



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년07월07일

(11) 등록번호 10-2417583

(24) 등록일자 2022년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/395 (2006.01) A61K 31/337 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01) A61K 31/555 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 39/39558 (2013.01)

A61K 31/337 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7027734(분할)

(22) 출원일자(국제) 2018년02월28일

심사청구일자 2021년08월30일

(85) 번역문제출일자 2021년08월30일

(65) 공개번호 10-2021-0111882

(43) 공개일자 2021년09월13일

(62) 원출원 특허 10-2019-7020413

원출원일자(국제) 2018년02월28일

심사청구일자 2019년07월12일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/020154

(87) 국제공개번호 WO 2018/160654

국제공개일자 2018년09월07일

(30) 우선권주장

62/466,239 2017년03월02일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

EMA/CHMP, Perjeta Assessment report
(2015.06.25.)*

Transl Cancer Res, 제5권(suppl 4), S907-S912*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

제넨테크, 인크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1

에프. 호프만-라 로슈 아게

스위스 체하-4070 바젤 그렌자체스트라췌 124

(72) 발명자

벤유네스, 마크, 씨.

미국 94080 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 디엔에이 웨이 1 제넨테크, 인크. 내

로스, 그레이엄, 알렉산더

영국 에이엘8 7피에이 하트퍼드셔 웰린 가든 시티 덕스웰 로드 12

(74) 대리인

양영준, 여호섭, 공성철, 김영

전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 이수정

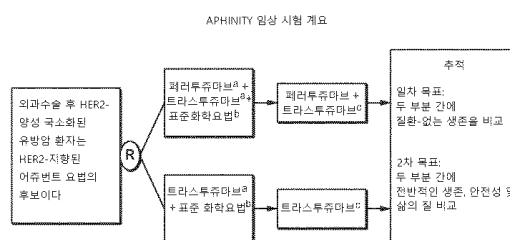
(54) 발명의 명칭 HER2-양성 유방암 어쥬번트 치료

(57) 요약

화학요법 및 트라스투주마브(trastuzumab)에 추가하여 페러투주마브(pertuzumab)의 투여에 의해 인간 환자에서 수술가능한 HER2-양성 유방암의 어쥬번트 치료를 위한 방법이 제공된다. 이 방법은 HER2-양성 조기 유방암(eBC)으로 진단을 받은 환자의 경우 페러투주마브 없이, 트라스투주마브 및 화학요법의 투여와 비교하였을 때,

(뒷면에 계속)

대표도 - 도6a



침습성 유방암의 재발 또는 사망 위험을 감소시킨다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/513 (2013.01)

A61K 31/555 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

A61P 35/04 (2018.01)

C07K 16/32 (2013.01)

A61K 2039/507 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/469,317 2017년03월09일 미국(US)

62/486,876 2017년04월18일 미국(US)

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

HER2-양성 조기 유방암 환자를 치료하기 위한, 페러튜주마브를 포함하는 제약 조성물이며,

상기 환자는 암 재발 위험이 높고,

외과수술 후

(a) 안트라사이클린-기반의 화학 요법 및 상기 안트라사이클린-기반의 화학 요법 후, 탁산, 페러튜주마브 및 트라스투주마브가 상기 환자에게 투여되는 것이며,

상기 안트라사이클린-기반의 화학 요법은

(i) 3-4 사이클의 5-플루오로우라실 + 에피루비친 + 사이클로포스파미드, 또는 3-4 사이클의 5-플루오로우라실 + 독소루비신 + 사이클로포스파미드; 또는

(ii) 4 사이클의 독소루비신 + 사이클로포스파미드, 또는 4 사이클의 에피루비친 + 사이클로포스파미드로부터 선택된 것이고;

상기 탁산은 매 3주마다 4 사이클의 도세탁셀, 또는 매 주마다 12 사이클의 파클리탁셀을 포함하며;

여기서 페러튜주마브 및 트라스투주마브는 첫 번째 탁산-함유 사이클의 1일차 부터 시작하여 각각 정맥내 투여되고;

또는

(b) 매 3주마다 6 사이클의 도세탁셀 + 카보플라틴을 포함하는 비-안트라사이클린-기반의 화학 요법, 페러튜주마브 및 트라스투주마브가 상기 환자에게 투여되고; 여기서 페러튜주마브 및 트라스투주마브는 첫 번째 비-안트라사이클린-기반의 화학 요법 사이클의 1일차부터 시작하여 각각 정맥내 투여되는 것이며;

페러튜주마브 및 트라스투주마브는 총 52주 동안 투여되고,

페러튜주마브의 초기 투여량은 840 mg이고 이후 매 3주마다 페러튜주마브 420 mg이 투여되며,

트라스투주마브의 초기 투여량은 8 mg/kg이고 이후 매 3주마다 트라스투주마브 6 mg/kg이 투여되고,

상기 위험이 높은 환자는 림프절 양성이고,

상기 환자는 55 % 이상의 기저선 좌심실 박출물(LVEF)을 가지며, 이전에 항-HER2 요법을 받지 않았고,

상기 제약 조성물은

요법 (a)의 경우 페러튜주마브 없이 안트라사이클린-기반의 화학 요법, 탁산, 및 트라스투주마브를 투여한 환자; 및

요법 (b)의 경우 페러튜주마브 없이 비-안트라사이클린-기반의 화학 요법 및 트라스투주마브를 투여한 환자

와 비교하여 상기 환자에서 최초 투여로부터 3년 시점에서의 침습성 질환-없는 생존(IDFS)을 증가시키며,

상기 제약 조성물은 심장 독성을 증가시키지 않으며, 상기 심장 독성은 LVEF가 기저선으로부터 10 포인트 이상 감소하고 50 % 미만으로 떨어지는 것인,

제약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 위험이 높은 환자는 림프절 양성 및 호르몬 수용체 음성인 제약 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 서열 목록

[0002] 본 출원은 ASCII 포맷에 의해 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이의 전문은 본 명세서의 참고자료에 편입된다. 2018년 2월 5일에 만들어진 전술한 ASCII 복사본은 P34141-WO_SL.txt로 명명되며, 크기는 33,918 바이트다.

[0003] 발명의 분야

[0004] 본 발명은 화학요법 및 트라스투주마브(trastuzumab)에 추가하여 페러투주마브(pertuzumab)의 투여에 의해 인간 환자에서 수술가능한(operable) HER2-양성 유방암의 치료에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 페러투주마브, 트라스투주마브 및 화학요법의 어쥬번트 투여에 의해 수술가능한 HER2-양성 조기 유방암 (eBC)의 치료에 관한 것이다.

[0005] 또한, 본 발명은 페러투주마브가 있는 바이알, HER2-양성 조기 유방암을 치료하기 위한 트라스투주마브 및 화학요법과 복합된 페러투주마브의 어쥬번트 투여를 위한 치짐을 제공하는 포장 삽입물, 그리고 본원의 방법에 사용하기 위한 조성물을 포함하는 제조 물품에 또한 관한 것이다.

배경 기술

[0006] 발명의 배경

[0007] 수용체 티로신 키나제의 HER 패밀리 구성요소는 세포 성장, 분화 및 생존의 중요한 중개물질이다. 상기 수용체 패밀리는 상피 성장 인자 수용체 (EGFR, ErbB1, 또는 HER1), HER2 (ErbB2 또는 p185^{neu}), HER3 (ErbB3) 및 HER4 (ErbB4 또는 tyro2)를 포함하는 4가지 별개의 구성요소를 포함한다. 상기 수용체 패밀리의 구성요소는 다양한 유형의 인간 악성 종양에 관련되어 왔다.

[0008] 제조함 인간화된 형태의 무린 항-HER2 항체 4D5 (huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, 트라스투주마브 또는 HERCEPTIN[®]; U.S. 특허 번호. 5,821,337)는 방대한 항-암요법을 제공받았던 HER2-과다발현시키는 전이성 유방암 환자에서 임상적으로 활성이다(Baselga 외., *J. Clin. Oncol.* 14:737-744 (1996)).

[0009] 트라스투주마브는 종양이 HER2 단백질을 과다발현시키는 전이성 유방암 종양을 가진 환자의 치료를 위하여 1998년 9월 25일자로 식품의약국(Food and Drug Administration)으로부터 판매 승인을 받았다. 현재, 트라스투주마

브는 전이성 환경에서 화학요법 또는 호르몬 요법과 병용하거나, 또는 단일 약제로 사용하도록 승인되었으며, 초기-단계 HER2-양성 유방암 환자를 위한 어쥬번트 치료로써 단일 요법 또는 화학요법과 병용 투여되도록 승인되었다. 현재 트라스투주마브-기반의 요법은 이의 사용에 대하여 사용금지를 받지 않은 HER2-양성 초기-단계 유방암 환자의 추천 치료다(Herceptin® 처방 정보; NCCN 지침, 버전 2.2011). 트라스투주마브 + 도세탁셀 (또는 파클리탁셀)은 제1일선 전이성 유방암 (MBC) 치료 환경에서 등록된 표준 치료다 (Slamon 외. N Engl J Med. 2001;344(11):783-792.; Marty 외. J Clin Oncol. 2005; 23(19):4265-4274).

- [0010] HER2 항체 트라스투주마브로 치료된 환자는 HER2 발현에 기반을 둔 치료에 선택된다. 실시예, W099/31140 (Paton 외.), US2003/0170234A1 (Hellmann, S.), 및 US2003/0147884 (Paton 외.); 뿐만 아니라 W001/89566, US2002/0064785, 및 US2003/0134344 (Mass 외.) 참고. HER2 과다발현 및 증폭을 탐지하기 위하여 면역조직화학 (IHC) 및 형광 제자리 혼성화법 (FISH)에 관하여 US 특허 번호. 6,573,043, US 특허 번호. 6,905,830, 및 US2003/0152987, Cohen 외., 참고. 따라서, 전이성 유방암의 최적 관리는 이제 환자의 전반적인 상태, 병력 및 수용체 상태 뿐만 아니라 HER2 상태를 고려한다.
- [0011] 페러투주마브 (재조합 인간화된 단일클론 항체 2C4 (rhuMAb 2C4)으로도 또한 공지됨; Genentech, Inc, South San Francisco)는 HER 이량체화 저해제들 (HDI)로 알려진 새로운 부류의 물질에서 첫 번째를 나타내며, 다른 HER 수용체들 (이를 테면 EGFR/HER1, HER2, HER3 및 HER4)과 이중이량체 또는 동종이량체를 형성하는 HER2의 능력을 저해하는 기능을 한다. 예를 들면, Harari and Yarden *Oncogene* 19:6102-14 (2000); Yarden and Sliwkowski. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2:127-37 (2001); Sliwkowski *Nat Struct Biol* 10:158-9 (2003); Cho 외. *Nature* 421:756-60 (2003); 그리고 Malik 외. *Pro Am Soc Cancer Res* 44:176-7 (2003) 참고.
- [0012] 종양 세포에서의 HER2-HER3 이중이량체의 형성에 대한 페러투주마브 차단은 중요한 세포 신호 전달을 억제하고, 이는 종양의 증식과 생존의 감소를 초래하는 것으로 입증되었다 (Agus 외. *Cancer Cell* 2:127-37 (2002)).
- [0013] 페러투주마브는 진행된 암 환자에서 임상 Ia 단계 시험, 그리고 난소암과 유방암 뿐만 아니라 폐암 및 전립선 암 환자에서 임상 단계 II 시험에서 단일 물질로 테스트를 받았다. 단계 I 연구에서 표준 치료 중 또는 이후에 진행되었던 난치성, 국소 진행성, 재발성 또는 전이성 고형 종양 환자는 매 3 주 마다 정맥 내 투여되는 페러투주마브로 치료되었다. 페러투주마브는 일반적으로 잘 용인되었다. 종양 퇴행은 반응을 평가할 수 있는 20 명의 환자 중 3 명에게서 이루어졌다. 2 명의 환자가 부분 반응을 확인했다. 2.5 개월 이상 지속되는 안정적인 질환이 21 명의 환자 중 6 명에서 관찰되었다 (Agus 외. *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:192 (2003)). 2.0-15 mg/kg의 투여량에서, 페러투주마브의 약물 동력학은 직선적이었고, 평균 제거(clearance) 범위는 2.69 내지 3.74 mL/일/kg이었고, 그리고 평균 말단 제거 반감기는 15.3 내지 27.6 일 범위였다. 페러투주마브에 대한 항체는 탐지되지 않았다 (Allison 외. *Pro Am Soc Clin Oncol* 22:197 (2003)).
- [0014] US 2006/0034842는 ErbB-발현시키는 암을 항-ErbB2 항체 조합으로 치료하는 방법을 설명한다. US 2008/0102069는 HER2-양성 전이성 암, 이를 테면 유방암의 치료에서 트라스투주마브 및 페러투주마브의 사용을 기술한다. Baselga 외., *J Clin Oncol*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I, Col. 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007:1004는 트라스투주마브로 치료하는 동안 진행된 사전-치료된 HER2-양성 유방암 환자를 트라스투주마브 및 페러투주마브의 조합을 이용한 치료를 보고한다. Portera 외., *J Clin Oncol*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol. 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007:1028는 트라스투주마브-기반의 요법에서 진행성 질환을 갖는 HER2-양성 유방암 환자에서 트라스투주마브 + 페러투주마브 조합 요법의 효과 및 안전성을 평가하였다. 이들 저자들은 이 치료 요법의 전반적인 위험 및 이점을 정의하기 위해 조합 치료의 효능에 대한 추가 평가가 필요하다고 결론 지었다.
- [0015] 페러투주마브는 전이성 질환에 트라스투주마브를 이미 제공받은 HER2-양성 전이성 유방암 환자에게서 트라스투주마브와의 조합이 단계 II 연구에서 평가되었다. 국립 암 연구소 (National Cancer Institute, NCI)가 실시한 한 가지 연구에 기존에 치료받은 HER2-양성 전이성 유방암 환자 11 명이 등록되었다. 11 명의 환자 중 2 명은 부분 반응(PR)을 나타내었다 (Baselga 외., *J Clin Oncol* 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings; 25:18S (June 20 Supplement): 1004).
- [0016] 초기-단계 HER2-양성 유방암을 가진 여성에게서 페러투주마브와 트라스투주마브 + 화학요법 (도세탁셀)의 신규한 조합 처방의 효과를 평가하는 단계 II 네오어쥬번트 연구 결과는 2010년 12월 8-10일자 CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS)에서 발표되었는데, 외과술을 받기 전, 네오어쥬번트 환경에서 제공된 2개의 HER2 항체 + 도세탁셀은 트라스투주마브 + 도세탁셀과 비교하여 (pCR 29.0 %), 유방에서 완전한 종양

제거 속도를 절반이상 유의적으로 개선시켰다(병리학적 완전 관해율, pCR, 45.8 %), p=0.014.

- [0017] 페리투주마브와 트라스투주마브 (CLEOPATRA)의 단계 II 임상 연구의 임상 평가에서 국소적으로 재발된, 절제불가능한, 또는 전이성 HER2-양성 유방암을 가진 환자의 제1선 치료로써, 플라시보 + 트라스투주마브 + 도세탁셀과 비교하였을 때, 페리투주마브 + 트라스투주마브 + 도세탁셀의 효과 및 안전성이 평가되었다. HER2-양성 전이성 유방암의 제1선 치료로 이용되었을 때, 플라시보 + 트라스투주마브 + 도세탁셀과 비교하여, 페리투주마브 + 트라스투주마브 + 도세탁셀의 조합은 심장 독성 효과의 증가없이, 진행이-없는 생존을 상당히 연장시켰다. (Baselga 외., *N Eng J Med* 2012 366:2, 109-119).
- [0018] 단계 II 임상 연구 NeoSphere는 수술가능하고, 국소 진행성이며, 그리고 염증성 유방암을 앓고 있지만, 치료-받은 적이 없는 여성 (기존 암 치료를 받지 않은 환자)에서 페리투주마브와 트라스투주마브의 네오어쥬번트 투여의 효능 및 안전성을 평가했다. 페리투주마브와 트라스투주마브 + 도세탁셀을 제공받은 환자는 트라스투주마브 + 도세탁셀을 제공받은 환자와 비교하여, 실질적인 내성에 차이 없이 개선된 병리학적 완전 관해율을 나타내었다 (Gianni 외., *Lancet Oncol* 2012 13(1):25-32). Gianni 외., *Lancet Oncol* 2016 17(6):791-800)에 의해 5-년 추적 관찰 결과가 보고되었다.
- [0019] 넓은 의미에서 어쥬번트 요법은 방사선 검사 또는 실험실 검사로 전파가 탐지되지 않는 경우에도 확산되었을 수 있는 모든 암세포를 죽이기 위한 1 차 요법에 추가하여 제공되는 치료법이다.
- [0020] 어쥬번트 요법과 관련된 간행물이나 세미나는 다음을 포함한다: Paik 외., *J. Natl. Cancer Inst.*, 92(24):1991-1998 (2000); Paik 외., *J. Natl. Cancer Inst.*, 94:852-854 (2002); Paik 외. Successful quality assurance program for HER2 testing in the NSABP Trial for Herceptin. San Antonio Breast Cancer Symposium, 2002; Roche P C 외., *J. Natl. Cancer Inst.*, 94(11):855-7 (2002); Albain 외., Proceedings of the American Society of Clinical Oncology Thirty-Eighth Annual Meeting, May 18-21 2002, Orlando, Fla., Abstract 143; The ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) Trialists' Group, *Lancet*, 359:2131-39 (2002); Geyer 외., 26th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS), December 2003, Abstract 12; Perez 외., *Proc. ASCO*, 2005, Abstract 556.
- [0021] U.S. 특허 공개 번호. 2004/0014694 (2004년 1월 22일 공개됨)에서는 도세탁셀, 독소루비친 및 사이클로포스파미드의 투여를 포함하는, 조기 유방암의 치료를 위한 어쥬번트 요법의 방법을 기술한다.
- [0022] HERCEPTIN®의 투여에 의해 유방암의 어쥬번트 치료는 U.S. 특허 번호. 8,591,897에서 기술된다.
- [0023] HER2 항체와 관련된 특허 공개는 다음을 포함한다: US 특허 번호. 5,677,171; 5,720,937; 5,720,954; 5,725,856; 5,770,195; 5,772,997; 6,165,464; 6,387,371; 6,399,063; 6,015,567; 6,333,169; 4,968,603; 5,821,337; 6,054,297; 6,407,213; 6,639,055; 6,719,971; 6,800,738; 5,648,237; 7,018,809; 6,267,958; 6,695,940; 6,821,515; 7,060,268; 7,682,609; 7,371,376; 6,127,526; 6,333,398; 6,797,814; 6,339,142; 6,417,335; 6,489,447; 7,074,404; 7,531,645; 7,846,441; 7,892,549; 6,573,043; 6,905,830; 7,129,840; 7,344,840; 7,468,252; 7,674,589; 6,949,245; 7,485,302; 7,498,030; 7,501,122; 7,537,931; 7,618,631; 7,862,817; 7,041,292; 6,627,196; 7,371,379; 6,632,979; 7,097,840; 7,575,748; 6,984,494; 7,279,287; 7,811,773; 7,993,834; 7,435,797; 7,850,966; 7,485,704; 7,807,799; 7,560,111; 7,879,325; 7,449,184; 7,700,299; 8,591,897; 그리고 US 2010/0016556; US 2005/0244929; US 2001/0014326; US 2003/0202972; US 2006/0099201; US 2010/0158899; US 2011/0236383; US 2011/0033460; US 2005/0063972; US 2006/018739; US 2009/0220492; US 2003/0147884; US 2004/0037823; US 2005/0002928; US 2007/0292419; US 2008/0187533; US 2003/0152987; US 2005/0100944; US 2006/0183150; US2008/0050748; US 2010/0120053; US 2005/0244417; US 2007/0026001; US 2008/0160026; US 2008/0241146; US 2005/0208043; US 2005/0238640; US 2006/0034842; US 2006/0073143; US 2006/0193854; US 2006/0198843; US 2011/0129464; US 2007/0184055; US 2007/0269429; US 2008/0050373; US 2006/0083739; US 2009/0087432; US 2006/0210561; US 2002/0035736; US 2002/0001587; US 2008/0226659; US 2002/0090662; US 2006/0046270; US 2008/0108096; US 007/0166753; US 2008/0112958; US 2009/0239236; US 2004/008204; US 2009/0187007; US 2004/0106161; US 2011/0117096; US 2004/048525; US 2004/0258685; US 2009/0148401; US 2011/0117097; US 2006/0034840; US 2011/0064737; US 2005/0276812; US 2008/0171040; US 2009/0202536; US 2006/0013819; US 2006/0018899; US 2009/0285837; US 2011/0117097; US 2006/0088523; US 2010/0015157; US 2006/0121044; US 2008/0317753; US2006/0165702; US 2009/0081223; US 2006/0188509; US 2009/0155259; US 2011/0165157; US 2006/0204505; US 2006/0212956; US 2006/0275305; US 2007/0009976; US 2007/0020261; US 2007/0037228; US 2010/0112603; US 2006/0067930; US 2007/0224203; US

2008/0038271; US 2008/0050385; 2010/0285010; US 2008/0102069; US 2010/0008975; US 2011/0027190; US 2010/0298156; US 2009/0098135; US 2009/0148435; US 2009/0202546; US 2009/0226455; US 2009/0317387; 그리고 US 2011/0044977.

[0024] **발명의 요약**

[0025] 미국에서 연간 약 6000-8000 명, 유럽에서 연간 12000-15000 명, 그리고 전세계적으로는 연간 60000-90000 명이 사망하는 것으로 추정(전체 유방암 사망률에 근거함)되는, HER2-양성 유방암 환자는 새로운 활성 치료가 필요하다(Levi 외., Eur J Cancer Prev 2005;14:497-502; Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 2010;127:2893-917; SEER cancer statistics review, 1975-2008 [Internet]. Bethesda, MD. National Cancer Institute; November 2010 [2011년 갱신됨]; Malvezzi 외., Ann Oncol 2013; 24:792-800). THER2 양성 유방암을 앓고 있는 환자의 중간 연령은 일반적인 유방암 인구보다 약 5세 어린 50-대 중반이다 (Breast Cancer Res Treat 2008;110:153-9; Breast Cancer Res 2009;11:R31). 여성의 보험 통계적 생존 기간이 > 80세 인 경우, 환자 당 생애 정중 손실 년수는 약 20 년이 된다. 질병이 여전히 유방과 국소 림프절에 국한되어있을 때, 초기 치료 결과를 개선하면 병을 치료할 가능성이 높아질 뿐만 아니라, 치료되지 않은 환자의 질병 재발 및 사망을 지연시킬 수 있다.

[0026] 본 발명은 수술가능한 HER2-양성 원발성(primary) 암을 가진 환자에서 어쥬번트 요법으로써 화학요법 + 트라스투주마브에 추가하여 페러투주마브의 효과 및 안전성을 평가하는 무작위화된, 이중-블라인드, 플라시보-제어된 2-가지 단계 III 임상 연구(유방암의 초기 요법에서 어쥬번트 페러투주마브와 Herceptin (Adjuvant Pertuzumab and Herceptin IN Initial TherapY in Breast Cancer)(APHINITY), NCT01358877/B025126)의 결과에 부분적으로 기초한다.

[0027] 제 1 측면에서, 본 발명은 HER2-양성 초기 유방암 (eBC)으로 진단을 받은 환자의 침습성 유방암의 재발 위험 또는 사망 위험을 감소시키는 방법에 관한 것으로써, 이 방법은 외과수술 후, 트라스투주마브와 화학요법과 조합하여 페러투주마브를 이 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 이때 페러투주마브 없이, 트라스투주마브 및 화학요법의 투여와 비교하여, 침습성 유방암의 재발 또는 사망 위험은 감소된다.

[0028] 한 구체예에서, 상기 환자는 전술한 투여 후, 최소한 1년 동안 침습성 유방암의 재발 없이 생존을 유지한다.

[0029] 제 2 측면에서, 본 발명은 외과수술 후, HER2-양성 초기 유방암 (eBC)을 가진 인간 대상에게 트라스투주마브와 화학요법과 조합하여 페러투주마브를 투여하는 것을 포함하는 어쥬번트 요법 방법에 관한 것으로써, 이때 전술한 요법으로 페러투주마브 없이, 트라스투주마브 및 화학요법의 투여와 비교하였을 때, 투여 후 최소한 1년 동안 전술한 환자의 경우 침습성 유방암의 재발 또는 사망 위험이 감소된다.

[0030] 이들 두 측면에서, 그리고 다양한 구체예에서, 상기 환자는 투여 후 최소한 2 년, 또는 최소한 3 년 동안 침습성 유방암의 재발 없이 생존을 유지할 수 있다.

[0031] 한 구체예에서, 상기 환자는 림프절 양성이다.

[0032] 제 2 구체예에서, 상기 환자는 호르몬 수용체 (HR) 음성이다.

[0033] 제 3 구체예에서, 페러투주마브 없이, 트라스투주마브 및 화학요법의 투여와 비교하였을 때, 침습성 유방암의 재발 또는 사망 위험은 최소한 약 5%, 또는 최소한 약 10%, 또는 최소한 약 15%, 또는 최소한 약 20%, 또는 최소한 약 25% 감소하며, 이를 테면, 페러투주마브 없이, 트라스투주마브 및 화학요법의 투여와 비교하였을 때 최소한 19% 감소한다.

[0034] 제 4 구체예에서, 상기 HER2 양성 암은 HER2 발현 수준이 IHC 2+ 또는 3+으로 특징된다.

[0035] 제 5 구체예에서, 상기 암은 HER2-증폭된 것이며, 여기에서 HER2 증폭은 예를 들면, 형광 제자리 혼성화법 (FISH)에 의해 결정될 수 있다.

[0036] 제 6 구체예에서, 상기 암은 HER2-돌연변이된, 여기에서 상기 HER2 돌연변이는 예를 들면, HER2의 엑손 20 내의 삽입, HER2의 아미노산 잔기 755-759 주변의 결실, G309A, G309E, S310F, D769H, D769Y, V777L, P780-Y781insGSP, V8421I, R896C 및 2개 또는 그 이상의 독특한 건본에서 발견되는 다른 추정적인(putative) 활성화 돌연변이로 구성된 군에서 선택될 수 있다.

[0037] 페러투주마브 및/또는 트라스투주마브는 정맥내로 또는 피하로 투여될 수 있다.

