증가시킨다. 반응률은 처치받은 대상체 중 처치에 반응한 대상체의 백분율 (%)로서 정의된다. 한 측면에서, 항-VEGF 항체 및 1종 이상의 화학요법제를 사용하는 본 발명의 조합 처치는 화학요법제를 단독으로 처치한 군에 비해 처치받은 대상체 군에서의 반응률을 유의하게 증가시킨다.

[0176] 한 측면에서, 본 발명은 암에 감수성이 있거나 암으로 진단된 인간 대상체 또는 인간 대상체의 군에서 반응 기간을 증가시키는 방법을 제공한다. 반응 기간은 초기 반응 시점부터 질환 진행 시점까지의 시간으로 정의된다.

[0177] 한 실시양태에서, 본 발명은 암에 감수성이 있거나 암으로 진단된 인간 대상체의 생존 기간을 증가시키는데 사용될 수 있다.

[0178] **VII. 항체 생성**

[0179] (i) 폴리클로날 항체

[0180] 폴리클로날 항체는 바람직하게는 관련 항원 및 아주반트의 다중 피하 (sc) 또는 복강내 (ip) 주사에 의해 동물에서 생성된다. 이관능성 작용제 또는 유도체화제, 예를 들어 말레이미도벤조일 술포숙신이미드 에스테르 (시스테인 잔기를 통한 접합), N-히드록시숙신이미드 (리신 잔기를 통한), 글루타르알데히드, 숙신산 무수물, SOCl₂ 또는 R¹N=C=NR (여기서, R 및 R¹은 상이한 알킬기임)을 사용하여, 면역화시킬 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들어 키홀 림펫 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린 또는 대두 트립신 억제제에 관련 항원을 접합시키는 것이 유용할 수 있다.

[0181] 예를 들어 단백질 또는 접합체 100 μg 또는 5 μg (각각, 토끼 또는 마우스의 경우)을 3배 부피의 프로인트 (Freund's) 완전 아주반트와 합하고, 상기 용액을 여러 부위에 피내 주사함으로써, 동물을 항원, 면역원성 접합체 또는 유도체에 대해 면역화한다. 1개월 후, 프로인트 완전 아주반트 내의 펩티드 또는 접합체를 원래 양의 1/5 내지 1/10로 여러 부위에 피하 주사하여 동물을 부스팅한다. 7일 내지 14일 후에, 상기 동물에서 채혈하여 혈청을 항체 역가에 대해 검정한다. 역가가 안정화될 때까지 동물을 부스팅한다. 바람직하게는, 동물을 동일 항원의 접합체로 부스팅하지만, 이것은 상이한 단백질에 접합되고/되거나 상이한 가교 시약을 통해 접합된 것이다. 접합체는 또한 재조합 세포 배양물에서 단백질 용합체로서 제조될 수도 있다. 또한, 백반과 같은 응집제를 적합하게 사용하여 면역 반응을 증진시킨다.

[0182] (ii) 모노클로날 항체

[0183] 본원에서의 모노클로날 항체를 제조하는 다양한 방법이 당업계에서 이용가능하다. 예를 들어, 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)]에 처음 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수도

있고, 또는 재조합 DNA 방법 (미국 특허 번호 4,816,567)에 의해 제조될 수도 있다.

- [0184] 하이브리도마 방법에서는, 마우스 또는 기타 적절한 숙주 동물, 예컨대 햄스터 또는 짧은꼬리 원숭이를 본원에서 상기 기재된 바와 같이 면역화시켜서 면역화에 사용된 단백질에 특이적으로 결합할 항체를 생성하거나 생성할 수 있는 림프구를 유발시킨다. 대안적으로, 림프구는 시험관내 면역화될 수 있다. 이후, 림프구를 적합한 융합제, 예를 들어 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 골수종 세포와 융합시켜서 하이브리도마 세포를 형성한다 ([Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)]).
- [0185] 이와 같이 제조된 하이브리도마 세포를 바람직하게는 융합되지 않은 모 골수종 세포의 성장 또는 생존을 억제하는 1종 이상의 물질을 함유하는 적합한 배양 배지에 접종하여 성장시킨다. 예를 들어, 모 골수종 세포에 효소 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HGPRT 또는 HPRT)가 결여된 경우, 하이브리도마의 배양 배지는 전형적으로 하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘을 포함 (HAT 배지)할 것이고, 이들 물질은 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지한다.
- [0186] 바람직한 골수종 세포는 효율적으로 융합하고, 선택된 항체-생성 세포에 의한 항체의 안정적인 고-수준 생성을 지지하고, 배지, 예컨대 HAT 배지에 감수성이 있는 세포이다. 특히 바람직한 골수종 세포주는 뮤린 골수종 세포주, 예컨대 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재의 살크 인스티튜트 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute Cell Distribution Center)로부터 입수가 가능한 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양 및 미국 메릴랜드주 록빌 소재의 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection)으로부터 입수가 가능한 SP-2 또는 X63-Ag8-653 세포로부터 유래된 것이다. 인간 골수종 및 마우스-인간 헤테로골수종 세포주 역시 인간 모노클로날 항체 생성과 관련하여 기재된 바 있다 ([Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984)], [Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)]).
- [0187] 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지를 항원에 대한 모노클로날 항체의 생성에 대해 검증한다. 바람직하게는, 하이브리도마 세포에 의해 생성되는 모노클로날 항체의 결합 특이성을 면역침전법 또는 시험관내 결합 검증, 예컨대 방사선면역검정 (RIA) 또는 효소-결합 면역흡착 검증 (ELISA)으로 결정한다.
- [0188] 원하는 특이성, 친화도 및/또는 활성의 항체를 생성하는 하이브리도마 세포를 확인한 후, 클론을 제한 희석 절차에 의해 서브클로닝하고 표준 방법에 의해 성장시킬 수 있다 ([Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)]). 이러한 목적에 적합한 배양 배지는 예를 들어 D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 또한, 하이브리도마 세포를 동물에서 복수 종양으로서 생체내 성장시킬 수도 있다.
- [0189] 서브클론에 의해 분비된 모노클로날 항체는 통상적인 이뮤노글로불린 정제 절차, 예를 들어 단백질 A-세파로스 (Sepharose), 히드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 또는 친화도 크로마토그래피에 의해 배양 배지, 복수액 또는 혈청으로부터 적합하게 분리된다.
- [0190] 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA는 통상적인 절차 (예를 들어, 모노클로날 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용함)를 이용하여 쉽게 단리되고 서열분석된다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 바람직한 공급원으로 작용한다. 일단 단리된 DNA는 발현 벡터 내로 넣을 수 있고, 이후에 이것을 이용하여 다른 방식으로는 이뮤노글로불린 단백질을 생성하지 않는 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이(*E. coli*) 세포, 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 골수종 세포를 형질감염시켜서 재조합 숙주 세포에서의 모노클로날 항체의 합성을 달성한다. 항체의 재조합 생성은 아래에서 더욱 상세하게 기재될 것이다.
- [0191] 추가의 실시양태에서, 항체 또는 항체 단편을 문헌 [McCafferty et al., Nature, 348:552-554 (1990)]에 기재된 기술을 이용하여 생성된 항체 파지 라이브러리로부터 단리할 수 있다. 문헌 [Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)] 및 [Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)]은 파지 라이브러리를 사용한 뮤린 및 인간 항체 각각의 단리를 기재한다. 이후의 간행물은 쇠 셔플링에 의한 고친화도 (nM 범위) 인간 항체의 생성 ([Marks et al., Bio/Technology, 10:779-783 (1992)]), 및 또한 매우 큰 파지 라이브러리를 구축하기 위한 전략으로서의 조합 감염 및 생체내 재조합 ([Waterhouse et al., Nuc. Acids. Res., 21:2265-2266 (1993)])을 기재한다. 따라서, 이러한 기술은 모노클로날 항체 단리를 위한 전통적인 모노클로날 항체 하이브리도마 기술의 실행가능한 대안이다.
- [0192] DNA는 또한 예를 들어 상동성 뮤린 서열 대신에 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열을 치환시키거나 (미국 특허 번호 4,816,567, [Morrison, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81:6851 (1984)]), 또는 이뮤

노글로블린 코딩 서열에 비-이뮤노글로블린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부를 공유 연결함으로써 변형시킬 수 있다.

