

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0053686

(43) 공개일자 2023년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2863 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-7009896

(22) 출원일자(국제) 2021년08월25일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2023년03월22일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2021/057794

(87) 국제공개번호 WO 2022/043895

국제공개일자 2022년03월03일

(30) 우선권주장

63/069,748 2020년08월25일 미국(US)

(71) 출원인

얀센 바이오테크 인코포레이티드

미국 펜실베이니아주 19044 호삼 릿지뷰 드라이브
800/850

(72) 발명자

노브라우치, 롤랜드

미국 펜실베이니아 19477 스프링 하우스 맥킨 로드
1400

무레스, 쉐리

미국 펜실베이니아 19477 스프링 하우스 맥킨 로드
1400

(74) 대리인

특허법인한성

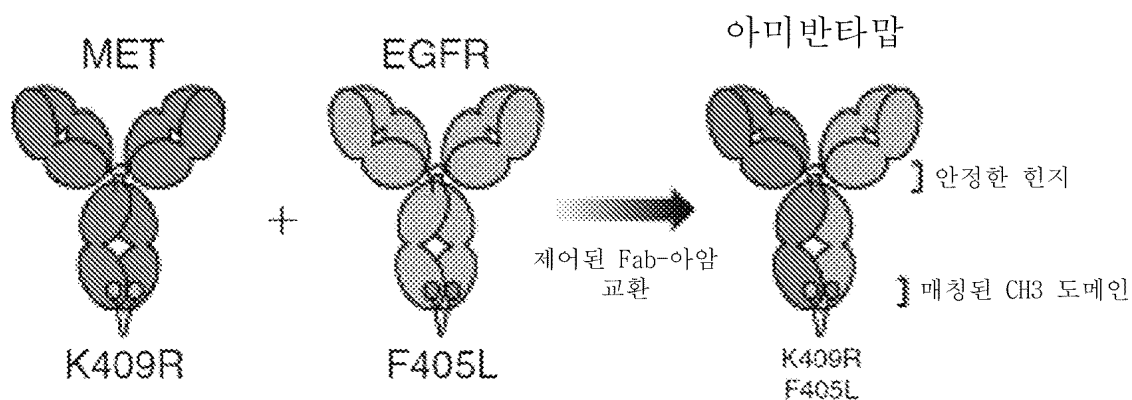
전체 청구항 수 : 총 26 항

(54) 발명의 명칭 EGFR 돌연변이를 갖는 비소세포 폐암의 치료

(57) 요약

본 발명은 EGFR 엑손 20 삽입 및 다른 흔하지 않은(uncommon) EGFR 돌연변이를 갖는 대상체의 치료에 관한 것이다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/732 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서,

상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 항-표피 성장 인자 수용체 (EGFR)/간세포 성장 인자 수용체(c-Met) 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

- a) 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;
- b) 상기 샘플에서 EGFR 엑손 20 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및
- c) 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 투여하거나 투여를 위해 제공하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 3

EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이(여기서, X는 G 이외의 임의의 아미노산임)에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서,

상기 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 항-표피 성장 인자 수용체(EGFR)/간세포 성장 인자 수용체(c-Met) 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