- [0038] 다양한 구체예에서, 페러투주마브 및 트라스투주마브는 전형적으로 매 3주 마다 투여된다.
- [0039] 하나의 투여 일정에 따라, 페러투주마브는 840 mg IV 로딩 용량(loading dose)으로 투여되고, 이어서 매 3주 마다 IV로, 420 mg이 제공된다.
- [0040] 하나의 투여 일정에 따르면, 트라스투주마브는 8 mg/kg 정맥내 (IV) 로딩 용량으로 투여되고, 이어서 매 3주 마다 IV 주입에 의해 6 mg/kg이 투여된다.
- [0041] 또다른 투여 일정에 따르면, 페러투주마브는 피하로 1200 mg의 로딩 용량이 투여되고, 매 3주 마다 600 mg이 투여된다.
- [0042] 페러투주마브 및 트라스투주마브는 2개의 별개의 피하 주사에 의해 피하로 공동-투여될 수 있거나, 또는 단일 피하 주사로 공동-혼합될 수 있거나, 또는 피하 투여를 위하여 단일 공동-제형으로 투여될 수 있다.
- [0043] 한 구체예에서, 페러투주마브 및 트라스투주마브는 최소한 52 주 동안 투여된다.
- [0044] 또다른 구체예에서, 화학요법 후 페러투주마브 및 트라스투주마브가 투여된다.
- [0045] 화학요법은 안트라사이클린-기반의 화학요법을 포함할 수 있거나, 또는 비(non)-안트라사이클린-기반의 화학요법일 수 있다.
- [0046] 한 구체예에서, 화학요법은 5-플루오루우라실+ 에피루비친 또는 독소루비친 + 사이클로포스파미드의 투여를 포함하며, 임의선택적으로 탁산, 가령, 도세탁셀 및/또는 파클리탁셀의 투여를 더 포함할 수 있다.
- [0047] 제 2 구체예에서, 화학요법은 독소루비친 또는 에피루비친 + 사이클로포스파미드의 투여를 포함하고, 임의선택적으로 탁산, 가령, 도세탁셀 및/또는 파클리탁셀의 투여를 더 포함할 수 있다.
- [0048] 상기 비-안트라사이클린-기반의 화학요법은 예를 들면, 도세탁셀 + 카르보플라틴의 투여를 포함한다.
- [0049] 또다른 측면에서, 본 발명은 페러투주마브를 포함하는 바이알 및 포장 삽입물을 포함하는 제조 물품에 관한 것이며, 이때 상기 포장 삽입물은 본원에서 기술된 바와 같이, 전술한 페러투주마브를 투여하는 지침을 제시한다.
- [0050] 여전히 또다른 측면에서 본 발명은 페러투주마브 및 트라스투주마브 및 포장 삽입물을 포함하는 제조 물품에 관한 것이며, 이때 상기 포장 삽입물은 본원에서 기술된 바와 같이, 페러투주마브 및 트라스투주마브를 투여하는 지침을 제시한다.
- [0051] 추가 구체예에서, 본 발명은 본원에서 기술된 바와 같이, HER2-양성 조기 유방암 (eBC) 환자의 치료를 위하여 트라스투주마브와 조합하여 사용하기 위한 페러투주마브 조성물에 관한 것이다.
- [0052] 여전히 추가 구체예에서, 본 발명은 본원에서 기술된 바와 같이, HER2-양성 조기 유방암 (eBC) 환자를 위한 약물 제조에 있어서 트라스투주마브와 조합하여 페러투주마브의 사용에 관한 것이다.
- [0053] 이들 및 추가의 측면 및 구체예는 관련 기술 분야의 개시 및 일반적 지식에 기초하여 당업자에게 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0054] 도 1은 상기 HER2 단백질 구조를 도시하고, 그리고 이의 세포외 도메인의 도메인 I-IV (차례로 서열 번호.1-4)의 아미노산 서열을 제공한다.
- 도 2a 및 2b는 뮤린 단일클론 항체 2C4의 가변 경쇄 (V_L) (도 2A) 및 가변 중쇄 (V_H) (도 2B) 도메인의 아미노산 서열 (서열 번호. 5 및 6, 차례로); 변이체 574/페러투주마브의 V_L 및 V_H 도메인의 아미노산 서열 (서열 번호. 7 및 8, 차례로), 그리고 인간 V_L 및 V_H 콘센수스 틀구조 (hum κ 1, 경쇄 카파 하위그룹 I; humIII, 중쇄 하위그룹 III)의 아미노산 서열 (서열 번호. 9 및 10, 차례로)의 정렬을 제시한다. 별표는 페러투주마브와 뮤린 단일클론 항체 2C4의 가변 도메인간의 차이, 또는 페러투주마브와 인간 틀구조의 가변 도메인 간의 차이를 표시한다. 상보성 결정 영역 (CDRs)은 대괄호로 표시한다.
- 도 3a 및 3b는 페러투주마브 경쇄 (도 3a; 서열 번호. 11) 및 중쇄(도 3b; 서열 번호. 12)의 아미노산 서열을 나타낸다. CDR은 굵게 표시된다. 상기 경쇄와 중쇄의 산출 분자량은 23,526.22 Da 및 49,216.56 Da (환원된 형태의 시스테인)이다. 탄수화물 모이어티는 중쇄의 Asn 299에 부착된다.

도 4a 및 4b는 차례로 트라스투주마브 경쇄 (도 4a; 서열 번호. 13) 및 중쇄(도 4b; 서열 번호. 14)의 아미노산 서열을 나타낸다. 상기 가변 경쇄 및 가변 중쇄 도메인의 경계는 화살표로 표시된다.

도 5a 및 5b는 차례로 변이체 페러투주마브 경쇄 서열 (도 5a; 서열 번호. 15) 및 변이체 페러투주마브 중쇄서열 (도 5b; 서열 번호. 16)을 나타낸다.

도 6a는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 수술가능한 HER2-양성 조기 유방암 (eBC)에서 어쥬번트 페러투주마브 기반의 요법의 효과를 평가하는 APHINITY 임상 시험의 개요를 나타낸다. 주석: ^a트라스투주마브 6 mg/kg IV q3 주, 페러투주마브 420 mg IV q3 주; ^b 안트라사이클린-기반의 요법과 탁산, 또는 탁스테레(Taxotere)와 카르보플라틴; ^cHER2 요법, 1 년 (52 주) 동안. 약어: HER: 인간 상피 성장-인자 수용체; IV: 정맥내; q3 주: 매 3주마다.

도 6b는 안트라사이클린 기반의 화학요법을 이용한 APHINITY 임상 시험의 연구 계획안을 나타낸다.

도 6c는 비-안트라사이클린 기반의 화학요법을 이용한 APHINITY 임상 시험의 연구 계획안을 나타낸다.

도 7a는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 차례로 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=2400) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=2404)로 치료를 받은 환자에게서 일차 임상 종말점으로써 침습성 질환 없는 생존 (iDFS)을 이용한 효과 결과를 나타낸다.

도 7b는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 차례로 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=2400) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=2404)로 치료를 받은 환자에게서 원위 재발-없는 기간(개월)(Distant Recurrence-Free Interval)의 Kaplan-Meier 플롯을 나타낸다.

도 8a는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 차례로 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=1503) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=1502)로 치료를 받은 림프절(node) 양성 유방암 환자에서 효과 결과 (iDFS)를 나타낸다.

도 8b는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=1503) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=1502)로 치료를 받은 유방암 환자의 림프절 양성 코호트에서 치료 요법에 의한 첫번째 IDFS 사례까지의 시간(개월)에 대한 Kaplan-Meier 플롯을 나타낸다.

도 8c는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=987) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=902)로 치료를 받은 유방암 환자의 림프절 음성 코호트에서 치료 요법에 의한 첫번째 IDFS 사례까지의 시간(개월)에 대한 Kaplan-Meier 플롯을 나타낸다.

도 9a는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 차례로 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=864) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=858)로 치료를 받은 중심 호르몬 수용체 음성 유방암 환자에게서 효과 결과 (iDFS)를 나타낸다.

도 9b는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 차례로 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=864) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=858)로 치료를 받은 중심호르몬 수용체 음성 환자에게서 치료 요법에 의한 첫번째 IDFS 사례까지의 시간(개월)에 대한 Kaplan-Meier 플롯을 나타낸다.

도 9c는 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 차례로 페러투주마브 + 트라스투주마브 (n=1536) 및 플라스비오 + 트라스투주마브 (n=1546)로 치료를 받은 중심호르몬 수용체 양성 환자에게서 치료 요법에 의한 첫번째 IDFS 사례까지의 시간(개월)에 대한 Kaplan-Meier 플롯을 나타낸다.

도 10은 실시예 1에서 기술된 바와 같이, 치료 요법 (차례로, 페러투주마브 (Ptz) + 트라스투주마브 (H) + 화학요법 (n=2400) 및 플라스비오 (Pla) + 트라스투주마브 + 화학요법 (n=2404)로 치료를 받은 환자)에 의해 검열된 환자들, ITT 집단을 나타내는, 첫번째 IDFS 사례까지의 시간(개월)에 대한 Kaplan-Meier 플롯을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

바람직한 구체예들의 상세한 설명

I. 정의

본원에 사용된 용어 "화학 요법(chemotherapy)"이란 하기에 정의된 바와 같은 화학요법의 투여를 포함하는 치료를 의미한다.

- [0058] "생존"은 살아남은 환자를 말하며, 전체 생존 뿐만 아니라 무-진행(progression free) 생존을 포함한다.
- [0059] "전체 생존(Overall survival)" 또는 "OS"는 진단 또는 치료 시점부터 1 년, 5 년 등과 같이 특정된 시간 동안 살아남은 환자를 나타낸다. 실시예에서 설명한 임상 시험의 목적을 위해, 전체 생존율(OS)은 환자 집단의 무작위화된 날로부터 임의의 원인으로 인한 사망 일까지의 시간으로 정의된다.
- [0060] "무-진행 생존(Progression free survival)" 또는 "PFS"는 암의 진행이나 악화없이 살아있는 환자를 지칭한다. 실시예에서 기술된 임상 시험의 목적 상, 무-진행 생존(PFS)이란 연구 집단의 무작위 배정일부터 최초 기록된 진행성 질환, 또는 관리 불능의 독성, 또는 임의의 원인으로 인한 사망이든 먼저 발생하는 시점까지의 시간으로 정의된다. 질병 진행은 임상적으로 허용되는 방법으로 문서화할 수 있는데, 이를 테면, 예를 들면, 고형 종양의 반응 평가 기준(RECIST)에 의해 결정된 방사선학적 진행성 질환 (Therasse 외., *J Natl Ca Inst* 2000; 92(3):205-216), 대뇌 척수액의 세포학적 평가로 진단된 암종성 수막염, 및/또는 피하 병변의 흉벽 재발을 모니터링하기 위한 의료 사진에 의해 결정된다.
- [0061] "무-질환 생존 (Disease free survival) 또는 "DFS"란 치료 시작 또는 초기 진단으로부터 약 1 년, 약 2 년, 약 3 년, 약 4 년, 약 5 년, 약 10년과 같은 특정된 기간 동안 암의 재발없이 살아남은 환자를 의미한다. 본 발명의 기저가 되는 연구에서, DFS는 계획된 치료 원리(intent-to-treat principle)에 따라 분석되고, 즉, 환자는 그들에게 할당된 치료에 기초하여 평가된다. DFS 분석에 사용된 이벤트에는 암의 국소 재발, 지역적 및 원격 재발, 이차 암 발생, 이전 사건(유방암의 재발 또는 2차 원발성 암)이 없는 환자의 임의의 원인으로 인한 사망이 포함된다.
- [0062] "iDFS"의 "침습성 질환-없는 생존(Invasive Disease-Free Survival)"이란 본원에서 정의된 바와 같이, 어쥬버트 치료 이후, 임의의 부위에서 침습성 유방암의 재발 없이, 또는 임의의 원인으로 사망까지 환자가 살아온 시간을 말한다. 환언하면, iDFS는 치료 시작 또는 초기 진단으로부터 어쥬버트 치료 후 일정 시간, 이를 테면 약 1 년, 약 2 년, 약 3 년, 약 4 년, 약 5 년, 약 10 년, 등 동안 침습성 질환의 재발 없이 상기 환자가 살아 있는 시간(생존)으로 정의된다. 한 구체예에서, iDFS는 치료 개시로부터 약 1 년, 또는 약 3 년이다.
- [0063] "생존 기간 연장(extending survival)"이란 치료되지 않은 환자에 비교하여 및/또는 하나 이상의 승인된 항암제로 치료되었으나 본 발명에 따른 치료를 받지 않은 환자에 비교하여, 본 발명에 따라 치료된 환자에서 전체 또는 무-진행 생존을 증가시키는 것을 의미한다. 특정 실시예에서, "생존의 연장"이란 트라스투주마브 및 화학요법 만으로 치료된 환자에 비교하여, 본 발명의 조합 요법(가령, 페러투주마브, 트라스투주마브 및 화학요법의 조합에 의해 치료)을 받는 암 환자의 무-진행 생존 (PFS) 및/또는 전체 생존 (OS)을 연장시키는 것을 의미한다. 또다른 특정 실시예에서, "생존의 연장"이란 페러투주마브 및 화학요법 만으로 치료된 환자에 비교하여, 본 발명의 조합 요법(가령, 페러투주마브, 트라스투주마브 및 화학요법의 조합에 의해 치료)을 받는 암 환자의 무-진행 생존 (PFS) 및/또는 전체 생존 (OS)을 연장시키는 것을 의미한다.
- [0064] "객관적 반응(objective response)"이란 완전한 반응 (CR) 또는 부분적 반응 (PR)을 포함하여 측정 가능한 반응을 의미한다.
- [0065] "완전한 반응(complete response)" 또는 "CR"이란 치료에 대한 반응으로 암의 모든 징후가 사라지는 것을 의미한다. 이것은 항상 암이 완치되었다는 것을 의미하지는 않는다.
- [0066] "부분적 반응(Partial response)" 또는 "PR"이란 치료에 반응하여 하나 또는 그 이상의 종양 또는 병변 크기의 감소 또는 신체 암의 크기 감소를 나타낸다.
- [0067] "HER 수용체"는 HER 수용체 패밀리에 속하는 수용체 단백질 티로신 키나제이며, EGFR, HER2, HER3 및 HER4 수용체를 포함한다. 상기 HER 수용체는 일반적으로 세포의 도메인(이는 HER 리간드에 결합하거나 및/또는 또다른 HER 수용체 분자와 이량체를 형성하고); 친지성 막경유 도메인; 보존된 세포내 티로신 키나제 도메인; 그리고 몇개의 티로신 잔기(이는 인산화될 수 있는)를 품고 있는 카르복실-말단 신호생성 도메인을 일반적으로 포함할 것이다. 상기 HER 수용체는 "고유(native) 서열" HER 수용체 또는 이의 "아미노산 서열 변이체"일 수 있다. 바람직하게는 상기 HER 수용체는 고유 서열 인간 HER 수용체다.
- [0068] "ErbB2" 및 "HER2"의 표현은 본원에서 호환되며, 예를 들면, Semba 외., *PNAS (USA)* 82:6497-6501 (1985) 및 Yamamoto 외. *Nature* 319:230-234 (1986) (Genebank 수탁 번호 X03363)에서 기술된 바와 같이, 인간 HER2 단백질이다. 용어 "erbB2"는 인간 ErbB2를 인코딩하는 유전자를 지칭하며, "neu"는 랫 p185^{neu}를 인코딩하는 유전자를 지칭한다. 선호되는 HER2는 고유 서열 인간 HER2이다.

- [0069] 본원에서, "HER2 세포외 도메인" 또는 "HER2 ECD"는 세포의 외측에서, 세포 막에 고정되거나, 또는 순환되는 HER2의 도메인을 지칭하는데, 이의 단편도 포함된다. HER2의 아미노산 서열은 도 1에 나타난다. 한 구체예에서, 상기 HER2의 세포외 도메인은 4개의 도메인을 포함할 수 있다: "도메인 I" (아미노산 잔기 약 1-195; 서열 번호:1), "도메인 II" (아미노산 잔기 약 196-319; 서열 번호:2), "도메인 III" (아미노산 잔기 약 320-488; 서열 번호:3), 그리고 "도메인 IV" (아미노산 잔기 약 489-630; 서열 번호:4) (신호 펩티드 없이 번호매김된 잔기). Garrett *외.* *Mol. Cell.* 11: 495-505 (2003), Cho *외.* *Nature* 421: 756-760 (2003), Franklin *외.* *Cancer Cell* 5:317-328 (2004), 그리고 Plowman *외.* *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:1746-1750 (1993) 참고, 뿐만 아니라 본원의 도1 참고.
- [0070] 본원에서 "HER3" 또는 "ErbB3"은 예를 들면, US 특허 번호. 5,183,884 및 5,480,968 뿐만 아니라 Kraus *외.* *PNAS (USA)* 86:9193-9197 (1989)에서 기술된 수용체를 지칭한다.
- [0071] "낮은 HER3"의 암은 이러한 암 유형에서 HER3 발현의 경우 정중 수준보다 적은 수준으로 HER3을 발현시키는 암을 말한다. 한 구체예에서, 상기 낮은 HER3 암은 상피 난소, 복막, 또는 자궁관 암이다. 이 암에서 HER3 DNA, 단백질, 및/또는 mRNA 수준은 상기 암이 낮은 HER3 암인지를 결정하기 위하여 평가될 수 있다. 예를 들면, 낮은 HER3 암에 대한 추가 정보는 US 특허 번호. 7,981,418을 참고한다. 임의선택적으로, HER3 mRNA 발현 검증은 상기 암이 낮은 HER3 암인지를 결정하기 위하여 실행된다. 한 구체예에서, 상기 암에서 HER3 mRNA 수준은 가령, 중합효소 체 반응 (PCR), 이를 테면 정량적 역 전사 PCR (qRT-PCR)을 이용하여 평가된다. 임의선택적으로, 상기 암은 qRT-PCR, 가령, COBAS z480® 기구를 이용하여 평가하였을 때, 약 2.81과 대등한 또는 이 보다 낮은 농도에서 HER3을 발현시킨다.
- [0072] 본원에서 "HER 이량체"는 최소한 2개의 HER 수용체를 포함하는 비공유적으로 연합된 이량체다. 이러한 복합체는 2개 또는 그 이상의 HER 수용체를 발현시키는 세포를 HER 리간드에 노출시켰을 때 형성될 수 있고, 예를 들면, Sliwkowski *외.*, *J. Biol. Chem.*, 269(20):14661-14665 (1994)에서 기술된 것과 같이, 면역침전에 의해 분리되고, SDS-PAGE에 의해 분석될 수 있다. 다른 단백질, 이를 테면 사이토킨 수용체 하위단위(가령, gp130)는 상기 이량체에 연합될 수 있다. 바람직하게는, 상기 HER 이량체는 HER2를 포함한다.
- [0073] 본원에서 "HER 이형이량체"는 최소한 2 가지 상이한 HER 수용체, 이를 테면 EGFR-HER2, HER2-HER3 또는 HER2-HER4 이종이량체를 포함하는 비공유적으로 연합된 이형이량체다.
- [0074] "HER 항체"는 HER 수용체에 결합하는 항체다. 임의선택적으로, 상기 HER 항체는 HER 활성화 또는 기능을 추가 간섭한다. 바람직하게는, 상기 HER 항체는 상기 HER2 수용체에 결합한다. 본원의 관심 대상 HER2 항체는 페러 투주마브 및 트라스투주마브다.
- [0075] "HER 활성화"란 임의의 하나 또는 그 이상의 HER 수용체의 활성화, 또는 인산화를 말한다. 일반적으로, HER 활성화는 신호 변환 (가령, 상기 HER 수용체 또는 기질 폴리펩티드에서 티로신 잔기를 인산화시키는 HER 수용체의 세포내 키나제 도메인에 의해 야기되는)이 초래된다. HER 활성화는 상기 관심대상의 HER 수용체를 포함하는 HER 이량체에 결합하는 HER 리간드에 의해 중개될 수 있다. HER 이량체에 결합하는 HER 리간드는 상기 이량체에서 하나 또는 그 이상의 HER 수용체의 키나제 도메인을 활성화시킬 수 있고, 이로 인하여 하나 또는 그 이상의 HER 수용체에서 티로신 잔기의 인산화 및/또는 추가적인 기질 폴리펩티드(들), 이를 테면 Akt 또는 MAPK 세포내 키나제에 티로신 잔기의 인산화를 초래한다.
- [0076] "인산화(Phosphorylation)"란 단백질, 이를 테면 HER 수용체, 또는 이의 기질에 하나 또는 그 이상의 포스페이트 기(들)의 추가를 의미한다.
- [0077] "HER 이량체화를 저해하는" 항체는 HER 이량체의 형성을 억제, 또는 간섭하는 항체다. 바람직하게는, 이러한 항체는 이의 이형이량체 결합 부위에서 HER2에 결합한다. 본원에서 가장 선호되는 이량체화 억제 항체는 페러 투주마브 또는 MAb 2C4이다. HER 이량체화를 억제하는 항체의 다른 예로는 EGFR에 결합하고, 하나 또는 그 이상의 다른 HER 수용체로 이의 이량체화를 억제시키는 항체 (실시에 EGFR 단일클론 항체 806, MAb 806, 이 항체는 활성화된 또는 "묶여있지 않은(untethered)" EGFR에 결합한다; Johns *외.*, *J. Biol. Chem.* 279(29):30375-30384 (2004) 참고); HER3에 결합하고, 하나 또는 그 이상의 다른 HER 수용체로 이의 이량체화를 억제하는 항체; 그리고 HER4에 결합하고, 하나 또는 그 이상의 다른 HER 수용체로 이의 이량체화를 억제하는 항체다.
- [0078] "HER2 이량체화 억제제"는 이량체의 형성 또는 HER2를 포함하는 이형이량체 형성을 억제하는 물질이다.
- [0079] HER2 상의 "이형이량체 결합 부위"란 EGFR, HER3 또는 HER4과 이량체를 형성할 때, 이들의 세포외 도메인에 있

는 영역과 접촉하거나, 또는 계면하는 영역을 지칭한다. 상기 영역은 HER2의 도메인 II (서열 번호: 15)에서 발견된다. Franklin 외. *Cancer Cell* 5:317-328 (2004).

[0080] "HER2의 이형이량체 결합 부위에 결합하는" HER2 항체는 도메인 II (서열 번호: 2)의 잔기에 결합하고, 임의선택적으로 상기 HER2 세포의 도메인의 다른 도메인, 이를 테면 도메인 I 및 III, 서열 번호: 1 및 3)의 잔기에 또한 결합하고, 그리고 HER2-EGFR, HER2-HER3, 또는 HER2-HER4 이형이량체의 형성을 최소한 어느 정도 공간적으로 방해할 수 있다. Franklin 외. *Cancer Cell* 5:317-328 (2004)는 HER2의 이형이량체 결합 부위에 결합하는 예시적인 항체를 설명하는 RCSB 단백질 데이터 뱅크(Protein Data Bank) (ID 코드 1S78)에 기탁된 상기 HER2-페르투주마브 결정 구조를 특정화시켰다.

[0081] HER2의 "도메인 II에 결합하는" 항체는 도메인 II (서열 번호: 2)의 잔기, 임의선택적으로 HER2의 다른 도메인 (들), 이를 테면 도메인 I 및 III (서열 번호: 1 및 3, 차례로)에 결합한다. 바람직하게는 도메인 II에 결합하는 항체는 HER2의 도메인 I, II 및 III 사이의 접합부에 결합한다.

[0082] 본원에서 목적을 위하여, "페르투주마브"와 "rhuMAb 2C4"는 호환되며, 이들은 차례로 서열 번호: 7 및 8의 가변 경쇄 및 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체를 지칭한다. 여기에서 페르투주마브가 무손상(intact) 항체인 경우, 이 항체는 바람직하게는 IgG1 항체를 포함하고; 한 구체예에서 서열 번호: 11 또는 15의 경쇄 아미노산 서열, 그리고 서열 번호: 12 또는 16의 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 상기 항체는 재조합 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포에 의해 임의선택적으로 생성된다. 본원에서 용어 "페르투주마브" 및 "rhuMAb 2C4"는 미국의약품성분명(United States Adopted Name) (USAN) 또는 국제일반명(International Nonproprietary Name) (INN): 페르투주마브의 약물의 동등생물성(biosimilar) 형태를 포함한다.

[0083] 본원에서 목적을 위하여, "트라스투주마브"와 "rhuMAb4D5"는 호환되며, 차례로 서열 번호: 13 및 14 안에 가변 경쇄 및 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체를 지칭한다. 여기에서 트라스투주마브가 무손상 항체이면, 이는 바람직하게는 IgG1 항체를 포함하고; 한 구체예에서 서열 번호: 13의 경쇄 아미노산 서열과 서열 번호: 14의 중쇄 아미노산 서열을 포함한다. 상기 항체는 임의선택적으로 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포에 의해 임의선택적으로 생성된다. 용어 "트라스투주마브" 및 "rhuMAb4D5"는 미국의약품성분명(United States Adopted Name) (USAN) 또는 국제일반명(International Nonproprietary Name) (INN): 트라스투주마브의 약물의 동등생물성 형태를 포함한다.

[0084] 본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 이용되며, 구체적으로 단일클론 항체, 다중클론 항체, 다중특이성 항체 (가령, 이중특이성 항체), 그리고 바람직한 생물학적 활성을 나타내는 한, 항체 단편을 포함한다.

[0085] 비-인간 (가령, 설치류) 항체의 "인간화된(Humanized)" 형태는 비-인간 면역글로블린으로부터 유도된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체다. 대부분의 경우, 인간화된 항체는 인간 면역글로블린 (수령자 항체)로써, 이때 상기 수령자의 초가변 영역의 잔기는 비-인간 종 (공여자 항체), 이를 테면 원하는 특이성, 친화력, 그리고 능력을 보유한 마우스, 랫, 토끼 또는 비인간 영장류의 초가변 영역의 잔기로 대체된다. 일부 경우에서, 상기 인간 면역글로블린의 틀구조영역 (FR) 잔기는 대응하는 비-인간 잔기로 대체된다. 더욱이, 인간화된 항체는 수령자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 성능을 더욱 개선하기 위해 만들어진다. 일반적으로, 상기 인간화된 항체는 실질적으로 최소한 하나의, 그리고 일반적으로 2개의, 가변 도메인을 포함할 수 있는데, 이때 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 면역글로블린의 것들에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FRs 영역은 인간 면역글로블린 서열의 것이다. 상기 인간화된 항체는 임의선택적으로 면역글로블린 불변 영역 (Fc), 전형적으로 인간 면역글로블린의 최소한 일부분을 또한 포함할 것이다. 더 상세한 내용은 Jones 외., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann 외., *Nature* 332:323-329 (1988); 그리고 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)을 참고한다. 인간화된 HER2 항체는 U.S. 특허 5,821,337(본원의 참고자료에 명시적으로 편입되고)의 표 3에서 기술하는, 그리고 본원에서 정의된 트라스투주마브 (HERCEPTIN®); 그리고 본원에서 기술되고, 정의된 인간화된 2C4 항체 이를 테면 페르투주마브를 특이적으로 포함한다.