- [0193] 전형적으로, 이러한 비-이뮤노글로블린 폴리펩티드는 항체의 불변 도메인 대신 사용되거나 항체의 한 항원 결합 부위의 가변 도메인 대신 사용되어, 항원에 대한 특이성을 갖는 하나의 항원 결합 부위 및 상이한 항원에 대한 특이성을 갖는 또 다른 항원 결합 부위를 포함하는 키메라 2가 항체를 생성시킨다.
- [0194] (iii) 인간화 및 인간 항체
- [0195] 인간화 항체에는 비-인간 공급원으로부터의 1개 이상의 아미노산 잔기가 도입되어 있다. 이들 비-인간 아미노산 잔기는 종종 "도입" 잔기라 지칭되고, 전형적으로는 "도입" 가변 도메인의 것이다. 인간화는 설치류 CDR 또는 CDR 서열을 인간 항체의 상응하는 서열 대신 사용함으로써 본질적으로 윈터(Winter) 및 동료들의 방법 ([Jones et al., Nature, 321:522-525 (1986)], [Riechmann et al., Nature, 332:323-327 (1988)], [Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988)])에 따라 수행될 수 있다. 따라서, 이러한 "인간화" 항체는 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 적은 부분이 비-인간 종으로부터의 상응하는 서열로 치환된 키메라 항체 (미국 특허 번호 4,816,567)이다. 실제로, 인간화 항체는 전형적으로 일부 CDR 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기가 설치류 항체의 유사 부위로부터의 잔기로 치환된 인간 항체이다.
- [0196] 인간화 항체의 제조에 사용되는 인간 가변 도메인 경쇄 및 중쇄 둘다의 선택은 항원성 감소에 매우 중요하다. 소위 "최적 맞춤" 방법에 따라, 설치류 항체의 가변 도메인 서열을 공지의 인간 가변 도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 스크리닝한다. 이어서, 설치류의 서열에 가장 근접한 인간 서열이 인간화 항체에 대한 인간 프레임워크 (FR)로서 수용된다 ([Sims et al., J. Immunol., 151:2296 (1993)], [Chothia et al., J. Mol. Biol., 196:901 (1987)]). 또 다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위군의 모든 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 특정 프레임워크를 이용한다. 여러 상이한 인간화 항체에 대해 동일한 프레임워크를 사용할 수 있다 ([Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992)], [Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993)]).
- [0197] 추가로, 항체가 항원에 대해 높은 친화도를 보유하고 기타 유리한 생물학적 특성을 보유하도록 인간화하는 것이 중요하다. 이를 달성하기 위해서, 바람직한 방법에 따라, 인간화 항체는 모 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 이용하는 모 서열 및 다양한 개념적 인간화 생성물의 분석 과정에 의해 제조된다. 3차원 이뮤노글로블린 모델은 통상적으로 이용가능하고 당업자에게 공지되어 있다. 선택된 후보 이뮤노글로블린 서열의 가능한 3차원 형태 구조를 예시하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램이 이용가능하다. 이러한 디스플레이를 조사하면 후보 이뮤노글로블린 서열의 기능수행에 있어서 잔기의 가능한 역할의 분석, 즉 후보 이뮤노글로블린이 그의 항원에 결합하는 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석이 가능하다. 이러한 방식으로, FR 잔기는 수용 서열 및 도입 서열로부터 선택 및 조합되어 원하는 항체 특징, 예를 들어 표적 항원(들)에 대한 친화도 증가를 달성할 수 있다. 일반적으로, 항원 결합에 대한 영향에는 CDR 잔기가 직접적이고 가장 실질적으로 관여한다.
- [0198] 인간화 항-VEGF 항체 및 그의 친화도 성숙 변이체는 예를 들어 2005년 2월 26일자로 허여된 미국 특허 번호 6,884,879에 기재되어 있다.
- [0199] 면역화시에 내인성 이뮤노글로블린의 생성 없이 인간 항체의 전체 레퍼토리를 생성할 수 있는 트랜스제닉 동물 (예를 들어, 마우스)을 생성하는 것이 현재 가능하다. 예를 들어, 키메라 및 배선(germ-line) 돌연변이 마우스에서 항체 중쇄 연결 영역 (J_H) 유전자를 동형접합 결실시키면 내인성 항체의 생성이 완전히 억제된다고 기재된 바 있다. 인간 배선 이뮤노글로블린 유전자 어레이를 이러한 배선 돌연변이 마우스에게 전달하면, 항원 접촉시에 인간 항체가 생성될 것이다. 예를 들어, 문헌 [Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993)], [Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993)], [Bruggermann et al., Year in Immunol., 7:33 (1993)] 및 [Duchosal et al., Nature 355:258 (1992)]을 참조한다.
- [0200] 대안적으로, 파지 디스플레이 기술 ([McCafferty et al., Nature 348:552-553 (1990)])이 면역화되지 않은 공여자로부터의 이뮤노글로블린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리로 부터 인간 항체 및 항체 단편을 시험관내 생성하는데 이용될 수 있다. 이러한 기술에 따라, 항체 V 도메인 유전자를 필라멘트형 박테리오파지, 예컨대 M13 또는 fd의 주요 또는 소수의 외피 단백질 유전자로 프레임에 맞게 클로닝하고, 파지 입자의 표면에 기능성 항체 단편으로서 디스플레이한다. 필라멘트형 입자는 파지 게놈의 단일 가닥 DNA 카피를 함유하기 때문에, 항체의 기능적 특성에 기초한 선별에 의해 이러한 특성을 나타내는 항체를 코딩하는 유전자도 선별된다. 따라서, 파지는 B 세포의 특성의 일부를 모방한다. 파지 디스플레이는 다양한 포맷으로 수행될 수 있고, 이에 대한 검

토를 위해서는 예를 들어 문헌 [Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)]을 참조한다. V-유전자 절편의 여러 공급원이 과거 디스플레이에 사용될 수 있다. 문헌 [Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)]에서는 면역화된 마우스의 비장으로부터 유래된 V 유전자의 소형 무작위 조합형 라이브러리로부터 항-옥사졸론 항체의 다양한 어레이가 단리되었다. 면역화되지 않은 인간 공여자로부터의 V 유전자의 레퍼토리가 구축될 수 있고, 다양한 어레이의 항원 (자가-항원을 포함함)에 대한 항체는 본질적으로 문헌 ([Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)] 또는 [Griffith et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)])에 기재된 기술에 따라 단리될 수 있다. 또한, 미국 특허 번호 5,565,332 및 5,573,905를 참조한다.

[0201] 상기 논의된 바와 같이, 인간 항체는 또한 시험관내 활성화된 B 세포에 의해 생성될 수도 있다 (미국 특허 5,567,610 및 5,229,275 참조).

[0202] 인간 모노클로날 항-VEGF 항체는 1998년 3월 24일자로 허여된 미국 특허 번호 5,730,977에 기재되어 있다.

[0203] (iv) 항체 단편

[0204] 항체 단편 생성을 위한 다양한 기술이 개발되었다. 전통적으로, 이들 단편은 무손상 항체의 단백질분해 소화를 통해 유도되었다 (예를 들어, 문헌 [Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992)] 및 [Brennan et al., Science, 229:81 (1985)] 참조). 그러나, 이러한 단편은 이제 재조합 숙주 세포에 의해 직접 생성될 수 있다. 예를 들어, 항체 단편은 상기 논의된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 대안적으로, Fab'-SH 단편은 이. 콜라이로부터 직접 회수되고 화학적으로 커플링되어 F(ab')₂ 단편을 형성할 수 있다 ([Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992)]). 또 다른 접근법에 따라, F(ab')₂ 단편은 재조합 숙주 세포 배양물로부터 직접 단리될 수 있다. 항체 단편의 생성을 위한 다른 기술은 숙련된 전문인에게 명백할 것이다. 다른 실시양태에서, 선택된 항체는 단일쇄 Fv 단편 (scFv)이다. WO 93/16185를 참조한다.

[0205] (v) 기타 아미노산 서열 변형

[0206] 본원에 기재된 항체의 아미노산 서열 변형(들)이 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 기타 생물학적 특성을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체들은 적절한 뉴클레오티드 변화를 항체 핵산 내에 도입함으로써, 또는 펩티드 합성에 의해 제조된다. 이러한 변형은 예를 들어 항체의 아미노산 서열 내 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 원하는 특징을 갖는 최종 구축물이 생성되도록 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합이 이루어진다. 아미노산 변화는 또한 항체의 번역후 프로세싱을 변경시킬 수 있으며, 예컨대 글리코실화 부위의 수 또는 위치를 변화시킬 수 있다.