- a) 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;
- b) 상기 샘플에서 EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및
- c) 상기 S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 투여하거나 투여를 위해 제공하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 1의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 서열 번호 2의 HCDR2, 서열 번호 3의 HCDR3, 서열 번호 4의 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 서열 번호 5의 LCDR2 및 서열 번호 6의 LCDR3을 포함하고, 상기 c-Met에 결합하는 제2 도메인은 서열 번호 7의 HCDR1, 서열 번호 8의 HCDR2, 서열 번호 9의 HCDR3, 서열 번호 10의 LCDR1, 서열 번호 11의 LCDR2 및 서열 번호 12의 LCDR3을 포함하는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인은 서열 번호 13의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 14의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 상기 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함하는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동중형(isotype)인, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 제1 중쇄(HC1), 서열 번호 18의 제1 경쇄(LC1), 서열 번호 19의 제2 중쇄(HC2) 및 서열 번호 20의 제2 경쇄(LC2)를 포함하는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 푸코스 함량이 약 1% 내지 약 15%인 바이안테나리(biantennary) 글리칸 구조를 포함하는, 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 하나 이상의 이전 항암 요법에 의한 치료에 대해 재발성 또는 저항성인, 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 하나 이상의 이전 항암 요법은 하나 이상의 화학치료제, 면역관문 억제제, 표적화된 항암 요법 또는 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 하나 이상의 이전 항암 요법은 카르보플라틴, 파클리탁셀, 켄시타빈, 시스플라틴, 비노렐빈, 도세탁셀, 팔보시클립, 크리조티닙, PD-(L)1 축 억제제, EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제, AXL의 억제제, 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캅마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체는 치료 미경험(treatment naïve) 상태인, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 폐암, 위암, 직결장암, 뇌암, 상피 세포로부터 유래된 암, 유방암, 난소암, 직결장암, 항문암, 전립선암, 신장암, 방광암, 두경부암, 인두암, 코의 암, 췌장암, 피부암, 구강암, 혀암, 식도암, 질암, 자궁경부암, 비장암, 고환암, 위암, 흉선암, 결장암, 갑상선암, 간암, 간세포암종(HCC) 또는 산발성 또는 유전성 유두상 신세포 암종(PRCC), 또는 이들의 임의의 조합인, 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 폐암은 비소세포 폐암(NSCLC), 소세포 폐암(SCLC) 또는 폐 선암종, 폐의 육종모양 암종 또는 이들의 임의의 조합인, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 항암 요법을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 하나 이상의 항암 요법은 화학요법, 방사선 요법, 수술, 표적화된 항암 요법, 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 키나제 억제제는 EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제 또는 AXL의 억제제인, 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 키나제 억제제는 라제르티닙, 포지오티닙, 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 만데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캄마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙인, 방법.

청구항 20

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이는 드 노보(*de novo*) 돌연변이인, 방법.

청구항 21

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이는 획득된 돌연변이인, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 140 mg 내지 약 1750 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 700 mg, 약 750 mg, 약 800 mg, 약 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg 또는 1400 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 1050 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 25

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 1400 mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 2회, 주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 4주에 1회 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 전자적으로 제출된 서열 목록에 대한 참조

[0002] 본 출원은 파일명이 "JB16371WOPCT1SEQLIST.txt"이고, 작성일이 2021년 8월 2일이며, 크기가 19 KB인 ASCII 포맷 서열 목록으로서 EFS-웹을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함한다. EFS-웹을 통해 제출된 서열 목록은 본 명세서의 일부이며, 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 EGFR 엑손 20 삽입 및 다른 흔하지 않은(uncommon) EGFR 돌연변이를 갖는 대상체의 치료에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 암에서의 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 및 수용체 티로신 키나제 중간엽-상피 전이 인자(c-Met) 둘 모두의 개별적인 역할은 잘 확립되어 있으며, 이로써 이들 표적은 병용 요법에 매력적이게 된다. 두 수용체 모두는 동일한 생존 경로 및 항-아포토시스 경로(ERK 및 AKT)를 통해 신호전달하며; 이에 따라, 이 쌍을 조합해서 억제하는 것

은 보상적인 경로 활성화에 대한 잠재성을 제한하며, 그럼으로써 전체 효능을 개선할 수 있다.

[0006]

종양원성 운전자 돌연변이(oncogenic driver mutation)에 기초한 진행성 비소세포 폐암(NSCLC)의 분자 세그먼트화는 처치가능한(actionable) 운전자 돌연변이를 갖는 환자에 대해 전체 생존 및 삶의 질을 개선해 왔으며, 고형 종양 표적화된 요법을 확고히 다져 왔다. EGFR 유전자에서의 돌연변이(1,2)는 하류 성장 및 생존 신호전달 경로를 구성적으로 활성화시키며, 이는 종양 성장을 위한 EGFR 경로에 대한 의존성으로 이어진다. 폐 선암종을 갖는 백인의 거의 20% 및 아시아인의 최대 50%가 EGFR 내에 돌연변이를 보유한다(문헌[Kris MG, Johnson BE, Berry LD, et al. Using Multiplexed Assays of Oncogenic Drivers in Lung Cancers to Select Targeted Drugs. *Jama-J Am Med Assoc* 2014;311(19):1998-2006; Travis WD. 2015 WHO Classification of the Pathology and Genetics of Tumors of the Lung. *Journal of Thoracic Oncology* 2015;10(9):S68-S]).