[0086] 본원에서 "무손상 항체(intact antibody)"란 2 가지 항원 결합 영역, 그리고 Fc 영역을 포함하는 항체다. 바람직하게는, 상기 무손상 항체는 기능적 Fc 영역을 갖는다.

[0087] "항체 단편"은 무손상 항체의 일부분을 포함하며, 바람직하게는 이의 항원 결합 영역을 포함한다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂, 그리고 Fv 단편; 디아바디(diabodies); 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자; 그리고 항체 단편(들)로부터 형성된 다중특이성 상체를 포함한다.

- [0088] "고유 항체(Native antibodies)"는 보통 약 150,000 달톤의 이중사량체 당단백질로써, 2개의 동일한 경(L)쇄와 2개의 동일한 중(H)쇄를 포함한다. 각 경쇄는 하나의 공유 이황화 결합에 의해 중쇄에 연계되며, 한편 이황화 연계의 수는 상이한 면역글로블린 아이소타입(isotypes)의 중쇄에서 가변적이다. 각 중쇄 및 경쇄는 규칙적으로 공간을 두고 있는 쇠내 이황화 다리를 또한 갖는다. 각 중쇄는 하나의 단부 가변 도메인 (V_H)에 다수의 불변 도메인을 가진다. 각 경쇄는 한 단부에는 가변 도메인 (V_L)을 그리고 이의 또다른 단부에는 불변 도메인을 갖는다. 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제 1 불변 도메인과 나란하며, 경쇄-가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 나란히 있다. 특정 아미노산 잔기는 이 경쇄와 중쇄 가변 도메인 사이 경계면을 형성하는 것으로 보인다.
- [0089] 본원에서 사용된 용어 "초가변 영역(hypervariable region)"은 항원-결합을 담당하는 항체의 아미노산 잔기들을 말한다. 상기 초가변 영역은 일반적으로 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"으로부터 아미노산 잔기 (가령, 경쇄 가변 도메인에서 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3) 그리고 중쇄가변 도메인에서 31-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3); Kabat 외., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) 및/또는 "초가변 루프"에서의 이들 잔기 (가령, 경쇄 가변 도메인에서 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2) 및 91-96 (L3)와 중쇄 가변 도메인에서 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3); Chothia and Lesk J. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))를 포함한다. "틀구조 영역(Framework Region)" 또는 "FR" 잔기는 본원에서 정의된 바와 같이, 초가변 영역 잔기이외의 가변 도메인 잔기들이다.
- [0090] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 고유 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함하는, 면역글로블린 중쇄의 C-말단 영역을 특정하는데 이용된다. 면역글로블린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 가변적일 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226, 또는 Pro230에서 아미노산 잔기로부터 카르복실-말단까지 이어지는 것으로 보통 특정된다. Fc 영역의 C-말단 리신 (EU 번호매김 시스템에 따라 잔기 447)은 예를 들면, 상기 항체의 생산 또는 정제 동안, 또는 상기 항체의 중쇄를 인코딩하는 핵산의 재조합 조작에 의해 제거될 수 있다. 따라서, 무손상 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, K447 잔기가 어느 것도 제거되지 않는 항체 집단, 그리고 K447 잔기가 있는, 그리고 이 잔기가 없는 항체의 혼합물을 갖는 항체 집단을 포함할 수 있다.
- [0091] 다른 언급이 없는 한, 본원에서 면역글로블린 중쇄에서 잔기의 번호매김은 Kabat 외., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)(명시적으로 본원의 참고자료에 편입됨)에서와 같이 EU 색인이다. "Kabat와 같은 EU 색인"이란 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 번호매김을 말한다.
- [0092] "기능적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 "작동체(effector) 기능"을 보유한다. 예시적인 "작동체 기능"은 C1q 결합; 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개된 세포독성 (ADCC); 식작용; 세포 표면 수용체들 (예로써 B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절, 등을 포함한다. 이러한 작동체 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인 (가령, 항체 가변 도메인)과 결합될 것을 요구하며, 예를 들면, 본원에서 개시된 바와 같이, 다양한 분석법을 사용하여 평가할 수 있다.
- [0093] "고유의(native) 서열 Fc 영역"은 자연계에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 고유 서열 인간 Fc 영역은 고유 서열 인간 IgG1 Fc 영역 (비-A 및 A 동종이형(allotypes)); 고유 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 고유 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 그리고 고유 서열 인간 IgG4 Fc 영역 뿐만 아니라 자연적으로 생성되는 이의 변이체를 포함한다.
- [0094] "변이체 Fc 영역"은 최소한 하나의 아미노산 변형, 바람직하게는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환(들)에 의해 고유 서열 Fc 영역과는 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 상기 변이체 Fc 영역은 고유 서열 Fc 영역 또는 부모 폴리펩티드의 Fc 영역과 비교하였을 때, 최소한 하나의 아미노산 치환, 가령, 약 1 내지 약 10개 아미노산 치환, 그리고 바람직하게는 고유 서열 Fc 영역 또는 부모 폴리펩티드의 Fc 영역에서 약 1 내지 약 5 아미노산 치환을 포함한다. 본원에서 변이체 Fc 영역은 바람직하게는 고유 서열 Fc 영역 및/또는 부모 폴리펩티드의 Fc 영역과 최소한 약 80% 상동성(homology), 그리고 가장 바람직하게는 최소한 약 90% 상동성, 더욱 바람직하게는 최소한 약 95% 상동성을 갖는다.
- [0095] 이들 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 무손상 항체는 상이한 "부류"에 할당될 수 있다. 5가지 주요 부류의 무손상 항체가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 그리고 IgM, 그리고 IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM, 그리고 이들중 몇 가지는 하위부류(이소타입), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, 및 IgA2로 더 세분될 수 있다. 항체의 상이한 부류에 대응하는 중쇄-불변 도메인은 차례로 α , δ , ϵ , γ , 그리고 μ 로 불린다. 상

이한 부류의 면역글로불린의 하위단위 구조 및 3-차원 배치가 잘 알려져 있다.

- [0096] "네이키드(naked) 항체"는 이질성 모이어티, 이를 테면, 세포독성 모이어티 또는 방사능라벨에 접합되지 않은 항체를 말한다.
- [0097] "친화력 발달된(affinity matured)" 항체는 이러한 변이(들)을 소유하지 않는 부모 항체와 비교하였을 때, 항원에 대한 상기 항체의 친화력의 개선을 초래하는 하나 또는 그 이상의 초가변 영역에서 하나 또는 그 이상의 변이를 갖는 항체다. 선호되는 친화력 발달된 항체는 표적 항원에 대하여 나노몰 또는 심지어 피코몰 친화력을 보유할 것이다. 친화력 발달된 항체는 당분야에 공지된 절차에 의해 생성된다. Marks *외.* *Bio/Technology* 10:779-783 (1992)에서는 VH 및 VL 도메인 셔플링(shuffling)에 의한 친화력 발달이 기재되어 있다. CDR 및/또는 틀구조 잔기의 무작위 돌연변이생성은 다음에서 기술된다: Barbas *외.* *Proc Nat. Acad. Sci, USA* 91:3809-3813 (1994); Schier *외.* *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton *외.* *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson *외.*, *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); 그리고 Hawkins *외.* *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).
- [0098] "탈아미드화된(deamidated)" 항체는 이의 하나 또는 그 이상의 아스파라긴 잔기가 가령, 아스파르트산, 숙시니미드, 또는 이소-아스파르트산로 유도체화된 항체다.
- [0099] 용어 "암"과 "암의(cancerous)"란 조절불가능한 세포 성장을 전형적으로 특징으로 하는 포유류의 생리학적 상태를 지칭하거나 또는 설명한다.
- [0100] 본원에서 사용된 "초기-단계 유방암" 또는 "조기 유방암" 또는 "eBC"이란 유방암이나 겨드랑이 림프절을 넘어서 퍼지지 않은 유방암을 의미한다. 이러한 암은 일반적으로 네오어췌번트 또는 어췌번트 요법으로 치료된다.
- [0101] "진행된(advanced)" 암은 국소 침범 또는 전이에 의해 최초 장기(organ) 또는 부위 밖으로 전이된 암이다. 따라서, "진행성" 암이란 국소 진행성 및 전이성 질환, 이를 테면 "진행된 유방암"을 모두 포함한다.
- [0102] "불응성(refractory)" 암은 화학 요법과 같은 항-종양 제제가 암 환자에게 투여되고 있음에도 불구하고 진행되는 암이다. 불응성 암의 예로는 백금 불응성이다.
- [0103] "재발성(recurrent)" 암은 초기 치료, 이를 테면, 외과술에 대한 반응 후에 초기 부위 또는 먼 부위에서 재성장된 암이다.
- [0104] "국소 재발(locally recurrent)" 암은 이전에 치료한 암과 동일한 장소에서 치료 후 다시 나타나는 암이다.
- [0105] "비-절제성(non-resectable)" 또는 "절제 불가능한(unresectable)"암은 수술로 제거(절제)될 수 없다.
- [0106] "어췌번트 요법(Adjuvant therapy)" 또는 "어췌번트 치료(adjuvant treatment)" 또는 "어췌번트 투여(adjuvant administration)"는 외과술 후 제공되는 전신(systemic) 요법이다. 어췌번트 치료는 질병의 재발 위험을 줄이기 위해, 잔여 질환의 증거가 발견되지 않도록, 완결 수술 후 제공되는 치료를 의미한다. 어췌번트 치료의 목표는 암의 재발을 방지하고, 따라서 암-관련된 사망 가능성을 줄이는 것이다.
- [0107] "완결 수술(Definitive surgery)"은 종양 및 주변 조직 뿐만 아니라 임의의 관련된 림프절의 완전한 제거를 말한다. 그러한 수술은 종괴절제술(lumpectomy), 유방 절제술, 이를 테면, 전체 유방절제술+겨드랑이 절제술, 이중 유방 절제술 등을 포함한다.
- [0108] "림프절(Node)-양성" 또는 "림프절 양성(lymph node positive)" 유방암은 영역적 림프절 (통상 팔 아래부분)로 퍼지는 유방암이다. 본원에서 림프절-양성 유방암을 갖는 대상은 1-3개의 관련된 결절; 4-9개의 관련된 결절; 그리고 10개 또는 그 이상의 관련된 결절을 갖는 대상을 포함한다. 4개 또는 그 이상의 관련된 결절을 갖는 대상은 관련된 결절이 적거나 또는 없는 대상보다 재발 위험이 더 높다.
- [0109] "에스트로겐 수용체 (ER) 양성" 암은 ER 발현에 대하여 양성인 암이다. 반대로, "ER 음성" 암은 그러한 발현에 대하여 음성이다. ER 상태의 분석은 당업계에 공지된 임의의 방법으로 수행될 수 있다. 본 연구의 목적 상, ER-양성 종양은 텍스트란-코팅된 목탄 또는 수크로즈-밀도 구배 방법에 의해 ≥ 10 fmol/mg 세포질 단백질로 정의되거나, 또는 효소 면역검정(EIA) 방법에 의한 양성 (개별 실험실 기준 사용) 또는 면역세포화학 분석법에 의해 측정될 수 있다.
- [0110] "암 재발"이란 치료 후 암이 되돌아 오는 것을 말하며, 유방 뿐만 아니라 원거리에 암이 재발하는 것을 포함하는데, 여기에서 상기 암은 유방의 외측에 되돌아 오는 것을 말한다.
- [0111] "암 재발의 위험이 높은" 대상은 암의 재발 가능성이 더 큰 대상으로써, 예를 들면, 상대적으로 젊은(가령, 약

50 세 미만) 대상, 양성 림프절, 구체적으로 4개 또는 그 이상의 관련된 림프절 (4-9개의 관련된 림프절, 그리고 10개 또는 그 이상의 관련된 림프절을 포함)을 가진 대상, 직경이 2 cm 이상인 종양을 가진 대상, HER2-양성 유방암을 가진 대상, 그리고 호르몬 수용체 음성 유방암 (가령, 에스트로겐 수용체 (ER) 음성 및 프로게스테론 수용체 (PR) 음성)을 가진 대상이다. 대상의 위험 수준은 숙련된 의사가 결정할 수 있다. 일반적으로, 이러한 고위험 대상은 림프절이 연루되어 있을 것이고 (예를 들면, 4개 또는 그 이상의 관련된 림프절); 그러나, 림프절 연루가 안된 대상 또한 고위험일 수 있는데, 예를 들면, 이들 종양이 2 cm이거나 또는 그 이상인 경우다.

- [0112] "프로게스테론 수용체 (PR) 양성" 암은 PR 발현에 대한 양성인 암이다. 반대로, "PR 음성"암은 그러한 발현에 대하여 음성이다. PR 상태의 분석은 당업계에 공지된 임의의 방법으로 수행될 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, 허용 가능한 방법은 텍스트란-코팅된 목탄 또는 수크로즈-밀도 구배 방법, 효소 면역검증 (EIA) 기술, 그리고 면역세포화학 검증이다.
- [0113] "네오어쥬번트 요법" 또는 "네오어쥬번트 치료" 또는 "네오어쥬번트 투여"는 수술전 제공되는 전신 요법을 지칭한다.
- [0114] 본원에서, "치료의 개시"는 종양의 외과적 제거 후, 치료 요법의 시작을 말한다. 한 구체예에서, 이는 수술 후 AC의 투여를 지칭할 수 있다. 대안으로, 이것은 HER2 항체 및/또는 화학 요법제의 초기 투여를 지칭할 수 있다.
- [0115] HER2 항체 및 화학요법제의 "최초 투여"는 치료 스케줄의 일부로서 HER2 항체 또는 화학요법제의 제 1 투여량 (dose)을 의미한다.
- [0116] 본원에서 암을 "치료한다(curing)"는 것은 어쥬번트 요법 시작 후, 약 4 년 또는 약 5 년 후에 암 재발이 없다는 것을 의미한다.
- [0117] "전이성 (metastatic)"암이란 신체의 한 부분 (가령, 유방)에서 신체의 다른 부분으로 퍼진 암을 지칭한다.
- [0118] 본원에서, "환자" 또는 "대상"은 인간 환자다. 이 환자는 "암 환자", 즉 암, 특히 유방암의 하나 이상의 증상을 앓고 있거나 고통을 받을 위험에 처한 환자일 수 있다.
- [0119] "환자 집단"이란 암 환자군을 지칭한다. 이러한 집단은 약물, 이를 테면 페러투주마브 및/또는 트라스투주마브의 통계적으로 유의미한 효능 및/또는 안전성을 입증하는 데 사용될 수 있다.
- [0120] "재발된(relapsed)" 환자는 치료 후 암의 징후 또는 증상이 있는 환자다. 임의선택적으로, 상기 환자는 어쥬번트 또는 네오어쥬번트 요법 후 재발되었다.
- [0121] "HER 발현, 증폭, 또는 활성화를 나타내는" 암 또는 생물학적 시료는 진단용 테스트에서 HER 수용체를 발현시키고(과다발현 포함), 증폭된 HER 유전자를 갖고, 및/또는 그렇지 않으면 HER 수용체의 활성화 또는 인산화를 실증하는 것들이다.
- [0122] "HER 활성화를 나타내는" 암 또는 생물학적 시료는 진단 테스트에서 HER 수용체의 활성화 또는 인산화를 실증하는 시료다. 이러한 활성화는 직접적으로 (가령, HER 인산화를 ELISA에 의해 측정하거나) 또는 간접적으로 (가령, 유전자 발현 프로파일링에 의해 또는 HER 이중이량체의 탐지에 의해, 본원에서 설명되고 있음).
- [0123] "HER 수용체 과다발현 또는 증폭"된 암 세포는 동일한 조직 유형의 비-암세포와 비교하였을 때, HER 수용체 단백질 또는 유전자의 수준이 유의적으로 더 높은 세포다. 이러한 과다발현은 유전자 증폭에 의해 또는 증가된 전사 또는 해독이 원인이될 수 있다. HER 수용체 과다발현 또는 증폭은 진단적 또는 예후적 검증에서 세포 표면에 존재하는 HER 단백질의 증가된 수준을 평가함으로써 (가령, 면역조직화학 검증; IHC을 통하여) 결정될 수 있다. 대안으로, 또는 추가적으로, 세포에서 HER-인코딩 핵산 수준은 가령, 형광 제자리 혼성화법(FISH; 1998 년 10월 공개된 W098/45479 참고) 포함한 제자리 혼성화법 (ISH) 및 색원성 제자리 혼성화법 (CISH; 가령, Tanner 외., *Am. J. Pathol.* 157(5): 1467-1472 (2000); Bella 외., *J. Clin. Oncol.* 26: (May 20 suppl: abstr 22147) (2008)), 서브 블랏팅, 또는 중합효소 쉘 반응 (PCR) 기술, 이를 테면 정량적 실시간 PCR (qRT-PCR)을 통하여 측정할 수 있다. 생물학적 유체, 이를 테면 혈청에서 발산(shed) 항원 (가령, HER 세포외 도메인)을 측정함으로써, HER 수용체 과다발현 또는 증폭을 연구할 수 있다 (가령, U.S. 특허 번호. 4,933,294 1990 년 6월 12일자로 등록; W091/05264 1991년 4월 18일자로 공개; U.S. 특허 5,401,638 1995년 3월 28일자로 등록; 그리고 Sias 외. *J. Immunol. Methods* 132: 73-80 (1990) 참고). 상기 분석과는 별도로, 다양한 생체 내 분석법이 숙련된 당업자에게 이용 가능하다. 예를 들면, 검출 가능한 라벨, 가령, 방사성 동위원소로 임의 선택적으로 라벨된 항체에 환자의 신체 내의 세포를 노출시킬 수 있고 그리고 환자의 세포에 대한 항체의 결합

을 가령, 방사능에 대한 외부 스캐닝 또는 항체에 이미 노출된 환자로부터 채취한 생검을 분석함으로써 평가될 수 있다.

[0124] "HER2-양성" 암은 이를 테면, HER2-양성 유방의 HER2의 정상 수준보다 더 높은 수준을 갖는 암 세포들을 포함한다. 임의선택적으로, HER2-양성 암은 면역조직화학 (IHC) 점수 2+ 또는 3+을 갖거나 및/또는 *제자리* 혼성화 (ISH) 증폭 비율 ≥ 2.0 을 가진다.

[0125] 본원에서, "항-종양제"는 암 치료에 사용되는 약물을 의미한다. 본원에서 항-종양제의 비-제한적인 예로는 화학요법제, HER 이량체화 억제제, HER 항체, 종양 연합된 항원을 직접적으로 지향하는 항체, 항-호르몬 화합물, 사이토킨, EGFR-표적화된 약물, 항-맥관형성제, 티로신 키나제 억제제, 성장 억제성 물질 및 항체, 세포독성제, 세포자멸을 유도하는 항체, COX 억제제, 파르네실 전이효소 억제제, 종양성태아(oncofetal) 단백질 CA 125에 결합하는 항체, HER2 백신, Raf 또는 ras 억제제, 리포좀 독소루비친, 토포테칸, 탁산, 이중 티로신 키나제 억제제, TLK286, EMD-7200, 페러투주마브, 트라스투주마브, 에르로티니브(erlotinib), 그리고 베바씨주마브(bevacizumab)를 포함한다.

[0126] "에피토프 2C4"는 항체 2C4가 결합하는 HER2의 세포외 도메인에 있는 영역이다. 2C4 에피토프에 필수적으로 결합하는 항체를 스크리닝하기 위하여, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)에서 설명된 것과 같은 일상적인 교차 차단 분석(cross-blocking assay)을 수행할 수 있다. 바람직하게는 상기 항체는 2C4가 HER2에 결합하는 것을 약 50% 또는 그 이상으로 차단시킨다. 대안으로, 상기 항체가 HER2의 2C4 에피토프에 필수적으로 결합하는 지를 평가하기 위하여 에피토프 매핑이 실행될 수 있다. 에피토프 2C4는 HER2의 세포외 도메인 안에 도메인 II(서열 번호:2)의 잔기들을 포함한다. 2C4 및 페러투주마브는 도메인 I, II 및 III의 접합부(junction)(서열 번호: 1, 2, 그리고 3, 차례로)에서 상기 HER2의 세포외 도메인에 결합한다. Franklin 외. *Cancer Cell* 5:317-328 (2004).

[0127] "에피토프 4D5"는 항체 4D5 (ATCC CRL 10463) 및 트라스투주마브가 결합하는 HER2의 세포외 도메인에 있는 영역이다. 이 에피토프는 HER2의 막경유 도메인에 근접하고, HER2의 도메인 IV(서열 번호: 4) 안에 있다. 4D5 에피토프에 필수적으로 결합하는 항체를 스크리닝하기 위하여, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow and David Lane (1988)에서 설명된 것과 같은 일상적인 교차 차단 분석(cross-blocking assay)을 수행할 수 있다. 대안으로, 상기 항체가 HER2의 4D5 에피토프에 필수적으로 결합하는지를 평가하기 위하여 에피토프 매핑이 실행될 수 있다(가령, 상기 HER2 ECD를 포함하는 약 잔기 529 내지 약 잔기 625의 영역에서 임의의 하나 또는 그 이상의 잔기, 신호 펩티드를 포함하는 잔기 번호매김).

[0128] "치료"는 치료요법적 치료 및 예방적 또는 방지적 조치를 모두 의미한다. 치료가 필요한 사람들은 이미 암을 가진 사람들, 뿐만 아니라 암을 예방해야 하는 사람도 포함된다. 따라서, 여기서 치료될 환자는 암을 가진 것으로 진단되었거나 또는 암에 걸리기 쉽거나 암에 걸린 것으로 의심될 수 있다.

[0129] 용어 "유효량(effective amount)"은 환자에서 암을 치료하는데 효과적인 약물의 양을 지칭한다. 유효량의 약물은 암 세포들의 수를 감소; 종양 크기의 감소; 암 세포가 주변 장기로의 침윤 저해(즉, 어느 정도 지연 및 선택적으로 중단); 종양 전이의 저해(즉, 어느 정도 지연 및 선택적으로 중단); 종양 성장을 어느 정도 저해; 및/또는 암과 연합된 하나 또는 그 이상의 증상을 어느 정도 완화시킬 수 있다. 이 약물이 기존의 암 세포를 증식 및/또는 죽이는 것을 막을 수 있는 정도일 경우, 이들은 세포 증식 억제 및/또는 세포 독성이라고 할 수 있다. 상기 유효량은 무진행-생존(예: 고형 종양 반응 평가 기준(Response Evaluation Criteria for Solid Tumors), RECIST 또는 CA-125 변화에 대한 반응 평가 기준으로 측정)을 연장시킬 수 있고, 객관적 반응(부분 반응, PR 또는 완전 반응, CR 포함), 전체 생존 기간의 증가 및/또는 암의 하나 또는 그 이상의 증상을 호전시킬 수 있다(예: FOSI에서 평가).

[0130] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "세포독성 물질(cytotoxic agent)"은 세포의 기능을 저해 또는 막는 및/또는 세포의 파괴시키는 물질을 지칭한다. 상기 용어에는 방사능활성 동위원소(가령, ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P 및 Lu의 방사능활성 동위원소), 화학치료요법적 물질, 그리고 독소, 이를 테면 세균, 곰팡이, 식물 또는 동물 기원의 작은 분자 독소 및 이의 단편들 및/또는 변이체들이 포함된다.