[0207] 돌연변이유발에 바람직한 위치인 항체의 특정 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 문헌 [Cunningham and Wells Science, 244:1081-1085 (1989)]에 기재된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발"이라 불린다. 여기서, 잔기 또는 표적 잔기들의 군이 확인되고 (예를 들어, 대전된 잔기, 예컨대 arg, asp, his, lys 및 glu), 중성 또는 음으로 대전된 아미노산 (가장 바람직하게는 알라닌 또는 폴리알라닌)으로 치환되어 아미노산과 항원과의 상호작용에 영향을 미친다. 이후, 치환에 대한 기능적 감수성을 나타내는 아미노산 위치를 치환 부위에서 또는 치환 부위에 대하여 추가적인 또는 다른 변이체를 도입함으로써 정련시킨다. 따라서, 아미노산 서열 변이를 도입하기 위한 부위는 미리 결정되지만, 돌연변이 자체의 성질은 미리 결정할 필요가 없다. 예를 들어, 주어진 부위에서의 돌연변이의 성능을 분석하기 위해, ala 스캐닝 또는 무작위 돌연변이유발을 표적 코돈 또는 영역에서 수행하고, 발현된 항체 변이체를 원하는 활성에 대하여 스크리닝한다.

[0208] 아미노산 서열 삽입은 길이가 1개 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드까지의 범위인 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합 및 또한 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 세포독성 폴리펩티드에 융합된 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 효소 (예를 들어, ADEPT의 경우) 또는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드가 상기 항체의 N- 또는 C-말단에 융합된 것을 포함한다.

[0209] 또 다른 유형의 변이체는 아미노산 치환 변이체이다. 이러한 변이체에서는 항체 분자 내의 1개 이상의 아미노산 잔기가 상이한 잔기로 대체된다. 치환적 돌연변이유발에서 가장 관심이 높은 부위는 추가변 영역을 포함하지만, FR 변형 또한 고려된다.

[0210] 항체의 생물학적 특성의 실질적인 변형은, (a) 치환 영역에서 폴리펩티드 주쇄의 구조가 예를 들어 시트 또는

나선 형태로서 유지되거나, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성이 유지되거나, 또는 (c) 측쇄의 크기가 유지되는데 미치는 효과가 유의하게 상이한 치환을 선택함으로써 수행된다. 아미노산은 그의 측쇄 특성의 유사성에 따라 하기 군으로 나뉠 수 있다 ([A. L. Lehninger, in Biochemistry, second ed., pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)]):

- (1) 비-극성: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M)
- (2) 대전되지 않은 극성: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)
- (3) 산성: Asp (D), Glu (E)
- (4) 염기성: Lys (K), Arg (R), His(H)

대안적으로, 천연 발생 잔기는 공통적인 측쇄 특성에 따라 하기 군으로 나뉠 수 있다:

- (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile,
- (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln,
- (3) 산성: Asp, Glu,
- (4) 염기성: His, Lys, Arg,
- (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro,
- (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

비-보존적 치환은 이들 클래스 중 하나의 구성원을 또 다른 클래스로 교환하여 이루어진다.

또한, 항체의 적당한 형태 유지에 관여하지 않는 임의의 시스테인 잔기가 일반적으로 세린으로 치환되어 분자의 산화 안정성을 개선시키고 이상 가교를 방지할 수 있다. 반대로, 시스테인 결합(들)이 항체에 부가되어 이것의 안정성을 개선시킬 수 있다 (특히 항체가 Fv 단편과 같은 항체 단편인 경우).

특히 바람직한 유형의 치환 변이체는 모 항체 (예를 들어, 인간화 또는 인간 항체)의 1개 이상의 추가변 영역 잔기를 치환하는 것을 수반한다. 일반적으로, 추가의 개발을 위해 선택된 생성되는 변이체(들)은 이것들이 생성된 모 항체에 비해 개선된 생물학적 특성을 가질 것이다. 이러한 치환 변이체를 생성하는 편리한 방법은 파지 디스플레이를 사용한 친화도 성숙이다. 간략하게 설명하면, 여러 추가변 영역 부위 (예를 들어, 6개 또는 7개 부위)를 각 부위에서 모든 가능한 아미노 치환이 생성되도록 돌연변이시킨다. 이로써 생성된 항체 변이체를 필라멘트형 파지 입자로부터 각 입자 내에 패키징된 M13의 유전자 III 생성물에 대한 융합체로서 1가 방식으로 디스플레이시킨다. 이어서, 파지-디스플레이된 변이체를 본원에 개시된 바와 같이 이것들의 생물학적 활성 (예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝한다. 변형시킬 후보 추가변 영역 부위를 확인하기 위해서, 알려진 스캐닝 돌연변이유발을 수행하여 항원 결합에 유의하게 기여하는 추가변 영역 잔기를 확인할 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 항체와 인간 VEGF 사이의 접촉 지점을 확인하기 위해서는 항원-항체 복합체의 결정 구조를 분석하는 것이 유익할 수 있다. 이러한 접촉 잔기 및 이웃 잔기가 본원에서 상술된 기술에 따라 치환시킬 후보이다. 일단 이러한 변이체가 생성되면, 변이체의 패널을 본원에 기재된 바와 같이 스크리닝하고, 하나 이상의 관련 검정에서 우수한 특성을 갖는 항체를 추가 개발을 위해 선택할 수 있다.

항체의 또 다른 유형의 아미노산 변이체는 항체의 원래 글리코실화 패턴을 변경시킨다. 이러한 변경은 항체에서 발견되는 1개 이상의 탄수화물 잔기의 결실 및/또는 항체 내에 존재하지 않는 1개 이상의 글리코실화 부위의 부가를 의미한다.

항체의 글리코실화는 전형적으로 N-연결되거나 O-연결된다. N-연결은 아스파라진 잔기의 측쇄에 대한 탄수화물 잔기의 부착을 지칭한다. 트리펩티드 서열, 아스파라진-X-세린 및 아스파라진-X-트레오닌 (여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)이 아스파라진 측쇄로 탄수화물 잔기를 효소적 부착시키기 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩티드 내 이들 트리펩티드 서열 중 하나의 존재는 잠재적인 글리코실화 부위를 생성한다. O-연결된 글리코실화는 히드록시아미노산, 가장 일반적으로는 세린 또는 트레오닌으로의 당, N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 크실로스 중 하나의 부착을 지칭하지만, 5-히드록시프롤린 또는 5-히드록시리신이 사용될 수도 있다.

항체에 대한 글리코실화 부위의 부가는 1개 이상의 상기한 트리펩티드 서열이 함유되도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편리하게 달성된다 (N-연결된 글리코실화 부위의 경우). 변경은 또한 본래의 항체의 서열에 1개 이상

의 세린 또는 트레오닌 잔기를 부가하거나 이러한 잔기로 치환시켜 달성될 수도 있다 (O-연결된 글리코실화 부위의 경우).

[0225] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우, 이에 부착된 탄수화물이 변경될 수 있다. 예를 들어, 항체의 Fc 영역에 부착되는 푸코스가 결여된 성숙 탄수화물 구조를 갖는 항체는 미국 특허 출원 번호 US 2003/0157108 A1 (Presta, L.)에 기재되어 있다. 또한, US 2004/0093621 A1 (교와 하꼬 고교 컴퍼니, 리미티드(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd))도 참조한다. 항체의 Fc 영역에 부착된 탄수화물 내의 양분화(bisecting) N-아세틸글루코사민 (GlcNAc)을 갖는 항체가 WO 03/011878 (Jean-Mairet et al.) 및 미국 특허 번호 6,602,684 (Umana et al.)에서 언급되어 있다. 항체의 Fc 영역에 부착된 올리고사카라이드 내에 1개 이상의 갈락토스 잔기를 갖는 항체가 WO 97/30087 (Patel et al.)에 보고되어 있다. 또한, 항체의 Fc 영역에 부착된 탄수화물이 변경된 항체에 관한 WO 98/58964 (Raju, S.) 및 WO 99/22764 (Raju, S.)도 참조한다.

[0226] 본 발명의 항체를 예를 들어 항체의 항원-의존적 세포-매개 세포독성 (ADCC) 및/또는 보체 의존적 세포독성 (CDC)이 증진되도록 이펙터 기능과 관련하여 변형시키는 것이 바람직할 수 있다. 이것은 항체의 Fc 영역에 1개 이상의 아미노산 치환을 도입함으로써 달성될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 시스테인 잔기(들)이 Fc 영역 내에 도입되어, 이 영역 내에서의 쇠간 디설피드 결합 형성을 허용할 수 있다. 이로써 생성된 동종이량체 항체는 개선된 내재화 능력 및/또는 증가된 보체-매개 세포 사멸 및 항체-의존적 세포성 세포독성 (ADCC)을 가질 수 있다. 문헌 [Caron et al., J. Exp Med. 176:1191-1195 (1992)] 및 [Shopes, B. J. Immunol. 148:2918-2922 (1992)]을 참조한다. 증진된 항-종양 활성을 갖는 동종이량체 항체도 또한 문헌 [Wolff et al., Cancer Research 53:2560-2565 (1993)]에 기재된 바와 같은 이중이관능성 가교제를 사용하여 제조될 수 있다. 대안적으로, 이중 Fc 영역을 갖는 항체를 조작할 수 있고, 이에 의해 보체 용해 및 ADCC 능력이 증진될 수 있다. 문헌 [Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design 3:219-230 (1989)]을 참조한다.