[0007]

EGFR 활성화 돌연변이는 처음 4개의 엑손(18부터 21까지)에서 보고되어 있는데, 이들은 그의 티로신 키나제 도메인에 대한 변화를 가져온다. 엑손 18, 19 및 21 내에 "고전적인" EGFR 돌연변이 - 예를 들어, 엑손 19 결실 또는 L858R - 를 보유하는 NSCLC는 1세대, 2세대 및 3세대 EGFR 티로신 키나제 억제제(TKI), 예컨대 에를로티닙, 아파티닙 및 오시메르티닙에 의한 치료에 대해 감수성이다(문헌[Gazdar AF. Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 2009;28 Suppl 1]; 문헌[Tsigelny IF et al. Molecular determinants of drug-specific sensitivity for epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 19 and 20 mutants in non-small cell lung cancer. *Oncotarget* 2015;6(8):6029-39]; 문헌[Wyse S, Huang PH. Targeting EGFR exon 20 insertion mutations in non-small cell lung cancer. *Signal transduction and targeted therapy* 2019;4:5]; 문헌[Zhong WZ, Zhou Q, Wu YL. The resistance mechanisms and treatment strategies for EGFR-mutant advanced non-small-cell lung cancer. *Oncotarget* 2017;8(41):71358-70]). 대조적으로, EGFR 엑손 20 돌연변이는, 위치 762 내지 823에서 아미노산으로 번역되고, C-나선(762 내지 766), 및 그 다음에 위치하는 루프(767 내지 775)를 포함하는 뉴클레오티드를 포함한다(문헌[Yasuda H, et al. Structural, biochemical, and clinical characterization of epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 20 insertion mutations in lung cancer. *Science translational medicine* 2013;5(216):216ra177]). 엑손 20에서의 1 내지 7개의 아미노산의 삽입 돌연변이는 EGFR에서의 C-나선의 말단에 웨지(wedge)를 형성하며, 이러한 웨지는 활성 키나제 입체형태를 촉진시킨다. NSCLC의 구별되고 고도로 이종성인 하위세트인 EGFR 엑손20 삽입 운전자 돌연변이(엑손 20ins)는 모든 EGFR 돌연변이의 4% 내지 12%를 나타낸다(문헌[Yasuda H, et al. *Sci Transl Med* 2013;5(216)]; 문헌[Russo A, et al. Heterogeneous Responses to Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Tyrosine Kinase Inhibitors (TKIs) in Patients with Uncommon EGFR Mutations: New Insights and Future Perspectives in this Complex Clinical Scenario. *Int J Mol Sci* 2019;20(6)]; 문헌[Riess JW, et al. Diverse EGFR Exon 20 Insertions and Co-Occurring Molecular Alterations Identified by Comprehensive Genomic Profiling of NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology* 2018;13(10):1560-8]). 이들 엑손20ins 돌연변이는 일반적으로 승인된 EGFR-TKI에 대해 비감수성이고 불량한 예후와 관련되어 있으며; 이에 따라 매우 충족되지 않은 의학적 요구의 영역을 나타낸다(문헌[Wyse S, Huang PH. Targeting EGFR exon 20 insertion mutations in non-small cell lung cancer. *Signal Transduct Tar* 2019;4]; 문헌[Oxnard GR, et al. Natural History and Molecular Characteristics of Lung Cancers Harboring EGFR Exon 20 Insertions. *Journal of Thoracic Oncology* 2013;8(2):179-84]). 또한, 다른 흔하지 않은 EGFR 활성화 돌연변이, 예컨대 S768I, L861Q 및 G719X가 NSCLC 환자에서 보고되어 있다. 흔하지 않은 EGFR 돌연변이는 엑손 18 내지 21 내의 분자적 변경에 따라 EGFR-표적화된 약물에 대해 변동성이 큰 효능을 나타내는데, 이는 여전히 완전히 이해되어 있지 않다. 엑손 18에서의 G719X(여기서, X는 G 이외의 아미노산일 수 있음), 엑손 21에서의 L861Q, 및 엑손 20에서의 S768I의 치환 돌연변이는 흔하지 않은 돌연변이 중에서 가장 빈번한 돌연변이이다. 이러한 집단을 위한 치료 전략에 대해 명시적인 합의가 없다(문헌[Zhang T et al. Treatment of uncommon EGFR mutations in non-small cell lung cancer: new evidence and treatment. *Transl Lung Cancer Res.* 2019 Jun;8(3):302-316]).