[0131] "화학요법(chemotherapy)"은 암 치료에 유용한 화학적 화합물의 사용이다. 화학치료요법적 물질의 예로는 알킬화 물질 이를 테면, 티오테파 및 CYTOXAN® 사이클로포스파미드; 알킬 술포네이트 이를 테면 부술포판, 임프로술포판 및 피포술포판; 아지르딘 이를 테면 벤조도파, 카르보퀴온, 메투레도파, 및 우레도파; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 그리고 트리에틸로멜라민이 포함된 에틸렌이민

및 메틸아멜라민; TLK 286 (TELCYTATM); 아세토게닌 (구체적으로 불라타신 및 불라타시논); 델타-9-테트라히드로카나비놀 (드로나비놀, MARINOL®); 베타-라파촌; 라파출; 콜치신; 베틀린산; 캄포토테신 (합성 유사체 토포테칸(HYCANTIN®) 포함), CPT-11 (이리노테칸, CAMPTOSAR®), 아세틸캄포토테신, 스코포렉틴, 그리고 9-아미노캄포토테신; 비로스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (이의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체들을 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포시드; 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체들, KW-2189 및 CB1-TM1을 포함); 에루테로빈; 판크라티스테틴; 사르코딕틴; 스폰기스테틴; 질소 머스타드 이를 테면 클로람부칠, 클로로나파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메크로에타민, 메크로에타민 옥시드 하이드로클로리드, 멜파란, 노뱌비친, 페네스테린, 프레디니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로조우레아 이를 테면 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 그리고 라니무스틴; 비스포스포네이트 이를테면 클로드로네이트; 항생제 이를 테면 에네디네 항생제 (가령, 칼케아미신, 구체적으로 칼케아미신 감마II 그리고 칼케아미신 오메가I1 (가령, Agnew, *Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994)) 및 안트라사이클린 이를 테면 아나마이신, AD 32, 알카루비친, 다우노루비친, 독소루비친, 텍스라조산, DX-52-1, 에피루비친, GPX-100, 이다루비친, 발루비친, KRN5500, 메노가릴, 다이네미친 A 포함한 다이네미친, 에스페라미친, 네오카르지노스타틴 크로모포르 및 관련된 크로모단백질 에네디네 항생제 크로모포르, 아클라시노미신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 각티노마이신, 카라비친, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 데토루비친, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, ADRIAMYCIN® 독소루비친 (몰포리노-독소루비친, 시아노몰포리노-독소루비친, 2-피롤리노-독소루비친, 리포좀 독소루비친, 그리고 데옥시독소루비친 포함), 에소루비친, 마르셀로마이신, 미토마이신 이를 테면 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 퀘라마이신, 로도루비친, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르씨딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 그리고 조루비친; 염산 및 유사체 이를 테면 데노프테린, 프테로프테린, 그리고 트레메트렉세이트; 퓨린 유사체 이를 테면 플루다라빈, 6-멜캅토피린, 티아미프린, 그리고 티오구아닌; 피리미딘 유사체 이를 테면 안시타빈, 아자시타딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 그리고 플루옥스우리딘; 안드로젠 이를 테면 칼루스테론, 드로모스타논 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 그리고 테스트오락톤; 항-아드레날 이를 테면 아미노글루테티미드, 미토탄, 그리고 트릴로스탄; 염산 보충물 이를 테면 폴리닌산 (류코보린); 아세글라톤; 항-폴레이트 항-신형성 물질 이를 테면 ALIMTA®, LY231514 페메트렉세드, 디히드로폴레이트 환원효소 억제제 이를 테면 메토트렉세이트, 항-대사물질 이를 테면 5-플루오로우라실(5-FU) 및 이의 프로드럭 이를 테면 UFT, S-1 및 카페시타빈, 그리고 티미딜레이트 합성효소 억제제 및 글리시나미드 리보뉴클레오타이드 포르밀전이효소 억제제 이를 테면 탈티트렉세드 (TOMUDEX^{RM}, TDX); 디히드로피리미딘 데히드로게나제의 억제제 이를 테면 에닐우라실; 알도스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 암사크린; 베스트루부칠; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지퀴논; 엘포르니틴; 엘리프티니움 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드 이를 테면 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미토산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스테틴; 페나메트; 피라루비친; 로소산트론; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK7 폴리사카라이드 복합체(JHS Natural Products, Eugene, OR); 라즈옥산; 리조신; 시조피란; 시피로게르마니움; 테누아존산; 트리아지퀴온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독신, 베라아쿠린 A, 로리딘 A 및 안커딘); 우레탄; 빈데신 (ELDISINE®, FILDESIN®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로판; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 사이클로포스파미드; 티오테파; 탁산; 클로람부칠; 겐시타빈 (GEMZAR®); 6-티오구아닌; 메르캅토피린; 백금; 백금 유사체 또는 백금-기반의 유사체 이를 테면 시스플라틴, 옥살플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴 (VELBAN®); 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미토산트론; 빈크리스틴 (ONCOVIN®); 빈카 알칼로이드; 비노렐빈(NAVELBINE®); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 셀로다; 이반드로네이트; 토포이소메라제 억제제 RFS 2000; 디플루오르에틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드 이를 테면 레티논산; 상기 것들중 임의의 것의 약학적으로 수용가능한 염, 산 또는 유도체들; 뿐만 아니라 상기 것들의 2개 또는 그 이상의 조합, 이를 테면 CHOP, 사이클로포스파미드, 독소루비친, 빈크리스틴, 그리고 프레드니솔론의 복합 요법의 약어, 그리고 FOLFOX(이는 5-FU 및 류코보린과 복합된 옥살플라틴(ELOXATINTM)을 이용한 치료요법의 약어).

[0132] 또한 이 정의에는 종양에서 호르몬 작용을 조절 또는 억제하는 작용을 하는 항-호르몬제를 포함하는데, 이를 테면 항-에스트로젠 및 선택적 에스트로젠 수용체 조절물질 (SERMs), 예를 들면, 탐옥시펜(NOLVADEX® 탐옥시펜 포함), 탈옥시펜, 드로로옥시펜, 4-히드록시탐옥시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤, 그리고 FARESTON® 토레오미펜; 아르마타제 억제제; 그리고 항-안드로젠 이를 테면 플루타미드, 니루타미드, 비칼루타미드, 루프로리드, 그리고 고세레린; 뿐만 아니라 트로옥사타빈(1,3-디옥살란 뉴클레오시드 시토신 유사체); 안

티센스 올리고뉴클레오타이드, 특히 유착성 세포 증식에 연루된 신호생성 경로에서 유전자 발현을 저해시키는 것들, 이를 테면, 예를 들면, PKC-알파, Raf, H-Ras, 그리고 상피 성장 인자 수용체 (EGF-R); 백신 이를 테면 유전자 요법 백신, 예를 들면, ALLOVECTIN® 백신, LEUVECTIN® 백신, 그리고 VAXID® 백신; PROLEUKIN® rIL-2; LURTOTECAN® 토포이소메라제 1 억제제; ABARELIX® rmRH; 그리고 상기 열거된 것들중 임의의 것의 약제학적으로 수용가능한 염, 산 또는 유도체들.

- [0133] "탁산"은 유사 분열을 억제하고, 미세소관을 방해하는 화학 요법이다. 탁산의 예로는 파클리탁셀 (TAXOL®; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.); 크레모포르-없는 알부민-조작된 파클리탁셀 또는 *nab*-파클리탁셀의 나노입자 제형 (ABRAXANE™; American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois); 그리고 도세탁셀 (TAXOTERE®; Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France)을 포함한다.
- [0134] "안타사이클린(anthacycline)"은 곰팡이 스트렙토코커스 유세티쿠스(*Streptococcus peucetius*)에서 유래된 항생제 유형으로, 예를 들면 다음을 포함한다: 다우노루비친, 독소루비친, 에피루비친, 그리고 앞서 열거된 것들을 포함하는 임의의 다른 안트라사이클린 화학요법제.
- [0135] "안트라사이클린-기반의 화학요법"은 하나 또는 그 이상의 안트라사이클린으로 구성되거나 또는 이를 포함하는 화학요법을 말한다. 예를 들면, 5-FU, 에피루비친, 그리고 사이클로포스파미드 (FEC); 5-FU, 독소루비친, 그리고 사이클로포스파미드 (FAC); 독소루비친 및 사이클로포스파미드 (AC); 에피루비친 및 사이클로포스파미드 (EC); 용량-진한(dose-dense) 독소루비친 및 사이클로포스파미드 (ddAC), 그리고 이와 유사한 것들을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.
- [0136] 본원에서 목적을 위하여, "카르보플라틴-기반의 화학요법"은 하나 또는 그 이상의 카르보플라틴으로 구성되거나 또는 이를 포함하는 화학요법을 말한다. 예로써 TCH (도세탁셀/TAXOL®, 카르보플라틴, 그리고 트라스투주마브/HERCEPTIN®)이다.
- [0137] "아로마타제 억제제(aromatase inhibitor)"는 부신에서 에스트로겐 생성을 조절하는 효소 아로마타제를 억제한다. 아로마타제 억제제의 예로는 다음을 포함한다: 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, MEGASE® 메게스트롤 아세테이트, AROMASIN® 엑세메스탄, 포르메스타니에, 파드로졸, RIVISOR® 보로졸, FEMARA® 레트로졸, 그리고 ARIMIDEX® 아나스트로졸. 한 구체예에서, 본원에서 아로마타제 억제제는 레트로졸 또는 아나스트로졸이다.
- [0138] "항대사물질 (antimetabolite) 화학 요법"은 대사 산물과 구조적으로 유사하지만, 생산적 방식으로 신체에서 사용할 수 없는 약제를 사용하는 것이다. 많은 항대사 화학요법은 핵산, RNA 및 DNA의 생성을 방해한다. 항대사물질 화학요법제의 예로는 겐시타빈(GEMZAR®), 5-플루오로우라실(5-FU), 카페시타빈 (XELODA™), 6-메캅토포린, 메토틱렉세이트, 6-티오구아닌, 페메트렉세드, 라티트렉세드, 아라비노실시토신 ARA-C 시타라빈 (CYTOSAR-U®), 다카바진 (DTIC-DOME®), 아조시토신, 테옥시시토신, 피리디미덴, 플루다라빈 (FLUDARA®), 클라드라빈, 2-데옥시-D-글루코스 등을 포함한다.
- [0139] "화학요법-저항성(chemotherapy-resistant)" 암이란 상기 암 환자가 화학요법 요법을 받는 동안 진행되었다거나 (가령, 상기 환자는 "화학요법 불응성"), 또는 상기 환자는 화학요법 요법을 완료한 후 12개월 이내(가령, 6개월 이내) 암이 진행되었다는 것을 말한다.
- [0140] 용어 "플라틴(platin)"은 본원에서 백금계 화학 요법을 의미하는데, 시스플라틴, 카보플라틴 및 옥살리플라틴을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0141] 용어 "플루오로피리미딘(fluoropyrimidine)"은 본원에서 카페시타빈, 플록스우리딘 및 플루오로우라실 (5-FU)을 포함하지만, 이에 한정되지 않는 항대사물질 화학요법을 지칭하기 위해 사용된다.
- [0142] 본 발명과 관련하여, "화학요법(chemotherapy)"은 안트라 사이클린-기반의 화학 요법 및 비-안트라사이클린-기반의 화학 요법의 표준 케어를 포함하는, 침윤성 유방암의 치료에 사용되는 임의의 화학 요법을 지칭하는데 사용된다. 한 구체예에서, 화학요법은 5-플루오로우라실+ 에피루비친 또는 독소루비친 + 사이클로포스파미드의 투여를 포함하며, 임의선택적으로 탁산, 가령, 도세탁셀 및/또는 파클리탁셀의 투여를 더 포함할 수 있다. 또 다른 구체예에서, 화학요법은 독소루비친 또는 에피루비친 + 사이클로포스파미드의 투여를 포함하고, 임의선택적으로 탁산, 가령, 도세탁셀 및/또는 파클리탁셀의 투여를 더 포함할 수 있다. 상기 비-안트라사이클린-기반의 화학요법은 예를 들면, 도세탁셀 + 카르보플라틴의 투여를 포함한다.
- [0143] 본원에서 치료제의 "고정된(fixed)" 또는 "고른(flat)" 투여량은 환자의 체중 (WT) 또는 신체 표면적 (BSA)에

상관없이, 인간 환자에게 투여되는 투여량을 지칭한다. 따라서 고정 또는 고른 용량은 mg/kg 용량 또는 mg/m² 용량으로 제공되는 것이 아니라, 치료제의 절대량으로 제공된다.

- [0144] 본원에서 "로딩 (loading)" 투여량은 일반적으로 환자에게 투여되는 치료제의 초기 투여량을 포함하고, 그 다음 1 회 또는 그 이상의 유지 투여량(들)이 뒤 따른다. 일반적으로, 한번의 로딩이 투여되지만, 다수의 로딩 또한 본 명세서에서 고려된다. 보통, 유지 투여량(들)으로 달성될 수 있는 것보다 더 일찍 치료제의 원하는 정상 상태(steady-state)의 농도에 도달되도록 하기 위하여, 로딩 투여량(들)은 투여되는 유지 투여량 (들)을 초과하고, 및/또는 로딩 투여량(들)은 유지 투여량(들)보다 더 빈번하게 투여된다.
- [0145] 본원에서 "유지(maintenance)" 투여량은 치료 기간에 걸쳐 환자에게 투여되는 치료제의 하나 또는 그 이상의 투여량을 지칭한다. 일반적으로, 유지 투여량은 이를 테면, 대략 매주, 대략 2 주 마다, 대략 3 주 마다, 또는 대략 4 주 마다, 바람직하게는 3 주 마다와 같은 주기의 처리 간격으로 투여된다.
- [0146] "정맥내" 투여란 환자의 정맥 내로 약물 (가령, 트라스투주마브 및/또는 페러투주마브 및/또는 화학요법)을 투여, 가령, 주입 (정맥 내로 치료 약물을 천천히 주입)하는 것을 말한다.
- [0147] "피하 투여"란 환자의 피부 아래에 약물 (가령, 트라스투주마브 및/또는 페러투주마브 및/또는 화학요법)을 투여하는 것을 말한다.
- [0148] "주입(infusion)" 또는 "주입하는(infusing)"이란 치료 목적을 위해 정맥을 통해 약물-함유 용액을 체내에 도입하는 것을 의미한다. 일반적으로 이것은 정맥용 (IV) 주머니를 통해 이루어진다.
- [0149] "정맥용 주머니(intravenous bag)" 또는 "IV 주머니(bag)"는 환자의 정맥을 통해 투여할 수 있도록 용액을 담을 수 있는 주머니다. 한 구체예에서, 상기 용액은 염수 용액 (가령, 약 0.9% 또는 약 0.45% NaCl)이다. 임의선택적으로, 상기 IV 주머니는 폴리올레핀 또는 폴리비닐 클로라이드로 만든다.
- [0150] "공동-투여(co-administering)"란 두 가지 또는 그 이상의 약물을 연속적으로 주입하는 것이 아니라 동일한 투여 중에 두 가지 (또는 그 이상의) 약물을 정맥 내 투여하는 것을 의미한다. 일반적으로, 이것은 공동-투여전, 두 가지 (또는 그 이상) 약물을 동일한 IV 주머니에 이들을 혼합하는 것을 포함할 것이다.
- [0151] "심장 독성(Cardiac toxicity)"은 약물 또는 약물 조합의 투여로 인한 독성 부작용을 나타낸다. 심장 독성은 다음중 하나 또는 그 이상에 근거하여 평가될 수 있다: 증상이 있는 좌심실 수축 기능 부전 (LVSD) 발생, 또는 울혈성 심부전 (CHF), 또는 좌심실 박출률 (LVEF)의 감소.
- [0152] 페러투주마브를 포함한 약물 조합에 대해 "심장 독성을 증가시키지 않고"라는 문구는 약물 조합에서 페러투주마브 이외의 약물로 치료 한 환자에서 관찰된 것과 동일한 또는 이보다 적은 (가령, 트라스투주마브 및 화학요법, 가령, 도세탁셀의 투여로 발생된 것에 대응하거나 또는 이보다 적은) 심장 독성의 발병률을 의미한다.
- [0153] "바이알(vial)"은 액체 또는 동결 건조된 제제를 보관하기에 적합한 용기를 말한다. 한 구체예에서, 바이알은 일회용 바이알, 마개가 달린 20-cc 일회용 바이알이다.
- [0154] "포장 삽입물" 은 식품의약품국(FDA) 또는 기타 규제 당국의 지시에 따라 모든 처방 의약품 패키지 안에 넣어야 하는 안내지다. 이 안내지에는 일반적으로 약물에 대한 상표, 일반 명칭 및 그 작용 메커니즘이 표시되고; 이의 징조, 금기, 경고, 주의 사항, 부작용 및 약형을 명시하고; 그리고 권장 복용량, 시간 및 투여 경로에 대한 지침이 포함되어 있다.
- [0155] "안전성 데이터"라는 표현은 약물에 대한 부작용을 모니터하고 예방하는 방법에 대한 지침을 포함하여, 약물의 안전성에 관해 사용자를 안내하는 유해 사례의 유형 및 심각성을 보여주는 관리된 임상 시험에서 얻은 데이터와 관련된다. 본원에서 표 3 및 표 4는 페러투주마브에 대한 안전성 데이터를 제시한다. 안전성 데이터는 표 3과 표 4에서 가장 흔한 유해 사례 (AE) 또는 부작용 (ADR) 중 하나 또는 그 이상 (가령, 2, 3, 4가지 또는 그 이상)으로 구성된다. 예를 들어, 안전성 데이터는 본원에 개시된 호중구감소증, 발열성 호중구감소증, 설사 및 /또는 심장 독성에 관한 정보를 포함한다.
- [0156] "유효성 데이터"는 약물이 암과 같은 질병을 효과적으로 치료한다는 것을 보여주는 관리된 임상 시험에서 얻은 데이터를 나타낸다.
- [0157] 2가지 또는 그 이상의 약물, 이를 테면 페러투주마브 및 트라스투주마브의 혼합물을 언급할 때 "안정적인 혼합물"이란 혼합물내 각각의 약물이 하나 이상의 분석 분석에 의해 평가된 바와 같이 혼합물에서 물리적 및 화학적 안정성을 본질적으로 유지한다것을 의미한다. 이 목적을 위한 예시적인 분석 검증법은 다음을 포함한다: 색,

외관 및 투명도(CAC), 농도 및 탁도 분석, 미립자 분석, 크기 배제 크로마토그래피 (SEC), 이온-교환 크로마토 그래피 (IEC), 모세관 구역 전기영동 (CZE), 이미지 모세관 등전점 (iCIEF) 및 역가 분석. 한 구체예에서, 혼합물은 5 °C 또는 30 °C에서 최대 24 시간 동안 안정한 것으로 나타났다.

[0158] 하나 또는 그 이상의 다른 약물과 "동시에(concurrently)" 투여되는 약물은 동일한 치료 주기 동안 하나 이상의 다른 약물과 동일한 치료 일제, 그리고 선택적으로 하나 이상의 다른 약물과 동일한 시점에 투여된다. 예를 들어, 매 3-주마다 암 치료를 받는 경우, 동시에 투여되는 약물은 각각 3-주 주기의 첫날에 투여된다.

[0159] II. 항체 및 화학요법 조성물

[0160] 항체 생산에 사용되는 HER2 항원은 예를 들어, 원하는 항원 HER2 수용체 또는 에피토프를 함유하는 그의 일부의 세포외 도메인의 가용성 형태일 수 있다. 대안으로, 세포 표면에서 HER2를 발현하는 세포(가령, HER2를 과발현 시키도록 형질변환된 NIH-3T3 세포; 또는 SK-BR-3 세포와 같은 암종 세포주, Stancovski 외. *PNAS (USA)* 88:8691-8695 (1991) 참고)를 이용하여 항체를 생성할 수 있다. 항체를 생성시키는데 유용한 다른 형태의 HER2 수용체는 당업자에게 명백할 것이다.

[0161] 본원에서 단일클론 항체를 제조하는 다양한 방법이 당업계에서 이용 가능하다. 예를 들면, 상기 단일클론 항체는 Kohler 외., *Nature*, 256:495 (1975)에 의해 최초 기술된 하이브리도마 방법을 사용하여 재조합 DNA 방법(U.S. 특허 번호. 4,816,567)에 의해 만들어질 수 있다.

[0162] 본 발명에 따라 이용되는 항-HER2 항체, 트라스투주마브 및 페러투주마브는 시판된다.

[0163] (i) 인간화된 항체

[0164] 비-인간 항체를 인간화하는 방법은 당업계에 기재되어 있다. 바람직하게는, 인간화된 항체는 비-인간 공급원으로부터 도입된 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기를 갖는다. 이러한 비-인간 아미노산 잔기는 흔히 "도입(import)" 잔기로 지칭되며, 일반적으로 "도입(import)" 가변 영역에서 가져온다. 인간화는 근본적으로 Winter와 그의 동료의 방법에 따라 수행될 수 있다. (Jones 외., *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann 외., *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen 외., *Science*, 239:1534-1536 (1988)), 인간 항체의 상응하는 서열을 대신하여 추가변 영역 서열을 치환함으로써 제조될 수 있다. 따라서, 이러한 "인간화된" 항체는 키메라 항체이며(U.S. 특허 번호. 4,816,567), 이때 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 적은 도메인이 비-인간 종의 대응 서열로 대체되었다. 실제, 인간화된 항체는 일부 추가변 영역 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기들이 설치류 항체의 유사한 부위의 잔기로 치환된, 전형적으로 인간 항체다.

[0165] 인간화 항체를 만드는데 사용되는 경쇄 및 중쇄 모두의 인간 가변 도메인의 선택은 항원성을 감소시키는데 매우 중요하다. 소위 "최적(best-fit)" 방법에 따르면, 설치류 항체의 가변 도메인의 서열은 알려진 인간 가변-도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 스크리닝된다. 설치류 동물의 서열에 가장 가까운 인간 서열은 인간화 항체에 대한 인간 틀구조 영역 (FR)으로 받아들여진다 (Sims 외., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia 외., *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987)). 다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위그룹의 모든 인간 항체의 콘센수스 서열로부터 유도된 특정 틀구조 영역을 사용한다. 동일한 틀구조가 몇 가지 상이한 인간화된 항체에 사용될 수 있다 (Carter 외., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta 외., *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)).

[0166] 항체가 항원 및 다른 유리한 생물학적 성질에 대한 높은 친화성을 유지하면서 인간화되는 것이 더 중요하다. 이러한 목적을 달성하기 위해, 바람직한 방법에 따라, 인간화된 항체는 부모 서열 및 인간화된 서열의 3 차원 모델을 사용하여 부모 서열 및 다양한 개념적 인간화 산물의 분석 과정에 의해 제조된다. 3-차원 면역글로불린 모델은 일반적으로 이용 가능하며 당업자에게도 잘 알려져 있다. 선택된 후보 면역글로불린 서열의 가능한 3-차원 구조 구조를 설명하고 표시하는 컴퓨터 프로그램이 이용 가능하다. 이러한 디스플레이의 검사는 후보 면역글로불린 서열의 기능에서 잔기의 가능한 역할의 분석을 허용하는데, 가령, 후보 면역글로블린이 항원에 결합하는 능력에 영향을 미치는 잔기의 분석을 허용한다. 이러한 방식으로, FR 잔기는 수용체 및 도입 서열로부터 선택되고 결합되어, 목적 항원 (들)에 대한 증가된 친화력과 같은 원하는 항체 특성이 달성된다. 일반적으로, 추가변 영역 잔기는 항원 결합에 영향을 미치기 위해 직접적으로 그리고 대부분 실질적으로 관련된다.

[0167] US 특허 번호. 6,949,245에서는 HER2에 결합하고 HER 수용체의 리간드 활성화를 차단하는 예시적인 인간화 HER2 항체의 생산을 기술하고 있다.

[0168] 인간화된 HER2 항체는 U.S. 특허 5,821,337(본원의 참고자료에 명시적으로 편입되고)의 표 3에서 기술하는, 그

리고 본원에서 정의된 트라스투주마브; 그리고 본원에서 기술되고, 정의된 인간화된 2C4 항체 이를 테면 페러투주마브를 특이적으로 포함한다.

[0169] 본원에서 인간화된 항체는 예를 들면, 인간 가변 중쇄 도메인에 통합된 비인간 초가변 영역 잔기를 포함하고, 그리고 Kabat 외., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)에서 제시된 가변 도메인 번호매김 체계를 이용할 때, 69H, 71H 및 73H로 구성된 군에서 선택된 위치에 틀구조 영역 (FR) 치환을 더 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 상기 인간화된 항체는 69H, 71H 및 73H의 2개 위치 또는 모든 위치에 FR 치환을 포함한다.

[0170] 본원에서 관심대상의 예시적인 인간화된 항체는 가변 중쇄 도메인 상보성 결정 잔기 GFTFTDXTMX (서열 번호: 17)(여기에서 X는 바람직하게는 D 또는 S이며); DVNPNSGGSIYNQRFKG (서열 번호:18); 그리고/또는 NLGPSFYFDY (서열 번호:19)을 포함하고, 임의선택적으로 이들 CDR 잔기의 아미노산 변형을 포함하는데, 가령, 여기에서 이 변형은 상기 항체의 친화력을 필수적으로 유지시키거나 또는 개선시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 항체 변이체는 상기 가변성 중쇄 CDR 서열에서 약 1 개 내지 약 7 개 또는 약 5 개 아미노산 치환을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어 하기 기재된 바와 같이 친화력 성숙(maturation)에 의해 제조될 수 있다.

[0171] 이 인간화된 항체는 전단락에서 가변 중쇄 도메인 CDR 잔기에 추가하여, 가령, 가변 경쇄 도메인 상보성 결정 잔기 KASQDVSIGVA (서열 번호:20); SASYX¹X²X³, [여기에서 X¹은 바람직하게는 R 또는 L이며, X²는 바람직하게는 Y 또는 E이며, 그리고 X³은 바람직하게는 T 또는 S이며] (서열 번호:21); 및/또는 QQYYIYPYT (서열 번호:22)를 포함할 수 있다. 이러한 인간화된 항체는 임의선택적으로 상기 CDR 잔기의 아미노산 변형을 포함하고, 가령, 여기에서 이 변형은 상기 항체의 친화력을 필수적으로 유지시키거나 또는 개선시킨다. 예를 들면, 관심대상의 항체 변이체는 상기 가변성 경쇄 CDR 서열에서 약 1 개 내지 약 7 개 또는 약 5 개 아미노산 치환을 가질 수 있다. 이러한 항체 변이체는, 예를 들어 하기 기재된 바와 같이 친화력 성숙(maturation)에 의해 제조될 수 있다.

[0172] 본 출원은 또한 HER2에 결합하는 친화력 성숙된 항체를 고려한다. 이 부모 항체는 인간 항체 또는 인간화된 항체일 수 있는데, 가령, 차례로 서열 번호. 7 및 8의 가변 경쇄 및/또는 가변 중쇄 서열 (가령, 페러투주마브의 VL 및/또는 VH를 포함하는)을 포함하는 항체일 수 있다. 페러투주마브의 친화력 성숙된 변이체는 바람직하게는 뮤린 2C4 또는 페러투주마브의 것보다 더 우수한 친화력 (가령, HER2-세포의 도메인 (ECD) ELISA으로 평가하였을 때, 약 2 또는 약 4 배, 내지 약 100 배 또는 약 1000 배 개선된 친화력)으로 HER2 수용체에 결합한다. 치환을 위한 예시적인 가변 중쇄 CDR 잔기는 H28, H30, H34, H35, H64, H96, H99, 또는 2개 또는 그 이상 (가령, 이들 잔기의 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개)의 조합을 포함한다. 변형을 위한 예시적인 가변 경쇄 CDR 잔기는 L28, L50, L53, L56, L91, L92, L93, L94, L96, L97 또는 2개 또는 그 이상의 (가령, 이들 잔기의 2 내지 3, 4, 5 또는 최대 약 10개) 조합을 포함한다.