[0227] WO 00/42072 (Presta, L.)는 인간 이펙터 세포의 존재하에 개선된 ADCC 기능을 갖는 항체가 기재되어 있고, 여기서 항체는 그의 Fc 영역 내에 아미노산 치환을 포함한다. 바람직하게는, 개선된 ADCC를 갖는 항체는 Fc 영역의 위치 298, 333 및/또는 334 (잔기의 Eu 번호매김)에서의 치환을 포함한다. 바람직하게는, 변경된 Fc 영역은 상기 위치 중 1개, 2개 또는 3개에서의 치환을 포함하거나 이러한 치환으로 이루어진 인간 IgG1 Fc 영역이다. 이러한 치환은 C1q 결합 및/또는 CDC를 증가시키는 치환(들)과 임의로 조합된다.

[0228] C1q 결합 및/또는 보체 의존적 세포독성 (CDC)이 변경된 항체는 WO 99/51642, 미국 특허 번호 6,194,551B1, 미국 특허 번호 6,242,195B1, 미국 특허 번호 6,528,624B1 및 미국 특허 번호 6,538,124 (Idusogie et al.)에 기재되어 있다. 항체는 그의 Fc 영역의 아미노산 위치 270, 322, 326, 327, 329, 313, 333 및/또는 334 (잔기의 Eu 번호매김) 중 1개 이상에서의 아미노산 치환을 포함한다.

[0229] 항체의 혈청 반감기를 증가시키기 위해, 예를 들어 미국 특허 5,739,277에 기재된 바와 같이 샬비지 수용체 결합 에피토프를 항체 (특히, 항체 단편) 내로 혼입할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "샬비지 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자 (예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄)의 생체내 혈청 반감기 증가를 담당하는 상기 IgG 분자의 Fc 영역의 에피토프를 지칭한다.

[0230] 신생아 Fc 수용체 (FcRn)에 대한 결합이 개선되고 반감기가 증가된 항체가 WO 00/42072 (Presta, L.) 및 US 2005/0014934A1 (Hinton et al.)에 기재되어 있다. 이들 항체는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선시키는 1개 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 예를 들어, Fc 영역은 위치 238, 250, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 314, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 428 또는 434 (잔기의 Eu 번호매김) 중 1개 이상에서 치환을 가질 수 있다. 개선된 FcRn 결합을 갖는 바람직한 Fc 영역-포함 항체 변이체는 그의 Fc 영역의 위치 307, 380 및 434 (잔기의 Eu 번호매김) 중 1개, 2개 또는 3개에서의 아미노산 치환을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 307/434 돌연변이를 갖는다.

[0231] 3개 이상 (바람직하게는 4개)의 기능적 항원 결합 부위를 갖는 조작된 항체도 고려된다 (미국 출원 번호 US 2002/0004587 A1 (Miller et al.)).

[0232] 항체의 아미노산 서열 변이체를 코딩하는 핵산 분자는 당업계에서 공지된 다양한 방법으로 제조된다. 이러한 방법은 천연 공급원으로부터의 단리 (천연 발생 아미노산 서열 변이체의 경우), 또는 이전에 제조된 변이체 또는 비-변이체 버전의 항체의 올리고뉴클레오티드-매개 (또는 부위 지정) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발 및 카세트 돌연변이유발에 의한 제조를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

- [0233] (vi) 면역접합체
- [0234] 본 발명은 또한 세포독성제, 예컨대 화학요법제, 독소 (예를 들어, 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소, 또는 그의 단편), 또는 방사성 동위원소 (즉, 방사선접합체)에 접합된 본원에 기재된 항체를 포함하는 면역접합체에 관한 것이다.
- [0235] 이러한 면역접합체의 생성에 유용한 화학요법제는 앞서 기재된 바 있다. 사용할 수 있는 효소 활성 독소 및 그의 단편은 디프테리아 A 쇄, 디프테리아 독소의 비-결합 활성 단편, 외독소 A 쇄 (슈도모나스 애루기노사 (*Pseudomonas aeruginosa*)로부터 유래됨), 리신 A 쇄, 아브린 A 쇄, 모테신 A 쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나(*Phytolaca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*Momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센을 포함한다. 방사선접합체 항체의 생성을 위해 다양한 방사선택종이 이용가능하다. 이것의 예는 ²¹²Bi, ¹³¹I, ¹³¹In, ⁹⁰Y 및 ¹⁸⁶Re를 포함한다.
- [0236] 다양한 이관능성 단백질 커플링제, 예컨대 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티올) 프로피오네이트 (SPDP), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예를 들어, 디메틸 아디프이미데이트 HCL), 활성 에스테르 (예를 들어, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예를 들어, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예를 들어, 비스-(p-아지도벤조일) 핵산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예를 들어, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예를 들어, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 및 비스-활성 불소 화합물 (예를 들어, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 사용하여 항체와 세포독성제의 접합체가 제조된다. 예를 들어, 리신 면역 독소는 문헌 [Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 방사성뉴클레오티드를 항체에 접합시키기 위한 예시적인 킬레이팅제이다. WO 94/11026을 참조한다.
- [0237] 또 다른 실시양태에서, 항체를 종양 예비표적화에 이용하기 위해 "수용체" (예를 들어, 스트렙타비딘)에 접합시킬 수 있고, 여기서의 항체-수용체 접합체를 환자에게 투여한 후에 세정제를 사용하여 순환계로부터 미결합 접합체를 제거한 후, 세포독성제 (예를 들어, 방사성 뉴클레오티드)에 접합된 "리간드" (예를 들어, 아비딘)를 투여한다.
- [0238] (vii) 이뮤노리포솜
- [0239] 본원에 개시된 항체는 또한 이뮤노리포솜으로서 제제화될 수 있다. 항체를 함유하는 리포솜은, 예컨대 문헌 [Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688 (1985)], [Hwang et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77:4030 (1980)] 및 미국 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545에 기재된 바와 같은 당업계 공지的方法으로 제조된다. 순환 시간이 증진된 리포솜은 미국 특허 번호 5,013,556에 개시되어 있다.
- [0240] 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 사용한 역상 증발 방법으로 생성될 수 있다. 리포솜을 규정된 공극 크기의 필터를 통해 압출하여 원하는 직경을 갖는 리포솜을 생성한다. 본 발명의 항체의 Fab' 단편은 디술폰화 상호교환 반응을 통해 문헌 [Martin et al., J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)]에 기재된 바와 같이 리포솜에 접합될 수 있다. 임의로, 화학요법제를 리포솜 내에 함유시킨다. 문헌 [Gabizon et al., J. National Cancer Inst. 81(19)1484 (1989)]을 참조한다.
- [0241] **VIII. 제조 용품 및 키트**
- [0242] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 상기 기재된 장애의 치료에 유용한 물질을 함유하는 제조 용품이 제공된다. 상기 제조 용품은 용기, 라벨 및 포장 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들어 병, 바이알, 시린지 등을 포함한다. 용기는 다양한 재료, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로 형성될 수 있다. 용기는 해당 상태의 치료에 효과적인 조성물을 보유하고, 멸균 입구를 가질 수 있다 (예를 들어, 상기 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 바이알일 수 있음). 조성물 중 적어도 1종의 활성 작용제는 항-VEGF 항체이다. 용기상에 있거나 용기와 결합된 라벨은 상기 조성물이 선택된 상태의 치료에 사용된다는 것을 표시한다. 제조 용품은 제약상 허용되는 완충제, 예컨대 인산염 완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이것은 상업적 및 사용자 관점에서 바람직한 기타 물질, 예를 들어 기타 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 시린지를 추가로 포함할 수 있다. 추가로, 제조 용품은 예를 들어 조성물의 사용자에게

항-VEGF 항체 조성물 및 화학요법제, 예를 들어 카페시타빈, 탁산, 안트라사이클린, 파클리탁셀, 도세탁셀, 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®]), 독소루비신, 에피루비신, 5-플루오로우라실, 시클로포스파미드 또는 이것들의 조합물을 대상체에게 투여할 것을 지시하는 것을 포함하는 사용 지침서를 갖는 포장 삽입물을 포함한다. 포장 삽입물은 실시예 1에서 확인된 일부 또는 모든 결과를 임의로 함유할 수 있다.