[0008]

최근에, 포지오티닙 및 TAK-788이 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 종양을 갖는 환자에서 임상 평가를 받아 오고 있는 중이다(문헌[Yang ZD, et al. A phase 2 study of poziotinib in patients with EGFR or HER2 exon 20 mutation-positive non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2018;36(15)]; 문헌[Janne PA, et al. Antitumor activity of TAK-788 in NSCLC with EGFR exon 20 insertions. *J Clin Oncol* 2019;37(15)]). 초기의 유망한 효능에도 불구하고, 미국 FDA는 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자에서의 낮은 반응률(약 14%)로 인해 포지오티닙에 대한 혁신적 치료제 지정(Breakthrough Therapy Designation)을 부인하였다.

더욱이, 포지오티닙 및 TAK-788 둘 모두는, EGFR 야생형과 비교하여 EGFR 엑손20ins에 대한 선택성의 결여로 인해 EGFR 야생형 관련 독성의 높은 비율로 이어졌으며, 이는 그들의 임상 유용성을 제한한다(문헌[Wyse S, Huang PH. Targeting EGFR exon 20 insertion mutations in non-small cell lung cancer. Signal Transduct Tar 2019;4]).

[0009] 따라서, 엑손20ins 및 다른 흔하지 않은 돌연변이를 갖는 EGFR 또는 c-Met 양성 암의 더 효과적인 치료를 나타낼 개선된 치료제 또는 치료제들의 병용에 대한 필요성이 있다.

발명의 내용

[0010] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 항-표피 성장 인자 수용체(EGFR)/간세포 성장 인자 수용체(c-Met) 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0011] 본 발명은 EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 항-표피 성장 인자 수용체(EGFR)/간세포 성장 인자 수용체(c-Met) 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0012] 본 발명은 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 사용하여 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은

[0013] a) 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;

[0014] b) 상기 샘플에서 EGFR 엑손 20 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및

[0015] c) 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 투여하거나 투여를 위해 제공하는 단계를 포함한다.

[0016] 본 발명은 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 사용하여 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은

[0017] a) 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;

[0018] b) 상기 샘플에서 EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및

[0019] c) 상기 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 투여하거나 투여를 위해 제공하는 단계를 포함한다.

[0020] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 제1 도메인은 서열 번호 1의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 서열 번호 2의 HCDR2, 서열 번호 3의 HCDR3, 서열 번호 4의 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 서열 번호 5의 LCDR2 및 서열 번호 6의 LCDR3을 포함하고, c-Met에 결합하는 제2 도메인은 서열 번호 7의 HCDR1, 서열 번호 8의 HCDR2, 서열 번호 9의 HCDR3, 서열 번호 10의 LCDR1, 서열 번호 11의 LCDR2 및 서열 번호 12의 LCDR3을 포함한다.

[0021] 일 실시 형태에서, EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인은 서열 번호 13의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 14의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0022] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형(isotype)이다.

[0023] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 제1 중쇄(HC1), 서열 번호 18의 제1 경쇄(LC1), 서열 번호 19의 제2 중쇄(HC2) 및 서열 번호 20의 제2 경쇄(LC2)를 포함한다.

[0024] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 푸코스 함량이 약 1% 내지 약 15%인 바이안테나리(biantennary) 글리칸 구조를 포함한다.