[0173] 트라스투주마브를 포함하는 인간화된 변이체를 만들기 위한 뮤린 4D5 항체의 인간화는 U.S. 특허 번호. 5,821,337, 6,054,297, 6,407,213, 6,639,055, 6,719,971, 그리고 6,800,738, 뿐만 아니라 Carter 외. PNAS (USA), 89:4285-4289 (1992)에 기술된다. HuMAb4D5-8 (트라스투주마브)는 마우스 4D5 항체보다 3-배 더 단단하게 HER2 항원에 결합하였고, 그리고 인간 작동체(effector) 세포의 존재 하에 인간화된 항체의 유도된 세포 독성 활성을 허용하는 2 차 면역 기능 (ADCC)을 가졌다. HuMAb4D5-8는 V_L κ 하위그룹 I 콘센수스 틀구조에 통합된 가변 경쇄 (V_L) CDR 잔기, 그리고 V_H 하위그룹 III 콘센수스 틀구조에 통합된 가변 중쇄 (V_H) CDR 잔기를 포함하였다. 상기 항체는 V_H의 71, 73, 78, 그리고 93 위치에 틀구조 영역 (FR) 치환(FR 잔기의 Kabat 번호매김; 그리고 V_L의 위치 66에 FR 치환(FR 잔기의 Kabat 번호매김)을 더 포함하였다. 트라스투주마브는 비-A 동종이인 자형(allotype) 인간 γ 1 Fc 영역을 포함한다.

[0174] 인간화된 항체 또는 친화력 성숙된 항체의 다양한 형태가 고려된다. 예를 들면, 인간화된 항체 또는 친화력 성숙된 항체는 항체 단편일 수 있다. 대안으로, 인간화된 항체 또는 친화력 성숙된 항체는 무손상 항체, 이를 테면 무손상 IgG1 항체일 수 있다.

[0175] (ii) 페러투주마브 조성물

[0176] HER2 항체 조성물의 한 구체예에서, 상기 조성물은 주종(main species)으로 페러투주마브 항체와 이의 하나 또는 그 이상의 변이체 혼합물을 포함한다. 본원에서 페러투주마브 주종 항체의 바람직한 선호되는 구체예는 서

열 번호. 5 및 6의 가변 경쇄 및 가변 중쇄 아미노산 서열을 포함하는 항체, 그리고 가장 바람직하게는 서열 번호. 11의 경쇄 아미노산 서열, 그리고 서열 번호. 12의 중쇄 아미노산 서열 (이들 서열의 탈아미드화된 및/또는 산화된 변이체를 포함)을 포함하는 항체다. 한 구체예에서, 상기 조성물은 상기 주종 페르투주마브 항체 및 이의 아미노-말단 리더(leader) 연장부를 포함하는 이의 아미노산 서열 변이체의 혼합물을 포함한다. 바람직하게는, 상기 아미노-말단 리더 연장부는 상기 항체 변이체의 경쇄 상(가령, 상기 항체 변이체의 하나 또는 두 개의 경쇄 상에)에 있다. 상기 주종 HER2 항체 또는 항체 변이체는 전장 항체 또는 항체 단편 (가령, F(ab=)2의 Fab 단편)일 수 있지만, 바람직하게는 모두다 전장 항체이다. 본원에서 상기 항체 변이체는 이의 임의의 하나 또는 그 이상의 중쇄 또는 경쇄 상에 아미노-말단 리더 연장부를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 아미노-말단 리더 연장부는 상기 항체의 하나 또는 두 개의 경쇄 상에 있다. 상기 아미노-말단 리더 연장부는 바람직하게는 VHS-를 포함하거나, 또는 이로 구성된다. 상기 조성물에서 아미노-말단 리더 연장부의 존재는 N-말단 서열 분석, 전하 이중성에 대한 분석 (예를 들면, 양이온 교환 크로마토그래피 또는 모세관 영역 전기영동), 질량분석, 등을 포함하나, 이에 국한되지 않은 다양한 분석학적 기술에 의해 탐지될 수 있다. 상기 조성물 안에 항체 변이체의 양은 일반적으로 상기 변이체를 탐지하는데 이용되는 임의의 검정(바람직하게는 N-말단 서열 분석)의 탐지 한계범위로부터 상기 주종 항체의 양보다 적은 양까지의 범위로 구성된다. 일반적으로, 상기 조성물 안에 항체 분자의 약 20% 또는 그 미만 (가령, 약 1% 내지 약 15%, 예를 들면, 5% 내지 약 15%)은 아미노-말단 리더 연장부를 포함한다. 이러한 % 양은 바람직하게는 정량적 N-말단 서열 분석 또는 양이온 교환 분석 (바람직하게는 고-해상도, 약한 양이온-교환 컬럼, 이를 테면, PROPAC WCX-10™ 양이온 교환 컬럼을 이용하여)을 이용하여 측정된다. 상기 아미노-말단 리더 연장부 변이체 이외에, 주종 항체 및/또는 변이체의 추가 아미노산 서열 변경이 고려되는데, 항체의 하나 또는 두 개 모두의 중쇄 상에 C-말단 리신 잔기를 포함하는 항체, 탈아미드화된 항체 변이체, 등을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0177] 더욱이, 상기 주종 항체 또는 변이체는 당화 변이를 더 포함할 수 있는데, 비-제한적인 예로써 항체의 Fc 영역에 부착된 G1 또는 G2 올리고사카라이드 구조를 포함하는 항체, 항체의 경쇄에 부착된 탄수화물 모이어티를 포함하는 항체 (가령, 상기 항체의 1 또는 2개의 경쇄에 부착된, 예를 들면 하나 또는 그 이상의 리신 잔기에 부착된 하나 또는 두 가지 탄수화물 모이어티, 이를 테면 글루코스 또는 갈락토스), 1 또는 2개의 비-당화된 중쇄를 포함하는 항체, 또는 항체의 1 또는 2개의 중쇄에 부착된 시알화된 올리고사카라이드를 포함하는 항체 등을 포함한다.

[0178] 상기 조성물은 유전적으로 조작된 세포 계통, 가령, 발현시키는 상기 HER2 항체를 발현시키는 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포 계통으로부터 회수되거나, 또는 펩티드 합성에 의해 준비될 수 있다.

[0179] 예시적인 페르투주마브 조성물에 관한 추가 정보는 US 특허 번호. 7,560,111 및 7,879,325, 뿐만 아니라 US 2009/0202546A1을 참고한다.

[0180] (iii) 트라스투주마브 조성물

[0181] 상기 트라스투주마브 조성물은 일반적으로 주종 항체 (차례로 서열 번호: 13 및 14의 경쇄 및 중쇄 서열 포함), 그리고 이의 변이체 형태, 구체적으로 산성 변이체 (탈아미드화된 변이체 포함)의 혼합물을 포함한다. 바람직하게는, 상기 조성물내 이러한 산성 변이체의 양은 약 25% 미만, 또는 약 20% 미만, 또는 약 15% 미만이다. U.S. 특허 번호. 6,339,142 참조. 피크(Peak) A (두 경쇄 모두에서 Asn30은 Asp로 탈아미드화됨); 피크 B (하나의 중쇄에서 Asn55는 isoAsp로 탈아미드화됨); 피크 1 (하나의 경쇄에서 Asn30은 Asp로 탈아미드화됨); 피크 2 (하나의 경쇄에서 Asn30은 Asp로 탈아미드화됨, 그리고 하나의 중쇄에서 Asp102는 isoAsp로 이성체화됨); 피크 3 (주요 피크 형태, 또는 주종 항체); 피크 4 (하나의 중쇄에서 Asp102는 isoAsp로 이성체화됨); 그리고 피크 C (하나의 중쇄에서 Asp102 숙시니미드 (Asu))를 포함하는, 양이온-교환 크로마토그래피에 의해 해리가능한 트라스투주마브 형태에 관하여, Harris et al., J. Chromatography, B 752:233-245 (2001) 참조. 본 발명에서 이러한 변이체 형태 및 조성물이 포함된다.

[0182] (iv) 화학요법

[0183] HER2-양성 조기 유방암 (eBC)의 치료를 위한 표준 화학요법은 안트라사이클린-함유 및 비-안트라사이클린 함유하는 화학요법, 이를 테면 하나 또는 그 이상의 독소루비친, 에피루비친, 5-플루오로우라실+ 에피루비친, 독소루비친 + 사이클로포스파미드, 그리고 탁산 (가령, 도세탁셀 또는 파클리탁셀)으로 치료를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 본 발명의 방법에 이용되는 표준 화학요법은 특히 1) 5-플루오로우라실+ 에피루비친 또는 독소루비친 + 사이클로포스파미드를 3-4 사이클 (q3w), 이어서 4 사이클 (q3w)의 도세탁셀 또는 파클리탁셀의 12 주간의 사이클을 포함한다. 2) 4 사이클 (q3w)의 독소루비친 또는 에피루비친 + 사이클로포스파미드에 이어서 4 사

이클 (q3w)의 도세탁셀 또는 12 주간의 사이클의 파클리탁셀, 그리고 3) (비-안트라사이클린 화학요법 요법) 6 사이클 (q3w)의 도세탁셀 + 카르보플라틴, 실시예 1에서 기술됨. 다양한 표준 화학요법 요법에 이용되는 약물 은 시판되고 있으며, 실시 예 1에서 기술된 바와 같이, 그리고 국소 처방 정보에 따라 투여한다.

[0184] III. 요법에 대한 환자 선별

[0185] HER2의 검출은 본 발명에 따른 치료를 위해 환자를 선택하는데 사용될 수 있다. HER2-양성 암 환자를 식별하기 위하여 FDA-승인된 몇 가지 상용 시험법을 사용할 수 있다. 이들 방법에는 HERCEPTEST[®] (Dako) 및 PATHWAY[®] HER2 (면역조직화학 (IHC) 검증) 및 PathVysion[®] 및 HER2 FISH pharmDx[™] (FISH 검증)을 포함한다. 사용자는 각 분석의 유효성 및 성능에 대한 정보에 관하여 특정 분석 키트의 포장 삽입물을 참조해야 한다.

[0186] 예를 들면, HER2 과다발현은 가령, 상기 HERCEPTEST[®] (Dako)를 이용하여, IHC에 의해 분석될 수 있다. 종양 생검에서 파라핀 내장 조직 절편을 IHC 분석에 적용하여 다음과 같이 HER2 단백질 착색 강도 기준을 부여할 수 있다:

[0187] 점수 0 착색이 관찰되지 않거나 또는 막 착색은 10 % 미만의 종양 세포에서 관찰됨.

[0188] 점수 1+ 종양 세포의 10 % 이상에서 희미하거나/거의 인지할 수 없는 막 착색이 탐지됨. 이들 세포는 막의 일부에서만 착색된다.

[0189] 점수 2+ 종양 세포의 10 % 이상에서 약한 수준 내지 중등도 수준의 완전한 막 착색이 관찰됨.

[0190] 점수 3+ 종양 세포의 10 % 이상에서 중등도 수준 내지 강한 완전 막 착색이 관찰됨.

[0191] HER2 과발현 평가를 위한 0 점 또는 1+ 점 이상의 점수를 갖는 종양은 HER2-음성으로 특징화될 수 있고, 반면 2+ 또는 3+ 점수를 가진 종양은 HER2 양성으로 특징지어질 수 있다.

[0192] HER2를 과발현하는 종양은 세포 당 발현된 HER2 분자의 복제 수에 상응하는 면역조직화학적 점수로 평가할 수 있으며, 생화학적으로 결정될 수 있다:

[0193] 0 = 0-10,000 복사체수/세포,

[0194] 1+ = 최소한 약 200,000개의 복사체수/세포,

[0195] 2+ = 최소한 약 500,000개의 복사체수/세포,

[0196] 3+ = 최소한 약 2,000,000개의 복사체수/세포.

[0197] 티로신 키나제의 리간드-독립적 활성화로 이어지는 HER2의 과다발현이 3+인 수준은 (Hudziak 외., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84:7159-7163 (1987)), 유방암의 대략적으로 30%에서 발생되며, 그리고 이들 환자에서 재발-없는 생존 및 전체 생존은 감소된다 (Slamon 외., *Science*, 244:707-712 (1989); Slamon 외., *Science*, 235:177-182 (1987)).

[0198] HER2 단백질 과다발현과 유전자 증폭의 존재는 매우 연관되며, 따라서, 제자리 혼성화법 (ISH), 가령, 형광 제자리 혼성화법 (FISH) 사용의 대안으로, 또는 추가적으로, 유전자 증폭을 탐지하는 검증을 본 발명에 따른 치료에 적절한 환자를 선별하는데 또한 이용될 수 있다. 이 종양 안에서 HER2 증폭의 정도(만약 존재한다면)를 결정하기 위하여, 포르말린-고정된, 파라핀-매립된 종양 조직에서 FISH 검증, 이를 테면 INFORM[™] (sold by Ventana, Arizona) 또는 PathVysion[®] (Vysis, Illinois)이 실행될 수 있다.

[0199] 가장 일반적으로, HER2-양성 상태는 전술한 방법 중 임의의 방법을 사용하여 보존성 파라핀-매립된 종양 조직을 사용하여 확인된다.

[0200] 바람직하게는, 2+ 또는 3+ IHC 점수를 가지거나, 또는 FISH 또는 ISH 양성인 HER2-양성 환자가 본 발명에 따라 치료를 위해 선택된다.

[0201] 페러투주마브를 이용한 요법에 대하여 환자를 스크리닝하기 위한 대안 검증법은 US 특허 번호. 7,981,418, 및 실시예들을 또한 참고한다.

[0202] IV. 약학 제형

[0203] 선택적 약학적으로 수용가능한 운반체, 부형제 또는 안정화제를 함께 원하는 수준의 순도를 갖는 항체와 혼합함

으로써, 본 발명에 따라 이용된 상기 HER2 항체의 치료 제형이 일반적으로 동결건조된, 저장용 제형 또는 수성 용액 형태로 준비된다(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)). 항체 결정 또한 고려된다 (US 특허 출원 2002/0136719 참고). 수용가능한 운반체, 부형제 또는 안정화제들은 이용되는 투여량 및 농도에서 수령자에게 일반적으로 비독성이며, 그리고 다음을 포함한다: 완충액 이를 테면, 인산염, 시트르산염, 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제 (이를 테면, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토니움 클로라이드; 벤잘코니움 클로라이드; 벤제토니움 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 이를 테면, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르치놀; 시클로헥사놀; 3-펜타놀; 그리고 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 이를 테면 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로블린; 친수성 폴리머 이를 테면 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 이를 테면 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 그리고 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린이 포함된 기타 탄수화물; 킬레이트 물질들, 이를 테면 EDTA; 슈가, 이를 테면, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 카운터-이온, 이를 테면, 나트륨; 금속 복합체들 (예로써 Zn-단백질 복합체들); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 이를 테면 TWEEN™, PLURONICS™ 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG). 동결건조된 항체 제형은 WO 97/04801에 기술되며, 본원의 참고자료에 명시적으로 편입된다.

- [0204] 동결건조된 항체 제형은 U.S. 특허 번호. 6,267,958, 6,685,940 및 6,821,515에 기술되며, 본원의 참고자료에 명시적으로 편입된다.
- [0205] 한 구체예에서, 상기 트라스투주마브 제형은 정맥 내 (IV) 투여를 위해 멸균된 흰색 내지 옅은 황색의, 방부제가 포함되지 않은 동결 건조된 분말로써, 440 mg 트라스투주마브, 400 mg .알파 α, α-트레할로스 탈수화물, 9.9 mg L-히스티딘-HCl, 6.4 mg L-히스티딘, 그리고 1.8 mg 폴리소르베이트 20, USP를 포함한다. 방부제로서 1.1 % 벤질 알코올을 함유하는 주사용 정균 수 (BWF1) 20 mL로 재구성하면 약 6.0의 pH에서 21 mg/mL의 트라스투주마브를 함유 한 다중 용량 용액이 생성된다. 더 상세한 내용은 상기 트라스투주마브 처방 정보를 참고한다.
- [0206] 또다른 구체예에서, 가령, 피하 투여에 적합한 트라스투주마브 제형은 U.S. 특허 번호. 9,345,661에 기술된다. 이 제형은 다음을 포함한다:
- [0207] (a) 약 100 내지 약 150 mg/mL 트라스투주마브;
- [0208] (b) pH 5.5.+-2.0를 제공하는 약 1 내지 약 50 mM의 완충제;
- [0209] (c) 약 150 내지 약 250 mM의 α, α-트레할로스 이수화물 또는 수크로스(제1 안정화제)와 약 5 내지 약 15 mM 메티오닌(제2 안정화제);
- [0210] (d) 약 0.01 내지 약 0.08%의 비이온성 계면활성제; 그리고
- [0211] (e) 약 1'000 내지 16'000 U/mL의 최소한 하나의 히알루론산분해효소(hyaluronidase).
- [0212] 한 구체예에서, 치료용도의 페러투주마브 제형은 20mM 히스티딘 아세테이트, 120mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20, pH 6.0 내에 30 mg/mL 페러투주마브를 포함한다. 대체 페러투주마브 제형은 25 mg/mL 페러투주마브, 10 mM 히스티딘-HCl 완충액, 240 mM 수크로스, 0.02% 폴리소르베이트 20, pH 6.0을 포함한다.
- [0213] 또다른 구체예에서, 치료용 페러투주마브 제형은 피하 투여에 적합하고, 600 mg 페러투주마브(농도 60 mg/mL), 600 mg 트라스투주마브(농도 60 mg/mL), 1,000 U/mL rHuPH20, 20 mM His-HCl pH 5.5, 105 mM 트레할로스, 100 mM 수크로스, 0.04% 폴리소르베이트 20, 10 mM 메티오닌, 그리고 전체 용적 10 mL이 되도록 주사용 멸균수를 포함하고, 이들은 15-mL 바이알 안에 함유될 수 있다.
- [0214] 추가 구체예에서, 치료용 페러투주마브 제형은 피하 투여에 적합하고, 1,200 mg 페러투주마브(농도 80 mg/mL), 600 mg 트라스투주마브(농도 40 mg/mL), 1,000 U/mL rHuPH20, 20 mM His-HCl pH 5.5, 70 mM 트레할로스, 133 mM 수크로스, 0.04% 폴리소르베이트 20, 10 mM 메티오닌, 그리고 전체 용적 15 mL이 되도록 주사용 멸균수를 포함하고, 이들은 20-mL 바이알 안에 함유될 수 있다.
- [0215] 여전히 추가 구체예에서, 가령, 피하 투여에 적합한 페러투주마브 및 트라스투주마브의 공동-제형은 단일 고정 용량의 약 600 mg 페러투주마브 및 단일 고정 용량의 약 600 mg 트라스투주마브, 또는 단일 고정 용량의 약 1200 mg 페러투주마브 및 단일 고정 용량의 약 600 mg 트라스투주마브, 그리고 히알루론산분해효소, 이를 테면 피하 투여 동안 동일한 액체 제형 안에 함유된 페러투주마브 및 트라스투주마브의 분산을 증가시키는데 충분한 양, 이를 테면 최소한 약 600 U/mL의 농도 또는 약 600 U/mL 내지 약 2,000 U/mL의 농도, 가령, 농도 약

1,000 U/mL의 양으로 제조함 인간 히알루론산분해효소 (rHuPH20)를 포함한다.

- [0216] 추가 구체예에서, 가령, 피하 투여에 적합한 페러투주마브 및 트라스투주마브의 공동-제형은 다음을 포함한다:
- [0217] 60 mg/ml 농도에서 600 mg 페러투주마브, 60 mg/ml 농도에서 600 mg 트라스투주마브, 1,000 U/mL rHuPH20, 20 mM His-HCl pH 5.5, 105 mM 트레할로스, 100 mM 수크로스, 0.04% 폴리소르베이트 20, 10 mM 메티오닌, 그리고 전체 용적 10 ml이 되도록 주사용 멸균수, 또는
- [0218] 80 mg/ml 농도에서 1,200 mg 페러투주마브, 40 mg/ml 농도에서 600 mg 트라스투주마브 농도, 1,000 U/mL rHuPH20, 20 mM His-HCl pH 5.5, 70 mM 트레할로스, 133 mM 수크로스, 0.04% 폴리소르베이트 20, 10 mM 메티오닌, 그리고 전체 용적 15 ml이 되도록 주사용 멸균수.
- [0219] 실시예에 기술된 임상 시험에서 사용된 플라시보 제형은 활성제가 없는 페러투주마브와 대등하다.
- [0220] 본 명세서의 제제는 또한 치료될 특정 징조에 필수적인 하나 이상의 활성 화합물을 또한 포함할 수 있는데, 바람직하게는 이들은 서로 부정적 영향을 주지 않는 상보성 활성을 갖는 것들이다. HER 이량체화 억제제와 결합할 수 있는 다양한 약물은 아래의 방법 단락에 설명되어 있다. 이러한 분자들은 의도된 목적에 효과적인 양으로 복합물내에 적절하게 존재한다.
- [0221] 생체내 투여에 이용될 수 있는 제제는 무균이어야 한다. 이는 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0222] V. 치료 방법들

- [0223] 본 발명은 HER2-양성 조기 유방암을 치료하는 방법에 관한 것으로, 이 방법은 HER2-양성 조기 유방암 환자에게 페러투주마브, 트라스투주마브의 조합 유효량, 그리고 표준 화학요법을 어쥬번트 투여하는 것을 포함하여, 이때 이러한 투여는 원발성 및/또는 2차 효과 종점의 도달 증가, 이를 테면 표준 화학요법과 트라스투주마브의 투여 (페러투주마브의 투여없이)와 비교하여, 질환-없는 생존 (DFS), 구체적으로 침습성 질환-없는 생존 (iDFS)을 증가시킨다.
- [0224] 한 구체예에서, 본 발명에 따라 치료된 상기 환자는 HER2-양성, 림프절-양성 조기 유방암으로 진단받았다.
- [0225] 또다른 구체예에서, 본 발명에 따라 치료된 상기 환자는 HER2-양성, 호르몬-수용체 음성 유방암으로 진단받았다.
- [0226] 한 구체예에서, 페러투주마브, 트라스투주마브 및 화학요법은 다음 일정에 따라 투여된다: 다음중 하나의 일정에 따라 화학요법과 함께 페러투주마브 IV 및 트라스투주마브 IV q3w(주치의의 재량에 따라): 1) 3-4 사이클 (q3w) 또는 5-플루오루우라실+ 에피루비친 또는 독소루비친 + 사이클로포스파미드에 이어서 4 사이클 (q3w) (q3w)의 도세탁셀 또는 12 주간의 사이클의 파클리탁셀; 2) 4 사이클 (q3w)의 독소루비친 또는 에피루비친 + 사이클로포스파미드에 이어서 4 사이클 (q3w) 또는 도세탁셀 또는 12 주간의 사이클의 파클리탁셀; 3) (비-안트라사이클린 요법) 6 사이클 (q3w)의 도세탁셀 + 카르보플라틴.
- [0227] 한 구체예에서 트라스투주마브 및/또는 페러투주마브는 정맥내로 투여된다. 다른 구체예에서, 트라스투주마브 및/또는 페러투주마브는 피하로 투여된다(가령, 피하 투여에 적합한 트라스투주마브 및 페러투주마브를 모두 포함하는 공동-제형을 통하여).
- [0228] 한 구체예에서 페러투주마브는 로딩 용량 840 mg에 이어서 매 3주마다 420 mg이 iv로 투여된다.
- [0229] 한 구체예에서 트라스투주마브는 로딩 용량의 8 mg/mg에 이어서 매 3주마다 6 mg/kg이 iv로 투여된다.
- [0230] 한 구체예에서 페러투주마브는 로딩 용량 1200 mg에 이어서 매 3주마다 600 mg이 sc로 투여된다.
- [0231] 한 구체예에서 트라스투주마브는 로딩 용량 600 mg에 이어서 매 3주마다 600 mg이 sc로 투여된다.
- [0232] HER2-양성 조기 유방암의 치료에 사용되는 화학 요법에 대한 추가 투여량 및 일정은 하기 실시예에 개시되어 있다.

[0233] VI. 제조 물품

- [0234] 본 발명의 또다른 구체예에서, 유방암 치료에 유용한 물질이 포함된 제조 물품이 제공된다. 상기 제조 물품은 고정 용량의 상기 HER2 (페러투주마브)를 가진 바이알을 포함하며, 이때 상기 고정 용량은 대략적으로 420 mg, 대략적으로 525 mg, 대략적으로 600 mg, 대략적으로 840 mg, 또는 대략적으로 1050 mg, 또는 대략적으로 1200

mg의 상기 HER 항체다.

- [0235] 상기 제조 물품은 바람직하게는 포장 삽입물을 더 포함한다. 상기 포장 삽입물은 유방암 환자에게 상기 고정 용량을 정맥내로 또는 피하로 투여하는 지침을 제공할 수 있다.
- [0236] 한 구체예에서, 상기 제조 물품은 2 가지 바이알을 포함하는데, 이때 제 1 바이알은 대략적으로 840 mg의 고정 용량의 페러투주마브를 함유하고, 그리고 제 2 바이알은 대략적으로 420 mg의 고정 용량의 페러투주마브를 함유한다.
- [0237] 또다른 구체예에서, 상기 제조 물품은 2 가지 바이알을 포함하는데, 이때 제 1 바이알은 대략적으로 1200 mg의 고정 용량의 페러투주마브를 함유하고, 그리고 제 2 바이알은 대략적으로 600 mg의 고정 용량의 페러투주마브를 함유한다.
- [0238] 제조 물품의 한 구체예에서, 제조물품은 암 환자에게 투여하기 적합한 페러투주마브 및 트라스투주마브의 안정적 혼합물을 함유하는 정맥내 (IV) 주머니를 포함한다. 임의선택적으로, 상기 혼합물은 예를 들면, 약 0.9% NaCl 또는 약 0.45% NaCl을 포함하는, 염수 용액 안에 있다. 예시적인 IV 주머니는 폴리올레핀 또는 폴리비닐 클로라이드 주입 주머니, 가령, 250mL IV 주머니이다. 본 발명의 한 구체예에서, 상기 혼합물은 약 420mg 또는 약 840mg 페러투주마브 및 약 200mg 내지 약 1000mg 트라스투주마브 (가령, 약 400mg 내지 약 900mg 트라스투주마브)을 포함한다.
- [0239] 임의선택적으로, 이 IV 주머니 안에 상기 혼합물은 5℃ 또는 30℃에서 최대 24시간 동안 안정적이다. 상기 혼합물의 안정성은 다음으로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 검증에 의해 평가될 수 있다: 색, 외관 및 투명도(CAC), 농도 및 탁도 분석, 미립자 분석, 크기 배제 크로마토그래피 (SEC), 이온-교환 크로마토 그래피 (IEC), 모세관 구역 전기영동 (CZE), 이미지 모세관 등전점 (iCIEF) 및 역가 분석.