[0243] VEGF-특이적 길항제는 단독으로 또는 다른 항암 치료 화합물과 조합되어 키트로서 포장될 수 있다. 키트는 대상체에게 단위 용량을 투여하는데 도움을 주는 임의의 성분, 예를 들어 분말 형태를 재구성하기 위한 바이알, 주사용 시린지, 주문제작된 IV 전달 시스템, 흡입기 등을 포함할 수 있다. 추가로, 단위 투여 키트는 조성물의 제조 및 투여를 위한 지침을 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, 지침은 예를 들어 조성물의 사용자에게 항-VEGF 항체 조성물 및 화학요법제, 예를 들어 카페시타빈, 탁산, 안트라사이클린, 파클리탁셀, 도세탁셀, 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®]), 독소루비신, 에피루비신, 5-플루오로우라실, 시클로포스파미드 또는 이것들의 조합물을 대상체에게 투여할 것을 지시하는 것을 포함하는 사용 지침서를 포함한다. 지침은 실시예 1에서 확인된 일부 또는 모든 결과를 임의로 함유할 수 있다. 키트는 1명의 대상체를 위한 1회용 단위 용량으로서 제조될 수도 있고 특정 대상체를 위해 여러회 사용하도록 (일정한 용량으로 투여되도록, 또는 요법이 진행됨에 따라 개개의 화합물의 효력이 달라질 수 있게 투여되도록) 제조될 수도 있으며, 또는 키트는 다수의 대상체에게 투여하는데 적합한 다중 용량을 함유할 수 있다 ("별코 포장"). 키트 성분은 카톤, 블리스터 팩, 병, 튜브 등에서 조립될 수 있다.

[0244] **물질의 기탁**

[0245] 하기하는 하이브리도마 세포주는 부다페스트 조약의 규정에 미국 버지니아주 마나사스 소재의 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (ATCC)에 기탁되었다.

[0246] 항체 명칭 ATCC 번호 기탁일

[0247] A4.6.1 ATCC HB-10709 1991년 3월 29일

[0248] 하기 실시예는 본 발명의 실시를 단지 예시하기 위한 것이며, 본 발명을 제한하기 위해 제공되는 것이 아니다. 본원에서 언급된 모든 특허 및 학술 문헌의 개시내용은 그 전문이 명백하게 참고로 포함된다.

[0249] **실시예:**

[0250] **실시예 1. 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암을 갖는 대상체에서 화학요법 처방제와 조합된 베바시주맙**

[0251] 전이성 유방암 (MBC)은 대다수의 환자가 진단 2년 이내에 이 질환으로 사망하는 불치 질환이다 ([Greenberg, et al., 1996, J. Clin. Oncol. 14:2197-205], [Dawood, et al., 2008, J. Clin. Oncol. 26:4891-8] 및 [Chia et al., Cancer, 2007, 110:973-9]). MBC를 나타내는 환자 중 대략 60%는 재발된 국소 질환을 이전에 나타낸 적이 있을 것이고, 환자의 대략 40%는 드 노보(de novo) 전이성 질환을 나타낼 것이다.

[0252] MBC의 기존의 2가지 이전의 무작위화 제III상 실험은 탁산을 사용한 초기 화학요법에 베바시주맙을 추가하는 것의 이점을 입증하였다. 중추적인 제III상 E2100 실험에서, 무진행 생존 (PFS)은 매주 파클리탁셀 + 베바시주맙을 처치받은 환자에서 파클리탁셀을 단독으로 처치받은 환자에서보다 유의하게 더 길었다 ([Miller et al., N. Engl J. Med., 2007, 357:2666-76]). 유사하게, 베바시주맙 (7.5 및 15 mg/kg q3w)과 도세탁셀의 조합물을 조사한 AVADO 실험에서는, 도세탁셀 + 베바시주맙을 처치받은 환자가 도세탁셀을 단독으로 처치받은 환자에서보다 무진행 생존 (PFS)이 더 길다는 것이 밝혀졌다 ([Miles et al., 2008 ASCO Annual Meeting Chicago, IL]). 이전에, 베바시주맙 및 카페시타빈의 조합물을 평가하는 이전에 시험된 MBC에 대한 무작위화 제III상 실험 (AVF2119g)은 전반적인 반응률 (ORR)이 카페시타빈 + 베바시주맙 처치의 경우에서 카페시타빈 단독 처치보다 더 높다는 것을 입증하였지만, PFS 개선이라는 1차 목표를 충족시키지는 못했다 ([Miller et al., J. Clin. Oncol. 2005, 23:792-9]).

[0253] 본 실시예는 탁산 및 비-탁산 화학요법제를 사용한 RIBBON 1 임상 실험에서 처치받은, 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암 대상체에서 얻어진 결과의 분석에 관한 것이다. 본 연구의 1차 목적은 조사자 종양 평가를 기초로 한 PFS로 결정할 때 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암에 대한 표준 화학요법 처방제에 베바시주맙을 추가하는 임상적 이점을 결정하는 것이었다. 예를 들어, 문헌 [O'Shaughnessy and Brufsky, (2008), Clinical Breast Cancer, 8(4): 370-373]을 참조한다. 본 실험은 진행성 HER2-음성 유방암에 대해 이전에 화학요법제를 투여받은 적이 없는 여성에서 아바스틴[®] 및 상이한 유형의 화학요법제를 평가하는 2개의 연구 군을

포함하였다. 제1 연구 군에서는 여성에게 아바스틴 또는 위약을 탁산 또는 안트라사이클린-기제의 화학요법제와 조합하여 투여하였다. 제2 연구 군에서는 여성에게 아바스틴 또는 위약을 카페시타빈 화학요법제와 조합하여 투여하였다. 이러한 예의 분석은 1237명의 환자로부터의 정보를 기초로 하는 것이었다. 이러한 실험은 이전에 처치받은 적이 없는 전이성 유방암 환자를 위한 요법으로서 베바시주맵 (아바스틴[®])의 효능을 평가하였다.

[0254] **연구 디자인**

[0255] RIBBON1 연구의 디자인은 도 1에 도시되어 있다.

[0256] RIBBON1 실험에서, 하기 처치 프로토콜을 이용하였다:

[0257] A군: 각 21일 주기의 제1일에 베바시주맵 15 mg/kg IV 및 코호트 1, 코호트 2 또는 코호트 3,

[0258] B군: 각 21일 주기의 제1일에 위약 IV 및 코호트 1, 코호트 2 또는 코호트 3.

[0259] **코호트 1:** 하기 탁산을 3주마다 투여함

[0260] 도세탁셀 75 내지 100 mg/m² IV

[0261] 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (아브락산[®]) 260 mg/m² IV

[0262] **코호트 2:** 하기 안트라사이클린-기제의 조합 화학요법제 중 임의의 것을 이전에 안트라사이클린을 처치받은 적이 없는 대상체에게 3주마다 투여함

[0263] FEC: 제1일에 5-플루오로우라실 500 mg/m² IV, 에피루비신 90 내지 100 mg/m² IV 및 시클로포스파미드 500 mg/m² IV

[0264] FAC: 제1일에 5-플루오로우라실 500 mg/m² IV, 독소루비신 50 mg/m² IV 및 시클로포스파미드 500 mg/m² IV

[0265] AC: 제1일에 독소루비신 50 내지 60 mg/m² IV 및 시클로포스파미드 500 내지 600 mg/m² IV

[0266] EC: 제1일에 에피루비신 90 내지 100 mg/m² IV 및 시클로포스파미드 500 내지 600 mg/m² IV

[0267] **코호트 3:** 각 3주 주기의 제1일 내지 제14일에 카페시타빈 1000 mg/m²를 1일 2회씩 경구 투여함.

[0268] 추가로, 맹검 처치 단계 이후에 일부 대상체에게 베바시주맵을 15 mg/kg IV로 하여 3주마다 투여하거나 10 mg/mL IV로 하여 2주마다 투여하고, 화학요법제와 공동으로 투여하였다.

[0269] 베바시주맵 (아바스틴[®])은 IV 주입용 용액을 위한, 투명 내지 약간 유백색의 무색 내지 옅은 갈색의 멸균 액체 농축액으로서 공급되었다. 베바시주맵은 베바시주맵을 각각 4 mL 또는 16 mL (각 바이알마다 25 mg/mL)씩 함유하는 5 mL (100 mg) 또는 20 mL (400 mg) 유리 바이알에 공급되었다. 바이알은 베바시주맵을 포스페이트, 트레할로스, 폴리소르베이트 20, 및 멸균 주사용수 (SWFI), USP와 함께 함유하였다. 바이알은 보존제는 함유하지 않았다. 아바스틴[®]을 0.9% 염화나트륨 주사용수, USP 중에 총 부피 100 mL로 희석한 후에 연속 정맥내 투여를 실시하였다.