[0025] 일 실시 형태에서, 대상체는 하나 이상의 이전 항암 요법에 의한 치료에 대해 재발성 또는 저항성이다.

[0026] 일 실시 형태에서, 하나 이상의 이전 항암 요법은 하나 이상의 화학치료제, 면역관문 억제제, 표적화된 항암 요법 또는 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

- [0027] 일 실시 형태에서, 하나 이상의 이전 항암 요법은 카르보플라틴, 파클리탁셀, 젬시타빈, 시스플라틴, 비노렐빈, 도세탁셀, 팔보시클립, 크리조티닙, PD-(L)1 축 억제제, EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제, AXL의 억제제, 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캄마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0028] 일 실시 형태에서, 대상체는 치료 미경험(treatment naïve) 상태이다.
- [0029] EGFR 활성화 돌연변이는 L718Q, G719A, G719X(X는 임의의 아미노산임), L861X(X는 임의의 아미노산임), L858R, E746K, L747S, E749Q, A750P, A755V, V765M, C797S, L858P 또는 T790M 치환, E746 내지 A750의 결실, R748 내지 P753의 결실, M766과 A767 사이의 Ala(A)의 삽입, S768과 V769 사이의 Ser, Val 및 Ala(SVA)의 삽입, P772와 H773 사이의 Asn 및 Ser(NS)의 삽입, D761과 E762 사이, A763과 Y764 사이, Y764와 Y765 사이, M766과 A767 사이, A767과 V768 사이, S768과 V769 사이, V769와 D770 사이, D770과 N771 사이, N771과 P772 사이, P772와 H773 사이, H773과 V774 사이, V774와 C775 사이의 하나 이상의 아미노산의 삽입, EGFR 엑손 20에서의 하나 이상의 결실 또는 EGFR 엑손 20에서의 하나 이상의 삽입, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 엑손 20 돌연변이(하나 이상의 아미노산의 삽입)를 갖는 대상체는 일반적으로 EGFR 티로신 키나제 억제제(TKI)에 대해 저항성을 나타낸다(예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO2018/094225호 참조).
- [0030] 일 실시 형태에서, 암은 폐암, 위암, 직결장암, 뇌암, 상피 세포로부터 유래된 암, 유방암, 난소암, 직결장암, 항문암, 전립선암, 신장암, 방광암, 두경부암, 인두암, 코의 암, 췌장암, 피부암, 구강암, 혀암, 식도암, 질암, 자궁경부암, 비장암, 고환암, 위암, 흉선암, 결장암, 갑상선암, 간암, 간세포 암종(HCC) 또는 산발성 또는 유전성 유두상 신세포 암종(PRCC), 또는 이들의 임의의 조합이다.
- [0031] 일 실시 형태에서, 폐암은 비소세포 폐암(NSCLC), 소세포 폐암(SCLC) 또는 폐 선암종, 폐의 육종모양 암종 또는 이들의 임의의 조합이다.
- [0032] 일 실시 형태에서, 본 발명의 방법은 하나 이상의 항암 요법을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0033] 일 실시 형태에서, 하나 이상의 항암 요법은 화학요법, 방사선 요법, 수술, 표적화된 항암 요법, 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0034] 일 실시 형태에서, 키나제 억제제는 EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제 또는 AXL의 억제제이다.
- [0035] 일 실시 형태에서, 키나제 억제제는 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캄마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙이다.
- [0036] 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 드 노보(*de novo*) 돌연변이이다.
- [0037] 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 획득된 돌연변이이다.
- [0038] 일 실시 형태에서, EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이는 드 노보 돌연변이이다. 일 실시 형태에서, EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이는 획득된 돌연변이이다. 일 실시 형태에서, X는 G 이외의 임의의 아미노산이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719A이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719S이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719C이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719D이다.
- [0039] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 140 mg 내지 약 1750 mg의 용량으로 투여된다.
- [0040] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 700 mg, 약 750 mg, 약 800 mg, 약 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg 또는 1400 mg의 용량으로 투여된다.
- [0041] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 1050 mg의 용량으로 투여된다.
- [0042] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 1400 mg의 용량으로 투여된다.
- [0043] 일 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 2회, 주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 4주에 1회 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0044]