[0240] **VII. 생물학적 물질의 기탁**

[0241] 다음의 하이브리도마 세포 계통은 American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA (ATCC)에 기탁되었다:

[0242]	항체 명칭	ATCC 번호	기탁 일자
[0243]	4D5	ATCC CRL 10463	1990년 5월 24일
[0244]	2C4	ATCC HB-12697	1999년 4월8일

표 1

서열 표

설명	서열 번호	도
HER2 도메인 I	1	1
HER2 도메인 II	2	1
HER2 도메인 III	3	1
HER2 도메인 IV	4	1
2C4 가변 경쇄	5	2A
2C4 가변 중쇄	6	2B
574/페러투쥬마브 가변 경쇄	7	2A
574/페러투쥬마브 가변 중쇄	8	2B
인간 V _L 콘센수스 틀구조	9	2A
인간 V _H 콘센수스 틀구조	10	2B
페러투쥬마브 경쇄	11	3A
페러투쥬마브 중쇄	12	3B
트라스투쥬마브 경쇄	13	4A
트라스투쥬마브 중쇄	14	4b
변이체 페러투쥬마브 경쇄	15	5A
변이체 페러투쥬마브 중쇄	16	5b
GFTFTDYTEMX	17	
DVNPNSGGSIYNQRFKG	18	
NLGPSFYFDY	19	
KASQDVSIGVA	20	
SASYX ¹ X ² X ³	21	
QQYYIYPYT	22	

[0245]

[0246]

본 발명의 추가 세부 사항은 하기 비-제한적인 실시예에 의해 예시된다. 본 명세서의 모든 인용문의 개시 내용은 본원에 참고로 인용되어 있다.

[0247]

실시 예를 포함하여 명세서 전반에 걸쳐 사용된 약어의 목록 및 용어의 정의가 하기 표 2에 제공되어 있다.

표 2

약어	정의
AC	독소루비친 (아드리아마이신®) + 사이클로포스파미드
ADCC	항체-의존성 세포-매개된 세포독성
AE	부작용
ARDS	급성 호흡 곤란 증후군
ATA	항-치료요법적 항체
BCS	유방 보존 수술
bpCR	유방 병적 완전 반응
BSA	신체 표면적
CALGB	암 및 백혈병 그룹 B
CBE	임상 유방 검사
CHF	울혈성 심부전증
CISH	색원성 제자리 혼성화법
CR	완전 반응
CSR	임상 연구 보고서
CT	컴퓨터단층촬영
CTCAE	부작용에 대한 공통 용어 기준
D	도세탁셀
DCarbH	도세탁셀, 카르보플라틴, 그리고 트라스투주마브 (Herceptin®) (TCH 으로도 알려짐)
DCIS	제자리(in situ) 도관암
dd	용량-치밀(dose-dense)
ddAC	용량-치밀 독소루비친 (아드리아마이신®) + 사이클로포스파미드
DFS	질환-없는 생존
EBC 또는 eBC	조기 유방암
EBCTCG	조기 유방암 Trialists 의 협동 그룹
ECG	심전도
ECHO	초음파 심장 진단도
ECOG	동부 협동 종양 그룹
eCRF	전자 사례 보고서 양식
EDC	전자 데이터 캡처
EFS	사건-없는 생존
EGFR	상피 성장 인자 수용체
ER	에스트로겐 수용체
ESMO	유럽 의학 종양 학회
FFPE	포르말린-고정된 파라핀-매립된
FISH	형광 제자리 혼성화법
GCG	독일 유방 그룹
G-CSF	과립구 콜로니-자극 인자
H	Herceptin

[0248]

약어	정의
HER2	인간 상피 성장 인자 수용체 2
HR	유해비율
IB	조사자 브로셔
IBC	염증성 유방암
ICH	조화에 관한 국제 회의
iDFS	침습성 질환-없는 생존
IMP	임상 시험용 의약품
IND	임상 시험용 신약
ISH	제자리 혼성화법
ITT	치료-의도
IV	정맥내
IUD	자궁내장치
IxRS	상호작용 음성/웹 응답 시스템
LABC	국소적으로 진행된 유방암
LCIS	제자리(in situ) 소엽 암증
LPLV	마지막 환자, 마지막 방문
LVEF	좌 심실 박출 분율
LVSD	좌심실 수축기 기능 장애
MAPK	미토겐-활성화된 단백질 키나제
MBC	전이성 유방암
MRI	자기 공명 영상
mRNA	메신저 RNA
MUGA	다중-게이팅 획득 스캔
NCCN	전국 종양 암 네트워크
NCCTG	북 중앙 암 치료 그룹
NCI	국립 암 연구소
NSABP	내과 외과 보조 유방 및 장 프로젝트
NYHA	뉴욕 심장 협회
OS	전체 생존
P	파클리탁셀
pCR	병리학적 완전 반응

[0249]

약어	정의
PET	양전자방출단층촬영
PFS	진행-없는 생존
PgR	프로게스테론 수용체
PH	<i>Perjeta</i> ® 및 <i>Herceptin</i> ®
PI3K	포스포이노시톨 3-키나제
Pla	플라시보
PR	부분 반응
PVC	폴리비닐 클로라이드
RCB	잔류 암 부하
RCR	Roche 임상 저장소
RECIST	고형 종양의 반응 평가 기준
RT	방사선요법
SD	안정적 질환
SISH	제자리 은(silver) 혼성화법
SLN	경계 림프절
SLNB	경계 림프절 생검
SWFI	주사용 멸균수
T	파클리탁셀 (Taxol®)
TCH	도세탁셀 (탁소테레®), 사이클로포스파미드, 그리고 트라스투주마브 (<i>Herceptin</i> ®) (이 문헌에서 약어로 DCarbH 로 축약됨)
TH	파클리탁셀 + <i>Herceptin</i> ®
tpCR	전체 병적 완전 반응
ULN	표준 상한선

[0250]

- [0251] **실시예 1**
- [0252] **HER2-양성 원발성 유방암을 가진 참가자에서 화학요법 및 트라스투주마브에추가하여, 어쥬번트 요법으로써 페러투주마브의 단계 III 연구**
- [0253] **목적**
- [0254] 수술가능한 HER2-양성 원발성 유방암을 가진 참가자에서 화학요법 + 트라스투주마브에 추가하여, 어쥬번트 요법으로써 페러투주마브의 안전성 및 효과를 평가하기 위하여, 무작위화된, 이중-블라인드, 플라시보-제어된, 2-가지 단계 III 연구(어쥬번트 페러투주마브 및 유방암의 초기 요법 인지, APHINITY, NCT01358877)에 4806명의 환자가 현재 등록되었다. 이 연구는 유방 국제 그룹(Breast International Group) (BIG)과 공동으로 수행되었다.
- [0255] **연구 기획**
- [0256] 연구 기획은 도 6a, 도 6b 및 도 6c에 도시되어 있다. 이 연구에 등록된 환자들은 수술을 받고, 2 가지 치료 그룹 (1 : 1) 중 하나를 무작위로 받게 되었다:
- [0257] ● PERJETA[®] 및 Herceptin과 6-8회 사이클의 화학요법 (안트라사이클린 또는 비-안트라사이클린 함유 요법), 이어서 매 3주 마다 PERJETA[®] 및 HERCEPTIN[®] 를 총 1 년 (52 주)의 치료. 특히, 이 실험 군에서, 참가자들은 다음 과정중 하나에 따른 화학요법과 조합하여, 1년 동안 페러투주마브 IV 및 트라스투주마브 IV를 q3w (조사관의 재량에 따라): 1) 3-4 사이클 (q3w)의 5-플루오루우라실+ 에피루비친 또는 독소루비친 + 사이클로포스파미드에 이어서 4회 사이클 (q3w)의 도세탁셀 또는 12 주간의 사이클의 파클리탁셀. 2) 4 사이클 (q3w)의 독소루비친 또는 에피루비친 + 사이클로포스파미드에 이어서 4 사이클 (q3w)의 도세탁셀 또는 12 주간의 사이클의 파클리탁셀. 3) (비-안트라사이클린 요법) 6 사이클 (q3w)의 도세탁셀 + 카르보플라틴.
- [0258] ● 플라시보 및 HERCEPTIN[®] 와 함께, 6-8 사이클의 화학요법 (안트라사이클린 또는 비-안트라사이클린 함유 요법), 이어서 매 3주 마다 플라시보 및 Herceptin을 총 1 년 (52 주)의 치료. 특히, 이 플라시보 비교기 부분에서, 참가자들은 다음 과정중 하나에 따른 화학요법과 조합하여, 1년 동안 플라시보 IV 및 트라스투주마브 IV를 q3w (조사관의 재량에 따라)을 제공받는다: 1) 3-4 사이클 (q3w)의 5-플루오루우라실+ 에피루비친 또는 독소루비친 + 사이클로포스파미드에 이어서 4회 사이클 (q3w)의 도세탁셀 또는 12 주간의 사이클의 파클리탁셀 2) 4 사이클 (q3w)의 독소루비친 또는 에피루비친 + 사이클로포스파미드에 이어서 4 사이클 (q3w)의 도세탁셀 또는 12 주간의 사이클의 파클리탁셀. 3) (비-안트라사이클린 요법) 6 사이클 (q3w)의 도세탁셀 + 카르보플라틴.
- [0259] ● 약물 페러투주마브: 참가자들은 사이클 1에서 페러투주마브 840 mg의 로딩 용량, IV, 이어서 420 mg IV q3w를 제공받는다.
- [0260] ● 약물 트라스투주마브: 참가자들은 8 밀리그램/킬로그램 (mg/kg)의 로딩 용량에서 트라스투주마브를, 이어서 6 mg/kg IV q3w를 제공받는다.
- [0261] ● 약물: 5-플루오르우라실: 참가자들은 5-플루오루우라실 500-600 밀리그램/제곱미터 (mg/m²) IV q3w를 제공받을 수 있다.
- [0262] ● 약물: 카르보플라틴: 참가자들은 농도 시간 곡선 아래 면적(AUC)의 6 배 용량으로 카르보플라틴 (최대 용량 900 mg) IV q3w를 제공받을 수 있다.
- [0263] ● 약물: 사이클로포스파미드: 참가자들은 사이클로포스파미드 500-600 mg/m² IV q3w를 제공받을 수 있다.
- [0264] ● 약물: 도세탁셀: 참가자들은 첫 사이클 동안 도세탁셀 75 mg/m² IV q3w, 또는 100 mg/m² IV q3w, 또는 75 mg/m² IV q3w, 이어서 100 mg/m² IV q3w를 제공받을 수 있다.
- [0265] ● 약물: 독소루비친: 참가자들은 독소루비친 50 mg/m² IV q3w를 제공받을 수 있다.
- [0266] ● 약물: 에피루비친: 참가자들은 에피루비친 90-120 mg/m² IV q3w를 제공받을 수 있다.
- [0267] ● 약물: 파클리탁셀: 참가자들은 주당 한번씩 파클리탁셀 80 mg/m² IV를 제공받을 수 있다.

- [0268] 방사선요법 및/또는 엔도크린 요법은 어쥬번트 요법 종료시점에 개시될 수 있다. APHINITY 연구는 표준 어쥬번트 화학요법 요법을 사용하도록 허용했다. 림프절-양성 및 림프절-음성 참가자들 모두 등록 자격이 있었다(하기 참고).
- [0269] **자격규정**
- [0270] 연구에 적합한 연령: 18 세 이상 (성인, 어르신)
- [0271] 연구에 적합한 성별: 모든 성별
- [0272] 건강한 지원자 수용: 없음
- [0273] 포함 기준:
- [0274] ● 비-전이성 수술가능한 원발성 침습성 HER2-양성 유방 암종이 있음을 조직학적으로 확인되었고, 그리고 적절히 절제되었음
- [0275] ● 림프절 양성 질환, 또는 림프절 음성 질환 (pN0) 및 종양 크기는 >1.0 cm. pN0 종양을 가지고, 종양 크기가 0.5-1.0 cm인 환자는 다음중 최소한 하나의 특징이 있는 경우 초기 적합하였다: 등급 3, 양쪽 호르몬 수용체 음성, 또는 연령 <35 세. pN0을 갖는 환자는 3655명의 환자를 무작위화시킨 후 수정 프로토콜에 따라 더 이상 조건에 적합하지 않았다.
- [0276] ● 동부 협동 종양 그룹(Eastern Cooperative Oncology Group) (ECOG) 수행도 1보다 적거나 같음(<= 1)
- [0277] ● 유방암의 완결 수술과 화학 요법의 첫 번째 투여 간격은 8 주(56 일) 이내여야 한다. 화학요법의 제 1 사이클은 무작위화 7일 이내 또는 56일차(어느 것이든 먼저 일어나는 경우)에 투여되어야 한다.
- [0278] ● 공지의 호르몬 수용체 상태 (에스트로겐 수용체 및 프로게스테론 수용체)
- [0279] ● 심장초음파 (ECHO) 또는 다중-게이트화된 취득(Multiple-Gated Acquisition) (MUGA) 스캔에 의해 측정된 기저선 LVEF는 55 % (%) 이상이거나 또는 이에 동일함 (>=)
- [0280] ● HER2 양성 상태를 확인함, 이는 상기 환자의 유방암이 제자리 혼성화법에 의해 >10% 면역반응성 세포 또는 c-erbB2 유전자 증폭에서 면역조직화학 점수 3+를 받았음을 확인하고(동원체 17 신호에 대한 c-erbB2 유전자 신호의 비율 ≥ 2).
- [0281] ● 임신 가능성이 있는 여성, 그리고 임신 가능성이 있는 여성과 이의 파트너 남성 참가자는 연구 치료 기간 동안 그리고 약물 연구의 마지막 투여 후 적어도 7 개월 동안 효과적인 피임약 사용(프로토콜에 정의된 대로)에 대하여 참여자 및/또는 파트너로부터 동의를 구해야 한다.
- [0282] 배제 기준:
- [0283] ● 임의의 기존 (동측성-및/또는 대측성) 침습성 유방암 병력
- [0284] ● 연구 참여 전 5 년간의 비-유방 악성 종양의 병력, 단, 자궁 경부 제자리 암종, 결장 제자리 암종, 제자리 흑색종, 그리고 피부의 기저 세포 및 편평 세포 암종은 제외
- [0285] ● 원발성 종양/영역 림프절/원격 전이(TNM)에 의해 정의된 임의의 "임상" T4 종양, 염증성 유방암 포함
- [0286] ● 암에 대한 임의의 기존 전신 화학요법 또는 암의 방사선 치료
- [0287] ● 암에 대하여 임의의 이유 또는 다른 기존의 생물학적 또는 면역요법에 대하여 항-HER2 요법의 기존 사용
- [0288] ● 다른 조사 시험에서 동시 항-암 치료
- [0289] ● 심각한 심장 또는 심혈관 질환 또는 상태
- [0290] ● 심한 폐 상태/질병을 포함하여 계획된 치료를 방해할 수 있는 기타 동시적 심각한 중병
- [0291] ● 무작위화 배정 직전의 비정상적인 실험실 검사
- [0292] ● 임신 또는 수유중인 여성
- [0293] ● 임의의 연구 약물 또는 이들 약물의 성분이나 부형제에 대한 민감성

[0294] 결과 측정

[0295] 본 연구의 1 차 및 2 차 결과 측정의 전체 목록은 다음과 같다.

[0296] APHINITY 연구의 하나의 일차 효과 증점은 iDFS으로써, 이는 어쥬번트 치료이후, 임의의 부위에서 침습성 유방암의 재발없이, 또는 임의의 원인으로 사망까지 환자가 살아온 시간이다.

[0297] 계층화된 로그 랭킹 테스트는 두 치료 그룹 간의 IDFS를 비교하는 데 사용되었다. Kaplan-Meier 접근법은 각 치료 그룹에 대해 3-년 IDFS 퍼센트를 추정하는데 사용되었다. 계층화된 Cox 비례 위험 모델을 사용하여 두 치료군 간의 위험 비율 (HR)과 이의 95 % 신뢰 구간 (CI)을 추정했다. 1 차 분석은 치료-의도(ITT) 집단에 기반을 두었다. 이 연구는 5 %, 2-측면 유의 수준에서 0.75의 위험 비율을 탐지할 수 있는 80 %의 출력을 갖도록 설계되었다. BCIRG 006 연구(NCT00021255) 결과를 토대로 플라시보 그룹에 대한 3-년간의 IDFS 비율은 89.2 %로 추정되었다. 이러한 가정하에 IDFS의 일차 분석에는 약 379 회의 IDFS 이벤트가 필요하다.

[0298] 2차 효과 증점은 심장 및 전반적인 안전성, 전체 생존율, 무병 생존율 및 건강 관련 삶의 질이 포함된다.

[0299] 원위 재발-없는 기간 (DRFI)이란 무작위 배정과 원위 유방암 재발 사이의 시간으로 정의된다. 분석 당시 원위 재발-없는 환자는 사망일 또는 최종 알려진 생존일자에 검열될 것이다. 확정적 (최종 이벤트-중심) OS 분석은 640 명의 사망이 발생한 경우 계획된다. OS에 대한 최초의 중간 분석은 IDFS의 일차 분석시에 이루어지며, 확정 분석과 비교하여 정보는 제한적이다. 두 가지 연속 중간 분석이 수행될 것이다. 규제 목적을 위해, 전체 알파-레벨은 4 가지 OS 분석에 대해 0.05로 제어될 것이다. OS의 첫 중간 분석에서 조정된 2-측면 유의 수준은 <0.00001이다.

[0300] 임의의 양의 연구치료 (화학요법 또는 표적화된 요법) 를 제공받은 환자는 실제로 환자가 받은 치료의 안전성 분석에 포함되었다. 어쥬번트 페러투주마브를 제공받은 환자는 페러투주마브 안정성 분석 집단 부분에 있다. 연구 약물을 제공받았지만, 페러투주마브를 제공받지 않은 환자는 플라시보 안정성 분석 집단 부분에 있다.

[0301] 원발성 심장 증점은 심각한 울혈성 심부전(CHF)으로써, 다음과 같이 정의된다: 심부전 NYHA 클래스 III 또는 IV, 그리고 기저선에서 최소한 10 EF 포인트의 LVEF가 50% 이하로 떨어지거나 또는 심장 사망으로 이어짐. 심장 사망은 APHINITY 심장 자문 회의(Cardiac Advisory Board) (CAB)에 의해 확인되었다.

[0302] 이차 심장 증점은 MUGA 스캔 또는 ECHO에 의한 LVEF의 무증상 또는 경미한 증상 (NYHA 클래스 II)의 유의적인 하락으로 정의되었고, 약 3 주 이내에 APHINITY CAB에 의해 확인된 바와 같이 또한 유의미적인 하락 OR를 나타내는 제 2 LVEF 평가에 의해 확인되었다.

[0303] 일차 결과 측정

[0304] ● 침습성 질환-없는 생존 (iDFS) 기간 (IDFS 이벤트로써, 제 2 원발성 비-유방암 배제), 방사능, 조직적 검사 또는 실험실 발견으로 평가됨[시간 프레임: 프로토콜 정의된 IDFS 이벤트까지 무작위화 (제2 원발성 비-유방암 배제) (전반적으로 최대 12 년까지)]

[0305] ● 뉴욕 심장 협회(Heart Failure of New York Heart Association) (NYHA)의 심부전 클래스 III 또는 IV 그리고 좌심실 박출(LVEF)에서 기저선으로부터 최소한 10 포인트에서 50 %까지 하락한 참가자들의 백분율 [타임 프레임: 기저선에서 최대 12 년 (최대 첫 12개월까지 매 12 주 마다 평가; 18, 24, 30, 36, 48, 60개월 시점 및 그 이후 전반적으로 최대 12 년까지 매 12개월 마다)]

[0306] 2차 결과 측정

[0307] ● IDFS 기간 (IDFS 이벤트로써 제 2 원발성 비-유방암 포함), 방사능, 조직적 검사 또는 실험실 발견으로 평가됨[시간 프레임: 프로토콜 정의된 IDFS 이벤트까지 무작위화 (제2 원발성 비-유방암 포함) (전반적으로 최대 12 년까지)]

[0308] ● 질환-없는 생존 (DFS) 기간 (이벤트로써 제 2 원발성 비-유방암 또는 대측 또는 동측성 제자리 관암 종), 방사능, 조직적 검사 또는 실험실 발견으로 평가됨 [시간 프레임: 프로토콜 정의된 DFS 이벤트까지 무작위화 (제 2 원발성 비-유방암 또는 대측 또는 동측성 제자리 관암종 포함) (전반적으로 최대 12 년까지)]

[0309] ● 전반적 생존 (OS) [시간 프레임: 임의의 원인으로 인한 사망까지 무작위화 (전반적으로 최대 12 년)]

[0310] ● 재발-없는 기간 (RFI), 방사능, 조직적 검사 또는 실험실 발견으로 평가됨 [시간 프레임: 국소적, 영역적 또는 원위 유방암 재발까지 무작위화 (전반적으로 최대 12 년)]

- [0311] ● 원위 재발-없는 기간 (DRFI), 방사능, 조직적 검사 또는 실험실 발견으로 평가됨 [시간 프레임: 원위 유방암 재발까지 무작위화 (전반적으로 최대 12 년 까지)]
- [0312] ● 부작용이 있는 참가자의 비율 [시간 프레임: 전반적으로 최대 12 년까지]
- [0313] ● 무증상 또는 경증 증상 (NYHA 클래스 II), 좌심실 박출 분획 (LVEF)에서 기저선으로부터 최소한 10 포인트에서 50 %까지 하락한 참가자들의 백분율 [시간 프레임: 전반적으로 최대 12 년까지 (최대 첫 12개월까지 매 12 주 마다 평가됨; 18, 24, 30, 36, 48, 60개월 시점 및 그 이후 전반적으로 최대 12 년까지 매 12개월 마다)]
- [0314] ● 연구 과정에 걸쳐 LVEF 측정 [시간 프레임: 기저선에서 전반적으로 최대 12 년까지 (최대 첫 12개월까지 매 12 주 마다 평가됨; 18, 24, 30, 36, 48, 60개월 시점 및 그 이후 전반적으로 최대 12 년까지 매 12개월 마다)]
- [0315] ● 암 연구 및 치료를 위한 유럽 기관(European Organization for Research and Treatment of Cancer) 삶의 질 설문지-핵심 30 (EORTC QLQ-C30) 점수 [시간 프레임: 기저선, 10, 13, 19, 그리고 25주 시점; 연구 약물의 최종 투약 후 28-일 시점 (56주차); 그리고 18, 24, 그리고 36 개월]
- [0316] ● 암 연구 및 치료를 위한 유럽 기관(European Organization for Research and Treatment of Cancer) 유방암 모듈의 삶의 질 (EORTC QLQ BR23) 기능적 등급 점수 [시간 프레임: 기저선, 10, 13, 19, 그리고 25주 시점; 연구 약물의 최종 투약 후 28-일 시점 (56주차); 그리고 18, 24, 그리고 36 개월 시점]
- [0317] ● 유럽인의 삶의 질-5 차원 (EQ-5D) 설문 점수 [시간 프레임: 기저선, 10, 13, 19, 그리고 25주 시점; 연구 약물의 최종 투약 후 28-일 시점 (56주차); 그리고 18, 24, 그리고 36 개월 시점]
- [0318] **제형, 포장, 그리고 취급**
- [0319] PERJETA[®] 은 20 mM L-히스티딘 (pH 6.0), 120 mM 수크로스, 그리고 0.02% 폴리소르베이트-20 안에 제형화된 30 mg/mL 페러투주마브를 함유하는 일회-사용 제형으로 제공된다. 각 20-cc 바이알은 대략적으로 420 mg 페러투주마브 (14.0 mL/바이알)을 함유한다. 좀더 상세한 내용은 PERJETA[®] IB 또는 PERJETA[®]에 대한 국소 처방 정보를 참고한다.
- [0320] PERJETA[®]의 라벨링
- [0321] PERJETA[®] 은 각 국가의 규제 요구 사항에 따라 뿐만 아니라, 조화에 관한 국제 회의(International Conference of Harmonisation (ICH) 우수 임상 실습 (Good Clinical Practice)에 따라 라벨될 것이다. 연구 후원자는 연구 용도로만 표시된 모든 연구 장소에 PERJETA[®]를 제공할 것이다.
- [0322] PERJETA[®]의 보존
- [0323] PERJETA[®] 바이알은 2°C-8°C (36° F-46° F)의 온도 범위에서 운반되며, 그리고 물리적 및 생화학적 완전성을 최적으로 유지하기 위해 수령 즉시 냉장고 (동일한 온도 범위)에 보관해야 하며, 사용 직전까지 냉장 보관되어야 한다. 적절한 보관 상태를 보장하기 위해, 냉장고의 온도 기록을 유지해야 한다 (현지 약국 관행에 따라). 출하 또는 보관 중에 허용된 2°C-8°C로부터 벗어난 온도 편차가 발견되면, 이 약물이 여전히 사용하기에 적합한지를 판단하기 위하여 스폰스에게 문의해야 한다.
- [0324] PERJETA[®] 바이알은 흔들리지 않을 수 있다. 모든 바이알은 외곽 상자 안에 보관해야 하며, 빛으로부터 보호되어야 한다. 이 약은 IMP 키트 라벨에 제공된 날짜 정보를 넘겨서 사용되어서는 안된다.
- [0325] PERJETA[®]의 제조
- [0326] PERJETA[®] 제형에는 방부제가 포함되어 있지 않기 때문에 바이알은 한 번만 뚫어서 사용되어야 한다. 임의의 잔류 용액은 폐기해야 한다.
- [0327] 표시된 용량의 PERJETA[®] 용액을 바이알로부터 꺼내어 0.9 % 염화나트륨 주사제의 250-cc IV 주머니에 첨가해야 한다. 용액을 혼합하기 위해 이 주머니를 부드럽게 뒤집어 주어야 하지만, 격렬히 흔들어서는 안된다. 이 용

액 안에 미립자와 변색이 있는지 육안으로 검사해야 한다. 이 주머니 내의 전체 부피는 연속 IV 주입으로 투여해야 한다. 투여 튜빙에 들어있는 부피는 0.9 % 염화나트륨 주입을 사용하여 완전히 세척해야 한다.