[0270] **방법**

[0271] 적합한 대상체/환자는 다음과 같은 핵심 적격 기준을 가졌다: 연령 > 18세, ECOG 0 또는 1 (ECOG 활동 상태 척도(ECOG Performance Status Scale)), 국소 재발성 또는 전이성 유방암에 대해 이전에 화학요법제 처치를 받은 적이 없음, Her2 음성 (Her2 양성이고 트라스투주맵이 금지되거나 이용불가능하지 않은 경우) 및/또는 이전의 아주반트 화학요법제가 마지막 투여 이후 12개월 이내에 반복하여 투여받은 적이 없는 경우에는 허용됨. 모든 대상체는 조직학적으로 또는 세포학적으로 확인된 유방 선암종을 가졌고, 대상체는 측정가능한 (충실성 종양에서의 반응 평가 기준 (RECIST)에 따름) 또는 측정가능하지 않은 국소 재발성 또는 전이성 질환을 가졌을 수 있다. 국소 재발성 질환은 치료 목적의 절제술이 용이하지 않다.

[0272] 대상체는 아주반트 또는 전이성 셋팅의 이전의 호르몬 요법이 제0일 이전에 1주일 이상 중단되었다면 이러한 호르몬 요법을 이전에 받았을 수도 있고, 이전의 아주반트 화학요법제 처치가 제0일 이전에 12개월 이상 중단되었다면 이러한 화학요법제를 이전에 처치받았을 수도 있다.

[0273] 제외 기준은 다음을 포함하였다: 공지된 HER2-양성 상태 (트라스투주맵 요법시에 진행되지 않았거나 트라스투주맵 요법이 금지되거나 이용불가능하지 않은 경우); 12개월 이내의 기존 아주반트 또는 네오 아주반트 화학요법;

공지된 중추신경계 전이; 혈압 > 150/100 mmHg; 불안정형 협심증; 뉴욕 심장 학회(New York Heart Association) 등급 II 이상의 울혈성 심부전 (CHF); 6개월 이내의 심근경색 병력; 6개월 이내의 졸중 또는 일과성 허혈 발작 병력; 임상적으로 유의한 말초 혈관 질환; 출혈성 소질 또는 응고장애의 증거; 6개월 이내의 복강루(abdominal fistula), 위장 (GI) 천공, 또는 내부 복부 농양의 병력; 사전투약으로 제어되지 않는, 모노클로날 항체 요법에 대한 아나필락시성 반응의 병력; 중증의 치유되지 않은 상처; 부적절한 장기 기능; 치료 목적의 절제술이 용이한 국소 재발성 질환; 5년 이내의 다른 악성종양의 병력. 안트라사이클린이 화학요법제로서 선택된 경우, 환자는 또한 좌측 박출물 $\geq 50\%$ 이고 안트라사이클린 처치의 기존 병력이 없을 것이 요구되었다.

[0274] 실험은 전세계적으로 수행 (적어도 22개국)되었고, 전체 1237명의 대상체/환자 (탁산 (T): 307; 안트라사이클린 (Anthra): 315, 및 카페시타빈 (Cap): 615)였다.

[0275] 연구의 1차 종점은 조사자 평가를 기초로 하여 무작위화 시점으로부터 질환 진행 시점까지 또는 사망 시점까지의 시간으로 정의되는 무진행 생존 (PFS)이었다. 카플란-마이어 방법을 이용하여 각 처치군에 대한 중앙 PFS를 추정할 수 있다. 특정 실시양태에서, PFS에 대한 위험 비율은 층상 로그-랭크 시험에 사용된 것과 동일한 층형성(stratification) 인자를 갖는 층상 Cox 퇴행 모델로 추정될 것이다. 각 코호트에서 PFS의 분석은 양면 $\alpha = 0.05$ 수준에서 수행된다. 시간-사건 데이터를 층상 로그-랭크 시험을 사용하여 처치군 사이에 비교하였다. 카플란-마이어 방법을 이용하여 시간-사건 데이터의 기간을 추정하였다. 중앙 시간-사건에 대한 95% 신뢰 구간을 브루크마이어-크로울리(Brookmeyer-Crowley) 방법으로 전산화하였다. 시간-사건 데이터에 대한 HR을 층상 Cox 퇴행 모델로 추정하였다.

[0276] 2차 종점은 객관적 반응률 (ORR), 1년 생존률, 전체 생존 (OS), 및 IRC 평가 및 안전성을 기초로 하는 PFS를 포함하였다. OS는 무작위화 시점으로부터 임의의 원인으로 인한 사망 시점까지의 시간으로 정의된다. ORR은 반응의 초기 기록 후 28일 이내에 완전한 또는 부분적인 반응을 달성한 환자의 백분율(%)로 정의된다. 1년 생존율은 통상적인 근사치 방법을 이용하여 처치군들 사이에서 평가된다. 기저수준의 측정가능한 질환을 갖는 환자의 ORR은 층상 만텔-헨젤(Mantel-Haenszel) χ^2 시험으로 비교된다. 무작위화 층형성 인자는 모든 층상 분석에서 포함된다.

[0277] **결과**

[0278] RIBBON1은 국소 재발성 또는 전이성 HER2-음성 유방암을 갖고 이러한 전이성 질환에 대한 화학요법을 받은 적이 없는 1,237명의 대상체/환자가 참여한, 국제적인 다중심 무작위화 이중-맹검 위약-대조군 임상 연구였다. 실험에 참여한 대상체/환자의 특징에 대하여는 표 1을 참조한다. 이러한 실험의 1차 종점은 조사자 평가를 기초로 하여 무작위화 시점부터 질환 진행 또는 사망 시점까지의 시간으로 정의되는 무진행 생존 (PFS)이었다. 이 실험의 결과는 아바스틴[®] 및 이후에 사용된 1차 전이성 HER2-음성 유방암에 대한 화학요법제의 조합이 화학요법제 단독 처치시의 경우와 비교하여 무진행 생존 (PFS)의 1차 종점으로 정의되는 바와 같이 여성들이 질환 진행 없이 생존하는 시간을 연장시켰음을 나타냈다.

표 1

대상제/환자 특징

	Cap		T/Anthra	
	PL (n=206)	BV (n=409)	PL (n=207)	BV (n=415)
중양 나이 (세)	57	56	55	55
ECOG PS 0	53	52	53	52
HR 양성	71	76	74	74
3중 음성	24	21	22	23
무질환 ≤ 12개월	22	27	41	37
아주반트 화학요법제	76	70	47	45
탁산	41	39	15	15
안트라사이클린	69	60	30	30
≥ 3 전이성 부위	45	43	45	45
측정가능한 dx	78	80	86	83

[0279]

[0280]

이러한 제III상 연구의 결과는 이전에 처치받은 적이 없는 유방암을 갖는 환자를 위한 1차 요법으로서의 항혈관 신생제의 사용을 직접 지지한다. 항-VEGF 항체인 베바시주맵을 탁산 요법 (예를 들어, 도세탁셀 또는 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®])/안트라사이클린 요법 (예를 들어, 독소루비신, 에피루비신 또는 이것들의 조합물) 또는 카페시타빈 요법 화학요법에 추가하면, 예를 들어 무진행 생존으로 측정시에 유방암 환자에서 임상적으로 의미있고 통계적으로 유의한 개선이 달성되었다. 개월수로 표시한 PFS 중앙값 (95% CI)은 베바시주맵 및 탁산 요법 (예를 들어, 도세탁셀 또는 파클리탁셀 단백질 결합 입자 (예를 들어, 아브락산[®])/안트라사이클린 요법 (예를 들어, 독소루비신, 에피루비신 또는 이것들의 조합물)을 처치한 환자에서는 9.2개월 (8.6, 10.1)인데 비해 베바시주맵 없이 탁산/안트라사이클린 요법을 수행한 경우에는 8.0개월 (6.7, 8.4)이었다 (HR (95% CI) 0.644 (0.522, 0.795), p-값 (로그-랭크) 0.0001 미만). 표 2를 참조한다. 조사자 (INV) 결정된 PFS 값 및 독립적인 검토 위원회 (IRC) 결정된 PFS 값을 살펴보기 위해서는 도 3을 참조한다. 개월수로 표시한 PFS 중앙값 (95% CI)은 베바시주맵 및 카페시타빈을 처치한 환자에서는 8.6개월 (8.1, 9.5)인데 비해 베바시주맵 없이 카페시타빈 요법을 수행한 경우에는 5.7개월 (4.3, 6.2)이었다 (HR (95% CI) 0.688 (0.564, 0.840), p-값 (로그-랭크) 0.0002). 표 2를 참조한다. 조사자 (INV) 결정된 PFS 값 및 독립적인 검토 위원회 (IRC) 결정된 PFS 값에 대해서는 도 2를 참조한다. 2차 종점에 대해서는 표 3을 참조하고, 여기서 PFS는 화학요법 하위군으로 나뉜다. 다양한 코호트에 의한 PFS의 하위군 분석에 대하여는 도 4 및 도 6을 참조하고, 예를 들어 도 4에서는 카페시타빈 및 T/안트라사이클린, 도 6에서는 T/안트라사이클린에 대해 제시되어 있다. 객관적 반응률 (ORR)에 대해서는 도 5를 참조하고 표 2를 참조한다. 반응자들 중, 객관적 반응의 중앙 기간은 2개 코호트 둘다에서 베바시주맵 사용시에 더 길었다: 카페시타빈 코호트, 9.2개월 (95% CI: 8.5-10.4) vs. 7.2개월 (95% CI: 5.1-9.3), 및 탁산/안트라사이클린 코호트, 8.3개월 (95% CI: 7.2-10.7) vs. 7.1개월 (95% CI: 6.2-8.8). 전체 생존에 관한 세부사항에 대하여는 표 4를 참조한다. 예상치 못한 안전성 신호는 없었다. 안전성은 이전의 베바시주맵 실험의 결과와 일치했다. 안전성 요약에 대해서는 표 5를 참조한다. 이러한 개선은 임상적으로 의미가 있다.