도 1a 내지 도 1g는 아미반타맵에 의한 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 갖는 Ba/F3 세포에서의 EGFR 및 c-Met 신호 전달 경로의 억제제를 보여준다. **도 1a**는 EGFR 및 cMet 이중특이성 항체인 아미반타맵의 구조의 개략도를 나타내고; **도 1b**는 안정한 Ba/F3 세포, PDC, PDO, 및 PDX 모델에서의 EGFR 엑손20 삽입의 개략도를 나타내고; **도 1c**는 아미반타맵, 게피티닙, 또는 오시메르티닙 중 어느 하나로 처리된, EGFR 엑손20ins(V769_D770insASV, D770delinsGY, H773_V774insH, Y764_V765insHH 및 D770_N771insSVD)를 안정하게 발현하는 Ba/F3 세포의 생존력을 나타내고; **도 1d**는 지시된 농도에서 72시간 동안 아미반타맵에 의한 처리 후에, 지시된 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 과발현하는 Ba/F3 세포 중의 단백질 수준을 나타내고; **도 1e**는 지시된 농도에서 6시간 동안 오시메르티닙 또는 게피티닙에 의한 처리 후에, 지시된 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 과발현하는 Ba/F3 세포 중의 단백질 수준을 나타내고; **도 1f**는 아미반타맵에 의한 처리 후에, EGFR D770delinsGY 또는 H773_V774insH 엑손20ins 돌연변이 중 어느 하나를 과발현하는 Ba/F3 세포에서의 세포 주기 단계의 분포를 나타내고; **도 1g**는 아미반타맵에 의한 처리 후에, 지시된 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 과발현하는 Ba/F3 세포 중의 단백질 수준을 나타낸다.

도 2a 내지 도 2e는 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 환자-유래 세포(Patient-Derived Cell, PDC) 및 환자-유래 오가노이드(Patient-Derived Organoid, PDO)에서의 EGFR 및 cMet 신호전달 경로의 억제제를 나타낸다. **도 2a**는 지시된 농도에서 72시간 동안 아미반타맵으로 처리된, 지시된 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 갖는 PDC 중의 단백질 수준을 나타내고; **도 2b**는 72시간 동안 아미반타맵 처리 후에, CellTiter-Glo를 통해 결정된 PDC의 세포 생존력을 나타내고; **도 2c**는 % 광학 밀도(O.D.)로서 측정된, PDC의 세포 증식에 대한 아미반타맵의 효과를 나타내고(* P < 0.0001, ** P < 0.001; 스튜던트 t-검정(Student's t-test)); **도 2d**는 IgG1 대조군 또는 아미반타맵으로 처리된 YUO-036(A767_V769dup) PDO의 용량-반응 곡선을 나타내고; **도 2e**는 IgG1 대조군 또는 아미반타맵으로 처리된 YUO-029(S768_D770dup) PDO의 용량-반응 곡선을 나타내고;

도 3a 내지 도 3c는 아미반타맵에 의한 처리 후에, EGFR 엑손20ins 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 및 PDC 세포에서의 EGFR 및 cMet의 내재화를 나타낸다. **도 3a**는 DFCI-127(P772_H773insPNP) 세포에서 검출되는 원형질막 상에서의 PE-EGFR 및 FITC-cMet 발현을 나타내고; **도 3b**는 DFCI-58(H773_V774insNPH) 세포에서 검출되는 원형질막 상에서의 PE-EGFR 및 FITC-cMet 발현을 나타내고; **도 3c**는 30분 동안의 자가포식 억제제 바필로마이신(100 nM)에 의한 전처리, 그리고 이어서 아미반타맵(1 mg/mL) 후에, D770delinsGY 또는 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3 세포주 중의 단백질 수준을 나타낸다.