[0328] 0.9% 염화나트륨 주사를 함유하는 폴리비닐 클로라이드 (PVC) 또는 비-PVC 폴리올레핀 주머니에서 희석된 주입용 PERJETA[®] 용액은 사용전 최대 24시간 까지 2℃-8℃ (36° F-46° F)에 보관될 수 있다. 희석된 PERJETA[®] 는 실온(2℃-25℃)에서 최대 24시간 동안 안정적임을 보여주었다. 그러나, 희석된 PERJETA[®]) 는 보존제를 함유하지 않고 있기 때문에, 무균적으로 희석된 용액은 24 시간을 넘지 않게 냉장 보관 (2 ℃-8 ℃)해야 한다.

[0329] 속도-조절 장치는 모든 연구-약물 주입에 사용할 수 있다. 연구 약물 IV 주머니가 비어있을 때 0.9 % 염화나트륨 주사 50 mL를 IV 주머니에 첨가하거나 추가 주머니를 걸 수 있고, 그리고 연구 약물의 완전한 전달을 보장하기 위해 튜브의 용량과 동일한 용량으로 주입을 계속할 수 있다.

[0330] 연구 약물 주입의 유출이 발생하면 다음 단계를 수행해야 한다:

[0331] 주입의 중단.

[0332] 비-부식제의 유출에 대한 기관 지침에 따라 유출을 처리한다.

[0333] 상당한 양의 연구 약물 주입이 남아있는 경우, 동일한 팔다리 또는 다른 쪽의 더 근위 부위에서 주입을 다시 시작한다.

[0334] HERCEPTIN[®]의 제형

[0335] 이 연구에 사용하기위한 HERCEPTIN[®] (동결건조된 제형)은 후원자에 의해 동결 건조 조제물로 제공된다. 모든 HERCEPTIN[®]은 비경구 IV 투여 용으로 공급되고; 피하 HERCEPTIN[®]은 본 연구에서 허용되지 않는다. HERCEPTIN[®]은 히스티딘, 트레할로스, 그리고 폴리소르베이트 20에서 제형화된다. 본 연구에 사용되는 HERCEPTIN[®]은 후원자에 의해 비경구 투여를 위한 동결-건조 조제물이 포함된 바이알로 제공될 것이다. IV 투여를 위하여, HERCEPTIN[®]의 각 바이알은 다음과 같이, 바이알 크기에 따라 주사용 멸균수(SWFI)로 재구성된다:

[0336] HERCEPTIN[®] 440-mg 바이알은 20.0 mL의 SWFI (공급되지 않음)와 혼합됨

[0337] HERCEPTIN[®] 150-mg 바이알은 7.2 mL의 SWFI (공급되지 않음)와 혼합됨

[0338] 다른 재구성 용매의 사용은 허용되지 않는다. 상기 재구성된 용액은 21 mg/mL의 트라스투주마브를 함유하고, 상기 환자에게 투여하기 위하여 250 mL의 0.9% 염화나트륨 주사에 추가될 것이다. 상기 HERCEPTIN[®] 제형중 어느 것도 보존제를 함유하지 않는다. 이 제품은 무균 상태에서 발생하지 않는 한, 재구성 및 희석된 후에는 보관하지 않는다. 따라서, 일단 주입이 준비되면, 일회용으로만 사용되며 즉시 투여되어야 한다. 무균적으로 준비하고, 2℃-8℃에서 보관(최대 냉장 보관 시간은 24 시간임)하지 않는 한, 이 용량은 재구성 후 8 시간 이내에 주입해야 한다. 본 연구를 위하여 제공된 각 HERCEPTIN[®] 바이알은 단일 용량 바이알로만 사용된다. 각 바이알은 한 번에 한 명 이상의 환자에게 *Herceptin*을 1 회 이상 투여하는데 이용되어서는 안된다. 재구성된 HERCEPTIN은 냉동시키지 않는다.

[0339] HERCEPTIN[®]의 라벨링

[0340] HERCEPTIN[®]은 각 국가의 규제 요구 사항에 따라 뿐만 아니라, ICH 우수 임상 실습 (Good Clinical Practice)에 따라 라벨될 것이다. 연구 후원자는 연구 용도로만 표시된 모든 연구 장소에 HERCEPTIN[®]를 제공할 것이다.

[0341] HERCEPTIN[®]의 보존

[0342] HERCEPTIN[®] 바이알은 2℃-8℃ (36° F-46° F)의 온도 범위에서 운반되며, 그리고 물리적 및 생화학적 완전성을 최적으로 유지하기 위해 수령 즉시 냉장고 (동일한 온도 범위)에 보관해야 한다. 적절한 보관 상태를 보장하기 위해, 냉장고의 온도 기록을 유지해야 한다 (현지 약국 관행에 따라). 바이알에 찍힌 날짜를 넘겨서 사용하지 않는다. 냉동시키지 않는다.

[0343] HERCEPTIN[®]은 전단-유도된 응력 (가령, 교반기 또는 주사기에서 빠르게 빼냄)에 민감할 수 있다. 흔들지 않는다. HERCEPTIN[®] 용액의 격렬한 처리로 인해 단백질이 응집되고, 흐린 용액이 생성될 수 있다. HERCEPTIN[®]은 재구성하는 동안 조심스럽게 다루어야 한다. 재구성하는 동안 과도한 거품 또는 재구성된 HERCEPTIN[®]을 흔들면 바이알로부터 빼낼 때 HERCEPTIN[®]의 양이 문제가될 수 있다.

[0344] HERCEPTIN[®]의 제조

- [0345] 이 연구 약물을 준비할 때는 적절한 무균 기술을 사용해야 한다. HERCEPTIN®의 각 바이알은 상기에서 설명된 바와 같이 SWFI로 재구성된다. HERCEPTIN®은 재구성하는 동안 조심스럽게 다루어야 한다. 재구성하는 동안 과도한 거품 또는 재구성된 HERCEPTIN®을 흔들면 바이알로부터 빼낼 때 HERCEPTIN®의 양이 문제가될 수 있다.
- [0346] 다음 지시를 따른다:
- [0347] 1. 멸균 주사기를 사용하여, 동결건조된 HERCEPTIN®를 함유하는 바이알에서 주사용 멸균수를 서서히 주입하고, 이 흐름은 이 동결건조된 케이크를 향하도록 한다.
- [0348] 2. 재구성을 지원하기 위해 바이알을 부드럽게 돌린다. 흔들지 않는다!
- [0349] 재구성시 약간의 거품이 발생하는 것은 드문 일이 아니다. 바이알을 약 5 분 동안 그대로 둔다. 재구성된 HERCEPTIN®은 무색에서 옅은 황색 투명한 용액으로 나타나며, 눈에 보이는 미립자가 없어야 한다.
- [0350] 재구성된 HERCEPTIN®을 냉동 또는 냉장시키지 않는다.
- [0351] 약물 제조: 희석
- [0352] 재구성된 용액은 0.9 % 염화나트륨 주사액, 미국 약전, 250 mL이 들어있는 주입 주머니에 추가될 것이다. 일단 주입이 준비되면, 즉시 투여되어야 한다. 무균적으로 희석할 경우, 재구성 후 최대 24 시간 동안 보관할 수 있다(30℃이상에서 보관하지 않는다).
- [0353] 결과
- [0354] 이 연구는 이의 일차 종점에 부합되며, PERJETA®-HERCEPTIN® 조합을 이용한 어쥬번트 치료(수술 후)는 HERCEPTIN® 및 화학요법 단독과 비요하였을 때, HER2-양성 eBC 사람에게서 침습성 질환 또는 사망 (침습성 질환 없는 생존; iDFS)의 재발 위험을 상당히 감소시켰다는 것을 보여주었다. 하기에서 논의된 7 A&B, 8 A-C, 9 A-C의 결과는 iDFS의 연구 일차 분석 결과를 나타낸다 (전자 사례 보고서 양식 "eCRF"에 수집된 데이터를 기반으로).
- [0355] 일차 종점:
- [0356] ● 도 7a에 나타난 것과 같이, iDFS의 유해 비율(HR)은 0.81이며; [95% CI 0.66-1.00; p = 0.0446], 상기 HERCEPTIN® 대조군 부분과 비교하였을 때, PERJETA®-HERCEPTIN® 부분에서 환자의 침습성 유방암의 재발 또는 사망 위험이 19% 감소를 나타낸다. 도 7b에 나타난 Kaplan-Meier 플롯 또한 참고.
- [0357] 3-년의 iDFS 비율의 해당 추정치는 다음과 같다:
- [0358] ● PERJETA®, HERCEPTIN® 및 화학요법 부분 = 94.06%
- [0359] ● 플라시보, HERCEPTIN® 및 화학요법 (대조군) 부분 = 93.24%
- [0360] 효능
- [0361] 이 연구는 페러투주마브 집단에 우호적으로, 0.81 유해 비율(95% CI, 0.66 to 1.00; P=0.0446)을 갖고, 침습성 질환 없는 생존 (iDFS)은 통계학적으로 유의적으로 개선된 이의 일차 연구 종점을 만났다. 45.4 개월의 중간 추적 후, 페러투주마브 집단에 무작위화된 환자에서 171 (7.1%)의 iDFS 이벤트가 보고되었고, 그리고 대조군에 무작위화된 환자에서 210 (8.7%)의 이벤트가 보고되었다. 3-년 시점에 iDFS 추정치는 페러투주마브 집단에서 94.1%, 플라시보 집단에서 93.2%였다. 제 1 iDFS 이벤트로 원위 재발은 페러투주마브 및 대조군 집단에서 차례로 112 명의 환자(4.7%) 및 139명의 환자 (5.8%) 이었고, 여기에서 국소 재발 환자의 수는 차례로 16명 (1.1%) 및 34명 (1.4%)이었다. 제1 iDFS 이벤트로써 중추 신경계 (CNS) 전이는 페러투주마브 및 대조군에서 차례로 1.9% 및 1.8%의 환자로 발생되었다. 첫 1 원위 재발의 내장(visceral) 또는 CNS 부위는 뼈보다 더 흔했다.
- [0362] 2차 분석에서, 제2 원발성 비-유방암 이벤트는 iDFS 이벤트로 또한 간주되었다. 페러투주마브 및 대조군 집단에서 차례로 189와 230으로 증가된 이벤트 수치는 통계학적으로 유의적인 0.82의 유해 비율을 결과한다(95% CI, 0.68 내지 0.99; P=0.043).
- [0363] PERJETA®-HERCEPTIN® 조합의 심장 및 전반적인 안정성 프로파일은 PERJETA®의 기존 연구와 일관되었으며, 새로운 안정성 신호가 확인되지는 않았다.
- [0364] 이 치료 요법에서 페러투주마브를 함유하는 긍정적 효과는 다양한 환자의 하위그룹에서 균등하게 관찰되었지만, iDFS에 대한 하위그룹 분석에서 림프절 양성 (도 8a 및 8b) 및 호르몬 수용체 (HR) 음성 환자

(도 9a 및 9b)에서 가장 확실한 것으로 드러났다. 도 8a에서 볼 수 있는 것과 같이, 림프절-양성 질환 환자에 서, 페러투주마브 집단에서 139 (9.2%) IDFS 이벤트, 그리고 플라시보 집단에서 181 (12.1%) iDFS 이벤트가 있 었다. 3-년 IDFS %는 페러투주마브 집단에서 92.0% 그리고 플라시보 집단에서 90.2%이었다. 유해 비율은 0.77 (95% CI 0.62-0.96; P=0.0188)이었다. Kaplan-Meier 플롯의 곡선은 무작위 배정 후 2 년 후에 분리되기 시작했 다 (도 8b). 대조적으로, 림프절-음성 질환 환자는 매우 낮은 IDFS 이벤트 수치(페러투주마브의 경우 32 [3.6%] 그리고 플라시보의 경우 29 [3.2%])를 나타내었으며, 탐지가능한 치료 효과는 없었다 (유해비율 1.13 (95% CI 0.68-1.86; P=0.6436) (도 8c).

[0365] 호르몬-수용체-음성 종양의 환자에게서, 페러투주마브 집단의 경우 IDFS 이벤트는 71 (8.2%), 플라시보 집단 의 경우 91 (10.6%)이었고, 유해 비율은 0.76이었다 (0.56-1.04; P=0.0847). 3년 IDFS %는 페러투주마브 집단 에서 92.8% 그리고 플라시보 집단에서 91.2%이었다 (도 9a 및 9b). 호르몬-수용체-양성 종양 환자의 경우 이벤 트 수치는 매우 낮았다 (페러투주마브 집단에서 100 [6.5%] 그리고 플라시보 집단에서 119 [7.7%]), 유해 비율 은 0.86 (0.66-1.13) (P=0.2771)이었다. 3년 IDFS %는 페러투주마브 집단에서 94.8% 그리고 플라시보 집단에서 94.4%이었다 (도 9c).

[0366] 이 일차 종점 분석 시점에서, 전체 생존에 대한 제 1 중간 분석이 실행되었고, 페러투주마브 부분에서 80명의 사망이, 플라시보 부분에서 89명의 사망이 있었다. 이 시점의 조기 지점에서 유의적인 치료 효과는 없었다(유 해 비율 0.89; 95% CI 0.66-1.21; P=0.4673).

[0367] 도 10 및 표 3과 4는 일차 iDFS 종점의 APHINITY 연구 사전-명시된 민감도 분석을 나타내는데, 이는 상호적 웹/ 음성 응답 시스템 "IxRS"에 의해 수집된 계층화 요소 데이터를 기반으로 한다.

표 3

표 3 APHINITY 임상 연구 효과 결과

	PERJETA + 트라스투주마브 + 화학요법 N=2400	플라시보 + 트라스투주마브 + 화학요법 N=2404
침습성 질환 없는 생존 (IDFS)		
이벤트를 가진 환자의 수 (%)	171 (7.1%)	210 (8.7%)
HR [95% CI] ¹	0.82 [0.67, 1.00]	
p-값 (로그-랭크 테스트, 계층화된 ²)	0.047	
3 년 이벤트-없는 비율 ² , % [95% CI]	94.1 [93.1, 95.0]	93.2 [92.2, 94.3]
제 2 원발성 비-유방암을 포함하는 IDFS		
이벤트를 가진 환자의 수 (%)	189 (7.9%)	230 (9.6%)
HR [95% CI] ¹	0.83 [0.68, 1.00]	
3 년 이벤트-없는 비율 ² , % [95% CI]	93.5 [92.5, 94.5]	92.5 [91.4, 93.6]
질환 없는 생존 (DFS)		
이벤트를 가진 환자의 수 (%)	192 (8.0%)	236 (9.8%)
HR [95% CI] ¹	0.82 [0.68, 0.99]	
3 년 이벤트-없는 비율 ² , % [95% CI]	93.4 [92.4, 94.4]	92.3 [91.2, 93.4]
전체 생존 (OS)³		
이벤트를 가진 환자의 수 (%)	80 (3.3%)	89 (3.7%)
HR [95% CI] ¹	0.89 [0.66, 1.21]	
3 년 이벤트-없는 비율 ² , % [95% CI]	97.7 [97.0, 98.3]	97.7 [97.1, 98.3]

HR=유해 비율, CI=신뢰 구간

¹ 모든 분석은 림프절 상태, 프로토콜 버전, 중심 호르몬 수용체 상태 및 어쥬먼트 화학요법 처방에 의해 계층화되었다. 계층화 인자는 IDFS의 무작위화 데이터에 따라 정의된다.

² Kaplan-Meier 추정치로부터 유도된 3-년 이벤트 없는 비율

³ 제 1 중간 분석 데이터

[0368]

표 4

표 4 APHINITY 임상 연구로부터 기저 질환 특징 및 어쥬번트 화학요법에 의해 효과 결과¹

집단	이벤트 수/전체 N (%)		3 년 시점에서 IDFS (%, 95% CI)		계층화한 된 HR (95% CI)
	PERJETA + 트라스투쥬마 브 + 화학요법	플라시보 + 트라스투쥬마 브 + 화학요법	PERJETA + 트라스투쥬마 브 + 화학요법	플라시보 + 트라스투쥬마 브 + 화학요법	
호르몬 수용체 상태					
음성	71/864 (8.2%)	91/858 (10.6%)	92.8 (90.8, 94.3)	91.2 (89.0, 92.9)	0.76 (0.56, 1.04)
양성	100/1536 (6.5%)	119/1546 (7.7%)	94.8 (93.5, 95.8)	94.4 (93.1, 95.4)	0.86 (0.66, 1.13)
림프절 상태					
음성	32/897 (3.6%)	29/902 (3.2%)	97.5 (96.3, 98.4)	98.4 (97.3, 99.0)	1.13 (0.68, 1.86)
양성	139/1503 (9.2%)	181/1502 (12.1%)	92.0 (90.5, 93.3)	90.2 (88.5, 91.6)	0.77 (0.62, 0.96)
어쥬번트 화학요법 처방					
안트라사이클린	139/1865 (7.4%)	171/1877 (9.1%)	93.8 (92.6, 94.8)	93.0 (91.8, 94.1)	0.82 (0.66, 1.03)
비-안트라사이클 린	32/535 (6.0%)	39/527 (7.4%)	94.9 (92.6, 96.6)	94.0 (91.5, 95.8)	0.82 (0.51, 1.31)

¹ 따라서 여러 비교를 조정하지 않는 탐색적 분석을 수행하면 결과가 서술적인 것으로 간주된다.

[0369]

[0370]

안전성

[0371]

호르몬-수용체-음성 종양의 환자에게서, 페러투주마브 부분의 경우 IDFS 이벤트는 71 (8.2%), 플라시보 부분의 경우 91 (10.6%)이었고, 유해 비율은 0.76이었다 (0.56-1.04; P=0.0847). 3 년 IDFS %는 페러투주마브 부분에서 92.8%, 그리고 플라시보 부분에서 91.2%이었다. 호르몬-수용체-양성 종양 환자의 경우 이벤트 수치는 매우 낮았다 (페러투주마브 부분에서 100 [6.5%] 그리고 플라시보 부분에서 119 [7.7%]), 유해 비율은 0.86 (0.66-1.13) (P=0.2771)이었다. 3 년 IDFS %는 페러투주마브 부분에서 94.8%, 그리고 플라시보 부분에서 94.4%이었다.

[0372]

이 일차 종점 분석 시점에서, 전체 생존에 대한 제 1 중간 분석이 실행되었고, 페러투주마브 부분에서 80명의 사망이, 플라시보 부분에서 89명의 사망이 있었다. 이 시점의 조기 지점에서 유의적인 치료 효과는 없었다(유해 비율 0.89; 95% CI 0.66-1.21; P=0.4673).

[0373]

심장 안정성

[0374]

연구치료의 최소한 하나의 투여량 (화학요법 또는 표적화된 요법)을 제공받은 환자는 환자가 실질적으로 제공받은 치료에 의한 안정성 분석에 포함된다. 어쥬번트 치료로써 페러투주마브를 제공받은 환자는 페러투주마브 안정성 분석 집단에 있다. 연구약물을 제공받았지만, 페러투주마브를 제공받지 않는 환자는 대조군 안정성 분석 집단 그룹에 있다.

[0375]

원발성 심장 종점은 심각한 울혈성 심부전(CHF)으로써, 다음과 같이 정의된다: 심부전 NYHA 클래스 III 또는 IV 그리고 기저선에서 최소한 10 EF 포인트의 LVEF가 50% 이하로 떨어지거나 또는 심장 사망으로 이어짐. 심장 사망은 APHINITY 심장 자문 회의(Cardiac Advisory Board) (CAB)에 의해 전향적으로 정의되었다.

[0376]

이차 심장 종점은 MUGA 스캔 또는 ECHO에 의한 LVEF의 무증상 또는 경미한 증상 (NYHA 클래스 II)의 유의적인 하락으로 정의되었고, 약 3 주 이내에 APHINITY CAB에 의해 확인된 바와 같이 또한 유의미적인 하락 OR를 나타내는 제 2 LVEF 평가에 의해 확인되었다.

[0377]

논의

[0378]

APHINITY 연구는 거대한, 적절한 힘을 가진, 플라시보-제어된, 단계 III 임상 연구다. 치료 효과는 모든 하위 집단에 걸쳐 균질했다; 그러나, 이 초기 분석 시점에서 림프절 관련이나 호르몬 음성 수용체 상태로 인한 재발

위험이 높은 환자에서 가장 잘 나타났다. 이 조합에서 1 년간 투여한 페러투주마브의 안전성 프로파일은 호의적이었고, 전이성 또는 네오어쥬번트 환경에서 보고된 안정성과 비교하였을 때, 새로운 안정성 신호가 관찰되지 않았다.

[0379] 환자 이익의 평가는 항상 부작용으로 인한 잠재적 위험을 가진 효과 크기와 관련되어 있어야 한다. 페러투주마브의 추가시 등급 ≥ 3 설사가 6.2% 과다하게 발생되었고, 설사 방지 약물로 충분히 치료할 수 있는 것이 아닐 수도 있으며, 따라서 치료 중단으로 이어질 수 있다. 그럼에도 불구하고 전반적인 치료 중단 비율은 플라시보와 비교했을 때 페러투주마브에서 단지 2.9 % 더 높았다. 가장 중요한 것은 많은 수의 환자들에게도 불구하고 심장 독성과 관련하여 통계적으로 차이가 없다는 점이다. 페러투주마브의 심장 독성 유형이 트라스투주마브에 의해 유도되는 유형과 양립하는 것으로 추정하면, 대부분의 심장 이벤트는 현재 분석 시점에서 이미 관찰될 것이고, 후기 심장 이벤트는 빈번하지 않을 것이다. 페러투주마브의 심장 안정성은 전이성 환경에서 기존 시험에서 이미 실증되었고 (Swain 외., *Oncologist*. 2013; 18(3):257-64) 및 네오어쥬번트 환경에서 트라스투주마브 및 에피루비친의 동시 적용의 경우에도 실증되었다 (Schneeweiss 외., *Ann. Oncol.* 2013 24(9);278-84).

[0380] APHINITY 연구 발견의 중요성은 어쥬번트 치료로서의 페러투주마브의 적용을 넘어서는 것이다. 이 어쥬번트 연구는 또한 장기 결과에 대한 네오어쥬번트 연구에서 관찰된 병리학적 완전 반응 (pCR)의 대리를 위한 개념 증명 (proof-of-concept)으로 간주되었다. NeoSphere 연구에서 도세탁셀과 트라스투주마브의 12주 치료 후 29.0%의 pCR 비율은 동일한 치료에 페러투주마브를 추가한 경우 45.8% 로 증가한다고 보고하였다 (Gianni 외., *Lancet Oncol.* 2012 13(1):25-32). 대응하는 5-년 진행-없는 생존 비율은 페러투주마브 없는 경우 81% (95% CI 71%-87%), 페러투주마브를 사용한 경우 86% (95% CI 77%-91%)이었다; 그러나 이 시험은 통계학적으로 유의적인 차이를 설명하기에는 불충분하였다. 탁산 및 안트라사이클린 (또는 카르보플라틴)을 포함하는 더 강력한 화학요법을 고려하면, APHINITY 연구에서 관찰된 효과 크기는 pCR에 도달함에 있어서 보고된 네오어쥬번트 효과에 잘 대응한다.

[0381] 결론적으로, APHINITY 시험은 페러투주마브가 화학요법 및 트라스투주마브에 추가될 때, 수술가능한 HER2-양성 유방암을 가진 환자에서 IDFS를 유의적으로 개선시키며, 새로운 안정성 신호는 확인되지 않았다는 것을 입증하였다. 치료의 효과 또는 더 긴 또는 더 짧은 치료 기간과 같은 추가 측면이 더 탐구되어야 할 필요가 있지만, 이 시험은 HER2 양성 EBC 환자의 치료를 위한 획기적인 표식이된다.

[0382] 본 발명의 특정 구체예들이 제시 및 설명되며, 이들 구체예는 오로지 예시를 위하여 제시된 것이라는 사실은 당업자에게 이해될 것이다. 본 발명을 벗어나지 않고, 다수의 변형, 변화 및 치환이 일어날 수 있다. 본 명세서에서 설명된 발명의 구체예에 다양한 대안이 본 발명의 실시에서 이용될 수 있음을 인지해야 한다. 다음의 청구범위는 본 발명의 범위를 한정시키고, 이들 청구범위 내에 있는 방법 및 구성 그리고 이의 등가체가 포함된다.