표 2

PFS 및 OS

	T/Anthra n=622		Cap n=615	
	pl n=207	B n=415	pl n=206	B N=409
PFS (HR, 95% CI)	0.644 (0.522, 0.795)		0.688 (0.564, 0.840)	
p-값 (로그-랭크)	<0.0001		0.0002	
중앙 (개월)	8.0	9.2	5.7	8.6
ORR (%)	67 (37.9%)	177 (51.3%)	38 (23.6%)	115 (35.4%)
p-값	0.0054		0.0097	
OS (HR, 95% CI)	1.032 (0.774, 1.376)		0.847 (0.631, 1.138)	
p-값 (로그-랭크)	0.8298		0.2706	
중앙 (개월)	23.8	25.2	21.2	29.0

HR = 위험 비율

[0281]

표 3

2차 종점: 화학요법 하위군에 의한 PFS (mPFS = 중앙 PFS)

	탁산		Anthra	
	PL(n=104)	BV(n=203)	PL(n=103)	BV(n=212)
mPFS, 개월수	8.2	9.2	7.9	9.2
HR (95% CI)	0.75 (0.56-1.01)		0.55 (0.40-0.74)	
p-값	0.0547		<0.0001	

[0282]

표 4

전체 생존

	Cap		T/Anthra	
	PL (n=206)	BV (n=409)	PL (n=207)	BV (n=415)
사망자의 비율(%)	35	30	35	34
중앙 OS, 개월수	21.2	29.0	23.8	25.2
HR (95% CI)	0.85 (0.63-1.14)		1.03 (0.77-1.38)	
p-값	0.27		0.83	
1년 생존률(%)	74	81	83	81
p-값	0.076		0.44	

[0283]

표 5

안전성 요약

사건(%)	Cape		탁산		Anthra	
	PL (n=201)	BV (n=404)	PL (n=102)	BV (n=203)	PL (n=100)	BV (n=210)
선택된 AE*	9.0	22.0	22.5	43.8	16.0	28.1
SAE	18.9	24.3	26.5	41.4	16.0	22.4
연구 약물 (PL 또는 BV) 중단을 야기하는 AE	11.9	11.9	7.8	24.1	4.0	14.3
사망을 야기하는 AE**	2.5	2.0	2.9	3.4	3.0	1.4

* 베바시주맵과 관련하여 이전에 나타난 바 있는 유해 사건 (AE)

** 전이성 유방암 진행과 관련된 AE는 제외함

SAE - 중증의 유해 사건

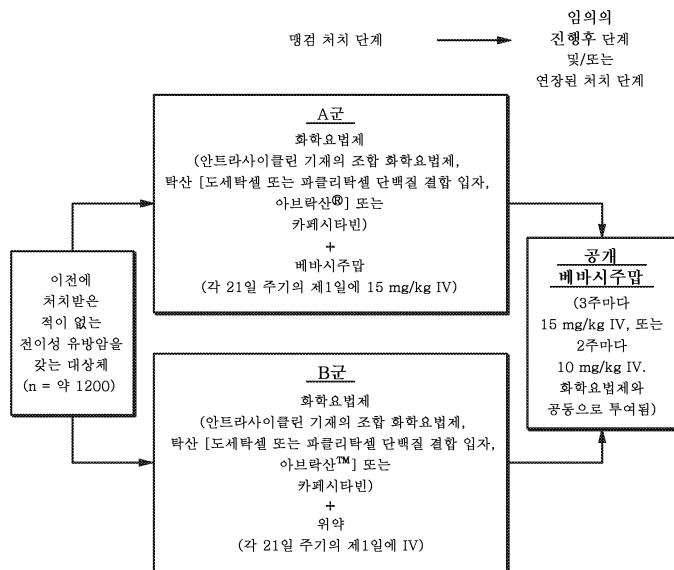
[0284]

[0285]

전이성 유방암의 1차 처치에 사용된 카페시타빈, 탁산 또는 안트라사이클린-기제의 화학요법 처방제에 베바시주맵을 추가하면 PFS에 있어서 통계적으로 유의한 개선이 유도되었고, 안전성 프로파일은 이전의 제III상 연구와 유사하였다.

도면

도면1



코호트 1: 하기 탁산 중 임의의 것을 3주마다 부여함:

도세탁셀 75 내지 100 mg/m² IV

파클리탁셀 단백질 결합 입자 (아브락산[®]) 260 mg/m² IV

코호트 2: 하기 안트라사이클린 기제의 조합 화학요법제 중 임의의 것을 이전에 안트라사이클린을

처치받은 적이 없는 대상체에게 3주마다 부여함:

FEC: 제1일에 5-플루오로우라실 500 mg/m² IV, 에피루비신 90 내지 100 mg/m² IV, 및 시클로포스파미드 500 mg/m² IV

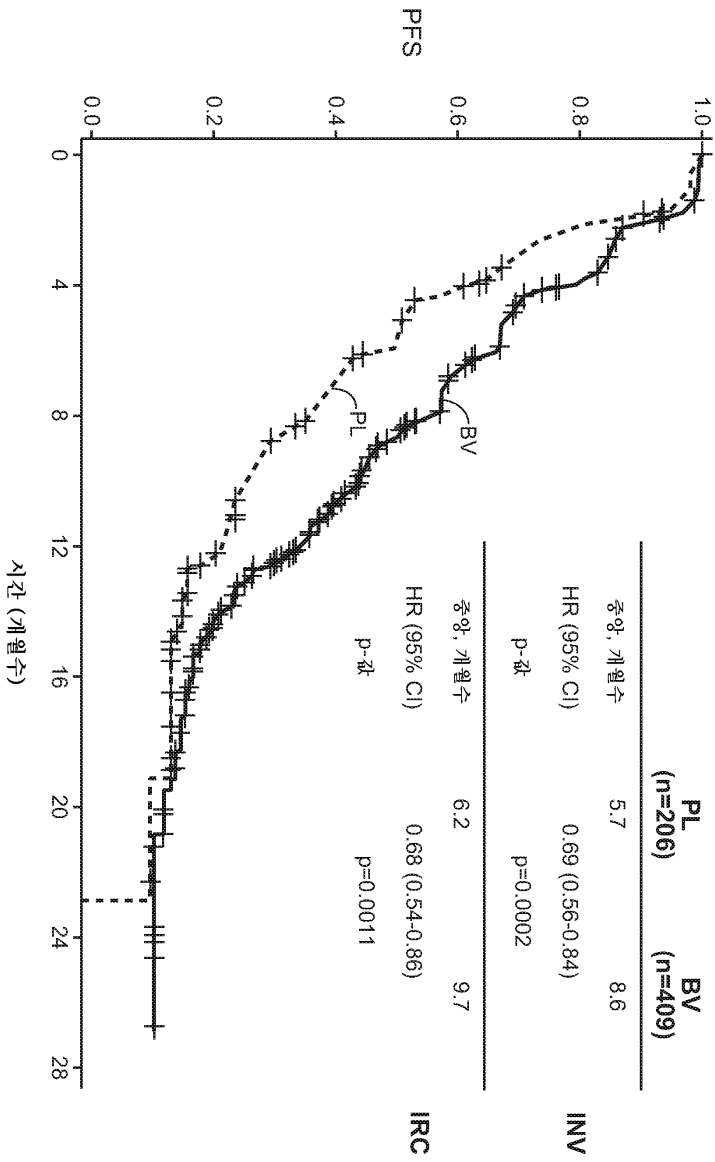
FAC: 제1일에 5-플루오로우라실 500 mg/m² IV, 독소루비신 50 mg/m² IV, 및 시클로포스파미드 500 mg/m² IV

AC: 제1일에 독소루비신 50 내지 60 mg/m² IV 및 시클로포스파미드 500 내지 600 mg/m² IV

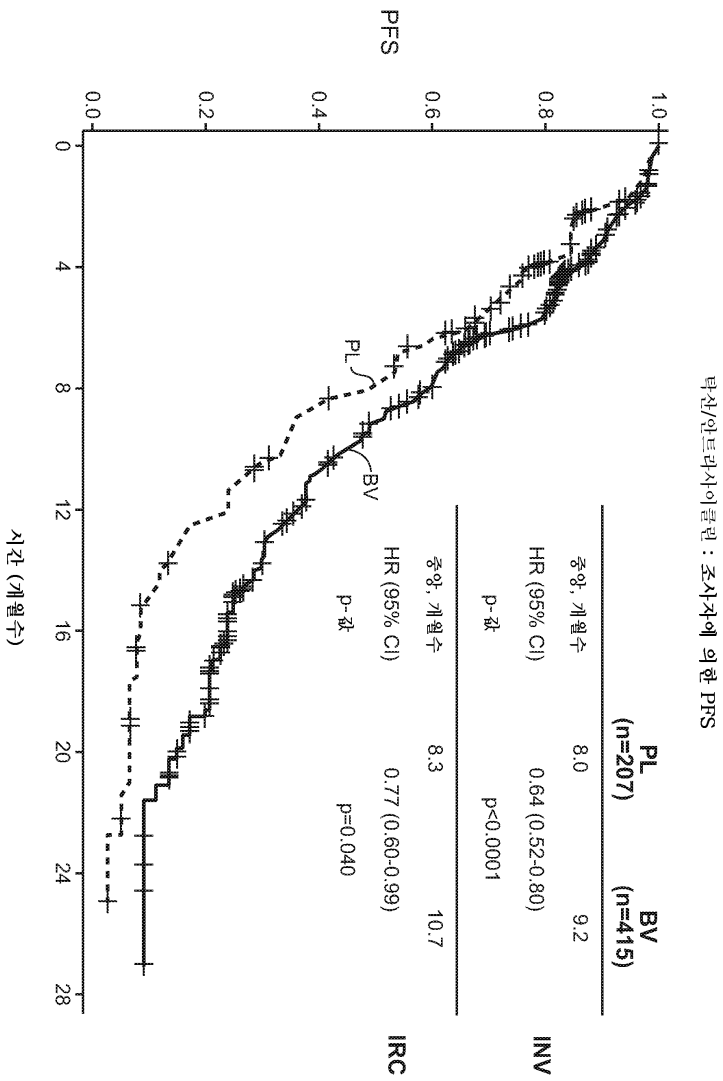
EC: 제1일에 에피루비신 90 내지 100 mg/m² IV 및 시클로포스파미드 500 내지 600 mg/m² IV

코호트 3: 각 3주 주기의 제1일 내지 제14일에 카페시타빈 1000 mg/m²를 1일 2회씩 경구 부여함

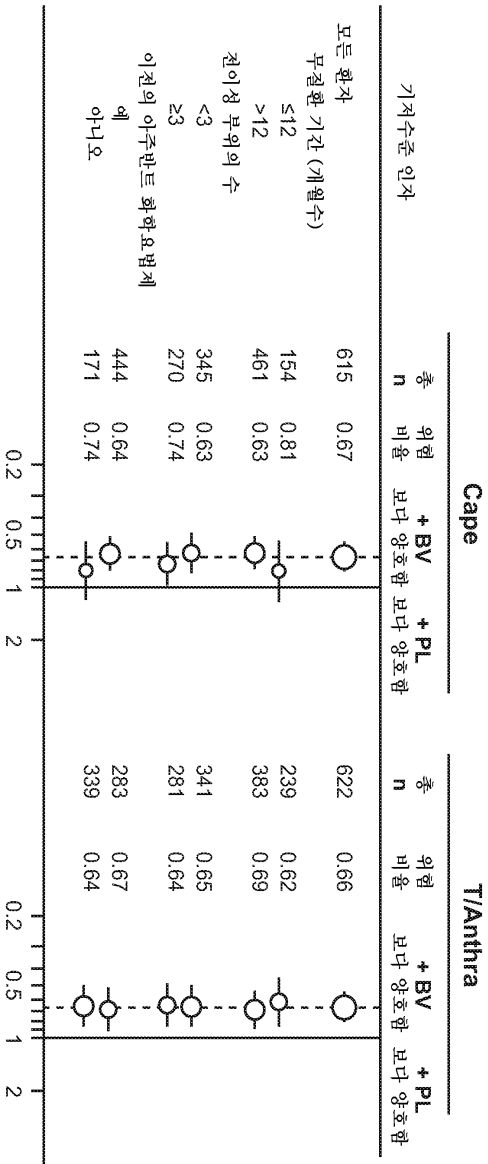
도면2



도면3

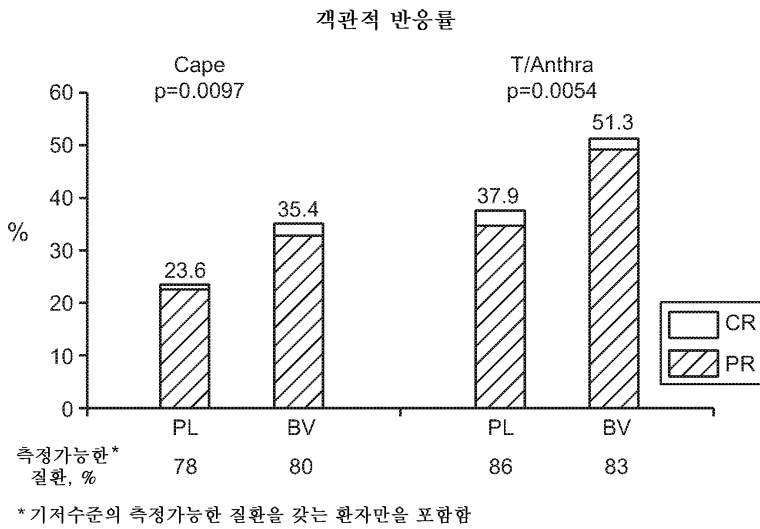


PFSS의 하위군 분석: Cape 및 T/Anthra 코호트

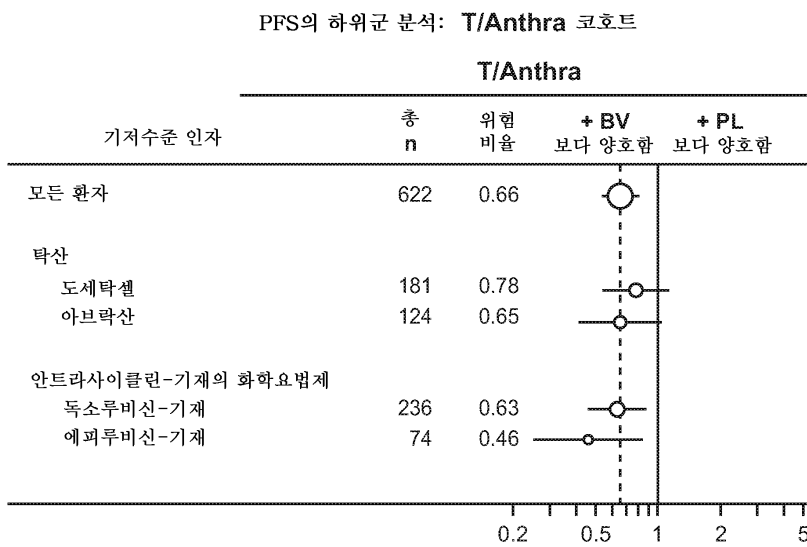


도면4

도면5



도면6



서열 목록

Sequence Listing

- <110> GENENTECH, INC. et al.
- <120> ANTI-ANGIOGENESIS THERAPY FOR THE TREATMENT OF BREAST CANCER
- <130> P4331R1 WO
- <141> 2009-11-20
- <150> US 61/117,102
- <151> 2008-11-22
- <150> US 61/178,009
- <151> 2009-05-13
- <150> US 61/179,307

<151> 2009-05-18

<160> 2

<210> 1

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 1 5 10 15

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 20 25 30

Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 35 40 45

Glu Trp Val Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr
 50 55 60

Ala Ala Asp Phe Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser
 65 70 75

Lys Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 80 85 90

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser
 95 100 105

Ser His Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 110 115 120

Val Ser Ser

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> sequence is synthesized

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val

1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser

20 25 30

Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

35 40 45

Val Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln

80 85 90

Tyr Ser Thr Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu

95 100 105

Ile Lys Arg