도면

도면1



도면2a

	가변 경쇄			
	10	20	30	40
2C4	DI ^{VT} MTQ ^{SH} KIM ST SVG ^{DR} VSITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQR ^P	
	** *****	*	*	
574	DIQ ^{MT} QSP ^{SSL} SASV ^{GDR} VTITC	[KASQDVSIGVA]	WYQQK ^P	
		* ** ***		
hum κI	DIQ ^{MT} QSP ^{SSL} SASV ^{GDR} VTITC	[RASQISINYLA]	WYQQK ^P	
	50	60	70	80
2C4	GQSPKLLIY [SASYRYT]	GVPDRFTGSGSGTDFTFTI ^{SSVQA}		
	**	* *	* **	
574	GKAPKLLIY [SASYRYT]	GVPSR ^F SGSGSGTDFTLT ^{ISSLP}		
	* *****			
hum κI	GKAPKLLIY [AASSLES]	GVPSR ^F SGSGSGTDFTLT ^{ISSLP}		
	90	100		
2C4	EDLAVYYC [QQYYIYPYT]	FGGGTKLEIK	(서열 번호: 5)	
	* *	* *		
574	EDFATYYC [QQYYIYPYT]	FGQG ^T KVEIK	(서열 번호: 7)	
	*** *			
hum κI	EDFATYYC [QQYNSLPWT]	FGQG ^T KVEIK	(서열 번호: 9)	

도면2b

가변 중쇄

```

      10      20      30      40
2C4  EVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKAS [GFTFTOYTMO] WVKQS
      ** ** * * *** *
574  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS [GFTFTDYTMD] WVRQA
      *** *
hum III EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS [GFTFSYAMS] WVRQA

      50 a      60      70      80
2C4  HGKSLEWIG [DVNPNSGGSIYNQRFKG] KASLTVDRSSRIVYM
      * * **
574  PGKGLEWVA [DVNPNSGGSIYNQRFKG] RFTLSVDRSKNTLYL
      ***** **
hum III PGKGLEWVA [VISGDGGSTYYADSVKG] RFTISRDNSKNTLYL

      abc      90      100ab      110
2C4  ELRSLTFEDTAVYYCAR [NLGPSFYFDY] WGQGTTLTVSS (서열 번호: 6)
      *** **
574  QMNSLRAEDTAVYYCAR [NLGPSFYFDY] WGQGTTLTVSS (서열 번호: 8)
      *****
hum III QMNSLRAEDTAVYYCAR [GRVGYSLYDY] WGQGTTLTVSS (서열 번호: 10)

```

도면3a

페러투쥬마브 경쇄의 아미노산 서열

```

      1      10      20      30      40      50      60
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASRYTGVPS
      70      80      90      100      110      120
RFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
      130      140      150      160      170      180
SDEQLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLT
      190      200      210
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 11)

```

도면3b

페러투쥬마브 중쇄의 아미노산 서열

```

1      10      20      30      40      50      60
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADVNPNSGGSIY

70      80      90      100     110     120
NQRFKGRFFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWGQGLTVTVSSA

130     140     150     160     170     180
STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG

190     200     210     220     230     240
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP

250     260     270     280     290     300
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
*

310     320     330     340     350     360
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVYTLPPSREEM

370     380     390     400     410     420
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ

430     440     448
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 번호: 12)

```

도면4a

트라스투쥬마브 중쇄

```

1      15      30      45
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPK
↓
46     60     75     90
LLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ

91     105    120    135
HYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
←
136    150    165    180
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLT

181    195    210    214
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 13)

```

도면4b

트라스투주마브 중쇄

```

1      15      30      45
└─EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIDYIHWVRQAPGKGL
46      60      75      90
EWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAED
91      105     120     135
TAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS
136     150     165     180
KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
181     195     210     225
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
226     240     255     270
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
271     285     300     315
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
316     330     345     360
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
361     375     390     405
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
406     420     435     449
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(서열 번호: 14)

```

도면5a

페러투주마브 변이체 경쇄

```

1      15      30      45
VHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGK
46      60      75      90
APKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY
91      105     120     135
CQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
136     150     165     180
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS
181     195     210     217
TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 15)

```

도면5b

페러투쥬마브 변이체 중쇄

```

1      15      30      45
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGL

46     60     75     90
EWVADVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAED

91    105    120    135
TAVYYCARNLGPSFYFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK

136   150   165   180
STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG

181   195   210   225
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT

226   240   255   270
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH

271   285   300   315
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW

316   330   345   360
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

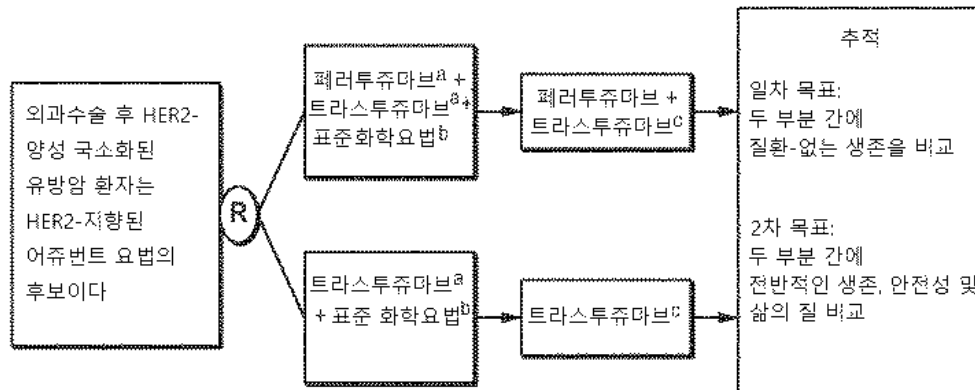
361   375   390   405
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS

406   420   435   449
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
    
```

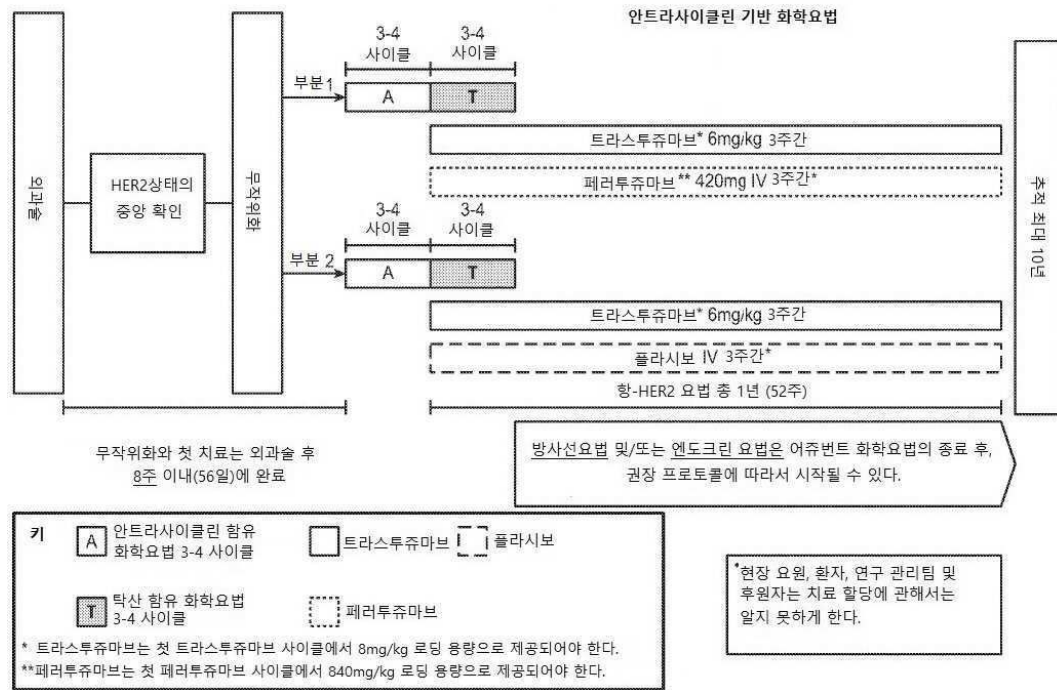
(서열 번호: 16)

도면6a

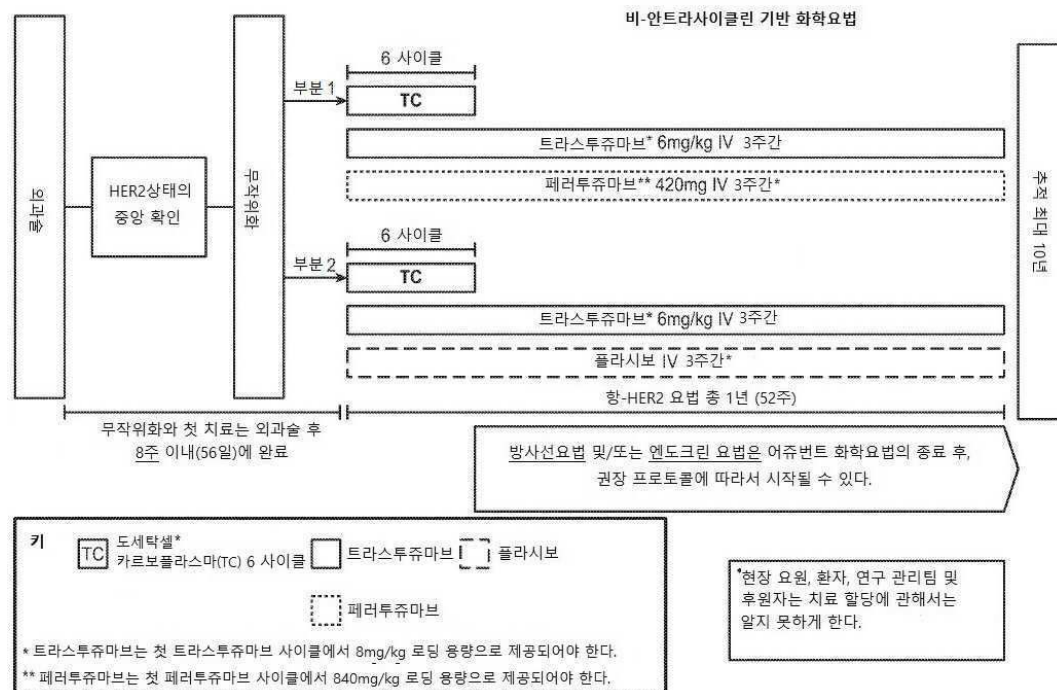
APHINITY 임상 시험 개요



도면6b



도면6c



도면7a

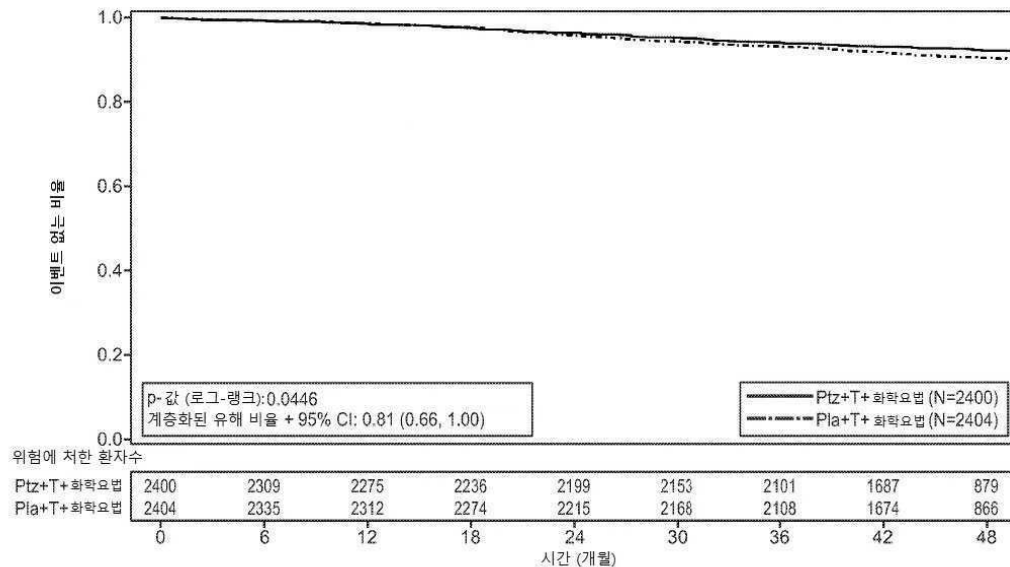
효과 IDFS(ITT)

	HR	P 값	3 Yr IDFS		
			Ptz+Tras n=2400	Pla+Tras n=2404	Δ 3 Yr IDFS
일차 종점 IDFS	0.81 (CI: 0.66, 1.00)	0.0446*	94.06% (CI: 93.01, 95.03)	93.24% (CI: 92.21, 94.26)	0.82%
이벤트를 갖는 환자			171 이벤트	210 이벤트	

*이 표에서 p 값은 eCRF에서 얻은 계층화 인자에 기반을 둔다. IxRS 시스템(FDA 분석)의 계층화 인자에 기반을 둔 민감성 분석에서 계층화된 로그-랭크 테스트의 p-값은 0.0471 이었다.

도면7b

처리 요법에 의한 첫 IDFS 이벤트에 대한 시간(개월)의 Kaplan-Meier 플롯, ITT 집단
프로토콜: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



프로그램: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g_ef_km.sas 결과: /opt/BIOSTAT/prod/cd11450g/j25126areports/g_ef_km_IDFS_IT.pdf 25FEB2017 11:58

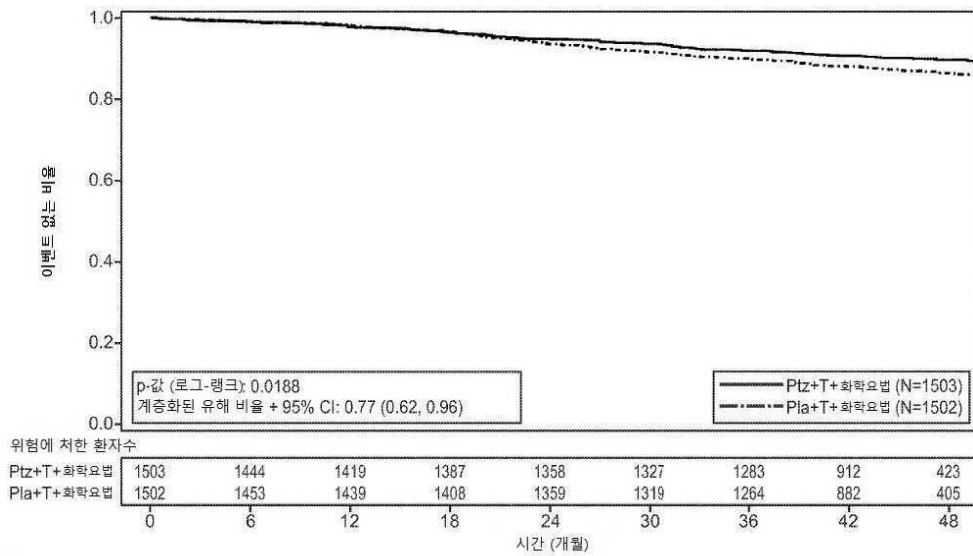
도면8a

효과 IDFS(림프절 상태)

	HR	P 값	3 Yr IDFS		
			Ptz+Tras n=1503	Pla+Tras n=1502	Δ 3 Yr IDFS
림프절 양성	0.77 (CI: 0.62, 0.96)	0.0188	91.99% (CI: 90.05, 93.29)	90.15% (CI: 89.62, 91.69)	1.84%
이벤트를 갖는 환자			139 이벤트	181 이벤트	

도면8b

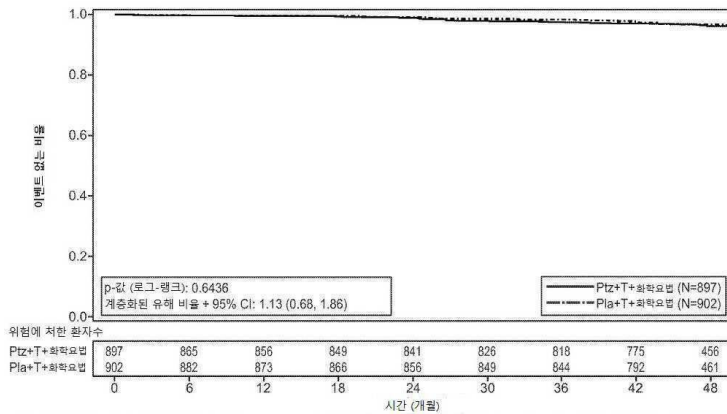
처리 요법에 의한 첫 IDFS 이벤트에 대한 시간(개월)의 Kaplan-Meier 플롯
림프절 양성 코호트, ITT 집단
프로토콜: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



프로그램: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g_ef_km.sas 결과: /opt/BIOSTAT/prod/cd11450g/25126a/reports/g_ef_km_IDFS_NPOS_ITT.pdf 21MAR2017 18:10

도면8c

처리 요법에 의한 첫 IDFS 이벤트에 대한 시간(개월)의 Kaplan-Meier 플롯 림프절 양성 코호트, ITT 집단
프로토콜: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



프로그램: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g_ef_km.sas 결과: /opt/BIOSTAT/prod/cd11450g/25126a/reports/g_ef_km_IDFS_NNEG_ITT.pdf 21MAR2017 18:12

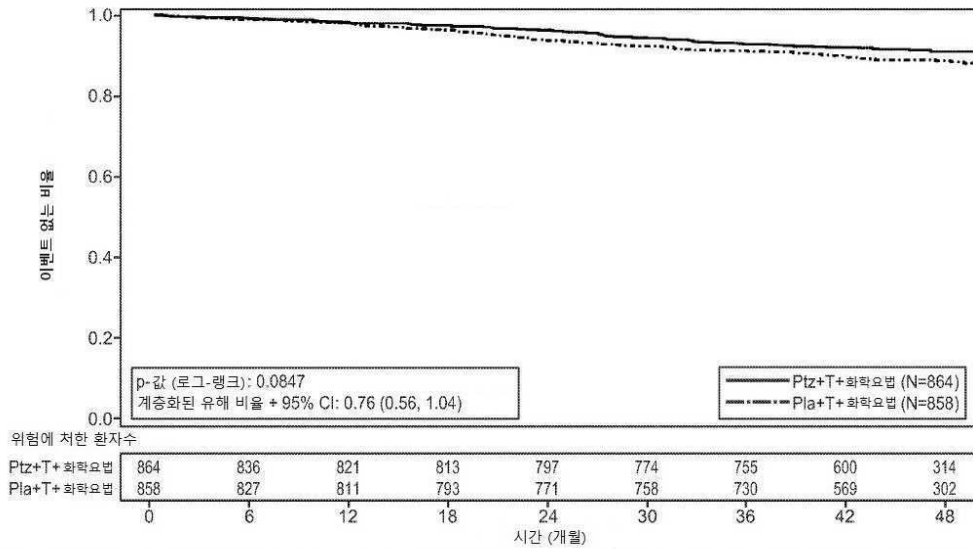
도면9a

효과 IDFS(HR 상태)

		3 Yr IDFS			
	HR	P 값	Ptz+Tras n=864	Pla+Tras n=858	Δ 3 Yr IDFS
HR 음성	0.76 (CI: 0.56, 1.04)	0.0847	92.71% (CI: 91.01, 94.53)	91.2% (CI: 89.24, 93.12)	1.51%
이벤트를 갖는 환자			71 이벤트	91 이벤트	

도면9b

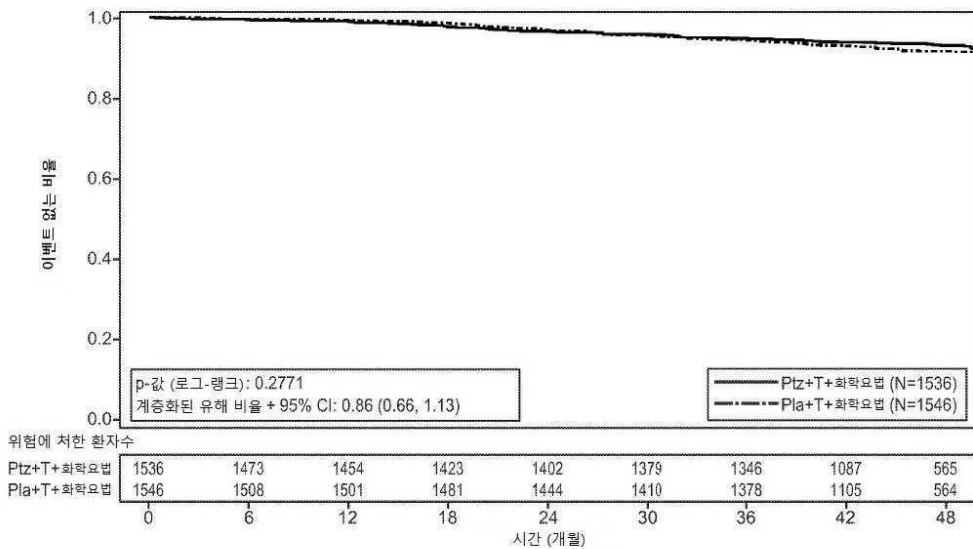
처리 요법에 의한 첫 IDFS 이벤트에 대한 시간(개월)의 Kaplan-Meier 플롯
 중앙 호르몬 수용체 음성 환자, ITT 집단
 프로토콜: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



프로그램: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g_ef_km.sas 결과 : /opt/BIOSTAT/prod/cd11450g/j25126a/reports/g_ef_km_IDFS_CHRN_IT.pdf 25FEB2017 12:03

도면9c

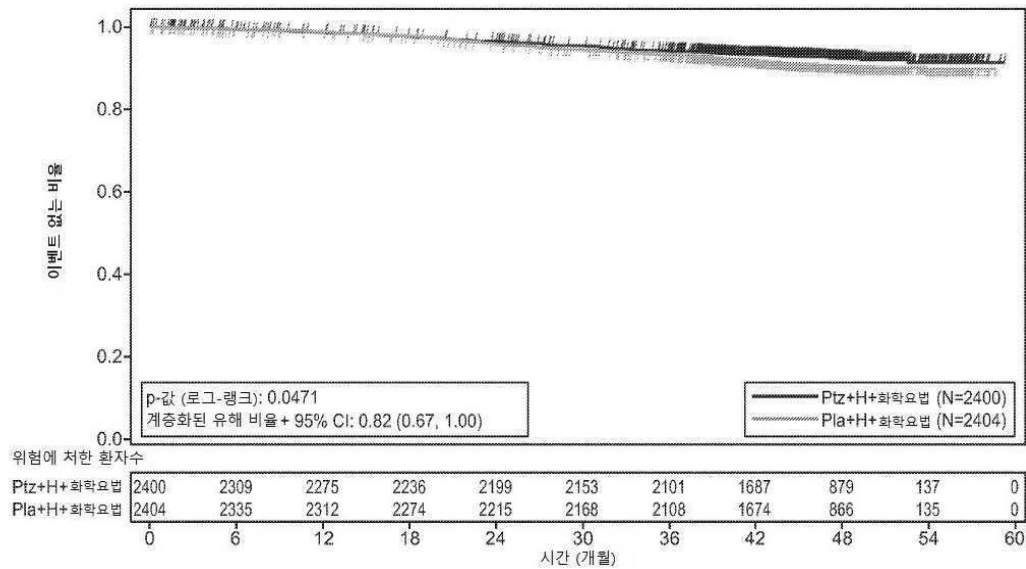
처리 요법에 의한 첫 IDFS 이벤트에 대한 시간(개월)의 Kaplan-Meier 플롯
 중앙 호르몬 수용체 양성 환자, ITT 집단
 프로토콜: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



프로그램: /opt/BIOSTAT/prod/cdp11450/r25126a/g_ef_km.sas 결과 : /opt/BIOSTAT/prod/cd11450g/j25126a/reports/g_ef_km_IDFS_CHRP_IT.pdf 25FEB2017 12:00

도면10

첫-오프 날짜: 2016년 12월19일
 첫 IDFS 이벤트에 대한 시간(개월)의 Kaplan-Meier 플롯-치료 요법에 의해 검열받은 환자를 나타냄, ITT 집단
 프로토콜: BIG 4-11/BO25126/TOC4939G



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> GENENTECH, INC.

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

<120> ADJUVANT TREATMENT OF HER2-POSITIVE BREAST CANCER

<130> P34141-WO

<140><141><150> 62/486,876

<151> 2017-04-18

<150> 62/469,317

<151> 2017-03-09

<150> 62/466,239

<151> 2017-03-02

<160> 22

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 195

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys Leu Arg Leu Pro Ala Ser
1 5 10 15

Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His Leu Tyr Gln Gly Cys Gln
20 25 30

Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr Leu Pro Thr Asn Ala Ser
35 40 45

Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Gln Gly Tyr Val Leu Ile
50 55 60

Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu Gln Arg Leu Arg Ile Val
65 70 75 80

Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr Ala Leu Ala Val Leu Asp
85 90 95

Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro Val Thr Gly Ala Ser Pro
100 105 110

Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser Leu Thr Glu Ile Leu Lys
115 120 125

Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln Leu Cys Tyr Gln Asp Thr
130 135 140

Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn Asn Gln Leu Ala Leu Thr
145 150 155 160

Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys His Pro Cys Ser Pro Met
165 170 175

Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser Ser Glu Asp Cys Gln Ser
180 185 190

Leu Thr Arg
195

<210> 2

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys Ala Arg Cys Lys Gly Pro Leu Pro Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu His Phe Asn His Ser Gly Ile Cys Glu

35 40 45

Leu His Cys Pro Ala Leu Val Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Phe Glu Ser

50 55 60

Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ser Cys Val Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Cys Pro Leu His Asn Gln Glu Val Thr Ala Glu Asp Gly Thr Gln

100 105 110

Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys Pro Cys Ala Arg Val

115 120

<210> 3

<211> 169

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

1 5 10 15

Ser Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys Lys Ile Phe Gly Ser

20 25 30

Leu Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp Pro Ala Ser Asn Thr

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg Gly Arg Ile Leu His
 85 90 95
 Asn Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu
 100 105 110
 Gly Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His
 115 120 125
 His Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu
 130 135 140
 Phe Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu
 145 150 155 160
 Asp Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala
 165
 <210> 4
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr
 1 5 10 15
 Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu
 20 25 30
 Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg
 35 40 45
 His Cys Leu Pro Cys His Pro Glu Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val
 50 55 60
 Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr
 65 70 75 80
 Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro
 85 90 95
 Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala
 100 105 110
 Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn Cys Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp

115 120 125
 Asp Lys Gly Cys Pro Ala Glu Gln Arg Ala Ser Pro Leu Thr
 130 135 140
 <210> 5
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 5

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 6
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 6

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Thr Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Ser Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Arg Ile Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Phe Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 7

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 7

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

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 8

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 8

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

1	5	10	15
Ser	Leu Arg	Leu Ser Cys	Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
	20	25	30
Thr	Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40	45
Ala	Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe		
	50	55	60
Lys	Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75	80
Leu	Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
Ala	Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly		
	100	105	110
Thr	Leu Val Thr Val Ser Ser		

115

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 9

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Leu Pro Trp
85 90 95

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

<210> 10

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 10

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Val Gly Tyr Ser Leu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 11
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 11
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

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

 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 12

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 12

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350

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

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 13

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 13

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 14

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 14

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

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

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

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

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
					85					90					95				
Ser	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln				
100					105					110									
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val				
115					120					125									
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala				
130					135					140									
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser				
145					150					155					160				
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val				
					165					170					175				
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro				
180					185					190									
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys				
195					200					205									
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp				
210					215					220									
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly				
225					230					235					240				
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile				
245					250					255									
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu				
260					265					270									
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His				
275					280					285									
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg				
290					295					300									
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys				

305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly

<210> 15

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400

> 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val
 20 25 30
 Ser Ile Gly Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

35 40 45
 Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg
 50 55 60

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser
 65 70 75 80
 Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile
 85 90 95
 Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110
 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 145 150 155 160
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195 200 205
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 16

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 16

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

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr			
20		25	30
Thr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35		40	45
Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe			
50		55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Val Asp Arg Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85		90	95
Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
100		105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
115		120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
130		135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
165		170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
180		185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
195		200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
210		215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
245		250	255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (10)..(10)
<223> /replace="Ser"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> /note=" Residue given in the sequence has no preference
    with respect to that in the annotations for said position "
<400> 17
Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Met Asp
1           5           10
<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    peptide"

<400> 18
Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe Lys
1           5           10           15
Gly

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    peptide"
<400> 19
Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr

```

```

1             5             10

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

        peptide"

<400> 20

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly Val Ala

1             5             10

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

        peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Leu"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Glu"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Ser"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(7)

<223> /note="Residue given in the sequence has no preference

        with respect to that in the annotations for said position "

<400> 21

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

```

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 22

Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr

1 5