도 4a 내지 도 4i는 IgG1 대조군, 또는 30 mg/kg으로 주당 2회 i.p. 주사로 투여되는 아미반타맵 중 어느 하나에 의한 처리 후에, EGFR 엑손20ins 이중이식편 모델에 대한 Ba/F3 세포 및 PDC에서의 종양 부하(tumor burden)의 감소를 나타낸다(* 비히클 또는 IgG1 대조군 대비 P < 0.0001). **도 4a**는 D770delinsGY 또는 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3 세포-보유 NOG 마우스에서의 종양 부피를 나타내고; **도 4b**는 D770delinsGY 또는 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3 세포-보유 NOG 마우스에서의 종양 부피의 % 변화를 나타낸 것으로, 이는 상기 이중이식편 마우스에서의 처리의 마지막 날에 평가되었고; **도 4c**는 D770delinsGY 또는 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3 세포-보유 NOG 마우스로부터의 종양 용해물 중의 단백질 수준을 나타내고; **도 4d**는 DFCI-127-보유 NOG 마우스의 종양 부피를 나타내고; **도 4e**는 처리의 마지막 날에 평가된, DFCI-127-보유 NOG 마우스에서의 종양 부피의 % 변화를 나타내고; **도 4f**는 비히클- 또는 아미반타맵-처리된 DFCI-127-보유 NOG 마우스로부터의 종양 용해물 중의 단백질 수준을 나타내고; **도 4g**는 YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스에서의 종양 부피를 나타내고; **도 4h**는 처리의 마지막 날에 평가된, YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스에서의 종양 부피의 % 변화를 나타내고; **도 4i**는 비히클- 또는 아미반타맵-처리된 YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스로부터의 종양 용해물 중의 단백질 수준을 나타낸다.

도 5a 내지 도 5e는 세톡시맵에 비해 아미반타맵의 월등한 ADCC 활성을 나타낸다. **도 5a**는 PBMC를 사용하여 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 발현하는 NSCLC PDC에 대한 아미반타맵-매개 ADCC 활성을 나타내고(E:T 비 = 50:1); **도 5b**는 PBMC의 존재 또는 부재 하에서 24시간 동안 IgG1, 아미반타맵(10 µg/ml) 또는 세톡시맵(10 µg/ml) 중 어느 하나로 처리된, DFCI-127 및 YU-1163 PDC에 대한 아미반타맵-매개 세포독성의 정량적 분석을 나타내고(E:T 비 = 5:1); **도 5c**는 PBMC와 함께 Fc 수용체 차단제에 의한 전처리 후에, 아미반타맵(10 µg/ml)-매개 ADCC 효과의 감소를 나타내고(E:T 비 = 50:1); **도 5d**는 IgG1, 아미반타맵, 또는 세톡시맵의 존재 하에서 PBMC와 공동배양된 PDC의 세포 배양 배지 중에서의 IFN-γ (pg/ml) 수준을 나타내는 것으로, 이는 ELISA에 의해 검출된 바와 같으며(* 동일한 농도에서의 세톡시맵 대비 P < 0.0001); **도 5e**는 Fc 수용체 차단제로 전처리된 PBMC가 아미반타맵(10 µg/ml)의 존재 하에서 배양 배지 중의 IFN-γ 수준을 감소시켰음을 나타낸다(* P < 0.0001, ** P <

0.001).

도 6a 내지 도 6d는 D770_N771insG EGFR 돌연변이를 갖는 PDX 모델에서 아미반타맵에 의한 종양의 감소를 나타낸다. **도 6a**는 PDX 모델에서 *EGFR* 유전자의 D770_N771 insG 돌연변이를 보여주는 생거(Sanger) 서열분석 데이터를 나타내고; **도 6b**는 비히클, 아미반타맵(10 mg/kg), 또는 세톡시맵(10 mg/kg)(주당 2회, i.p. 주사), 또는 포지오티닙(1 mg/kg)(Q.D.) 중 어느 하나로 처리된 BALB/c 누드 마우스 내에 이식된 환자-유래 종양의 군 평균 종양 부피를 나타내고(* $P < 0.0001$); **도 6c**는 10 mg/kg의 아미반타맵으로 처리된 YHIM-1029 PDX 모델로부터 얻어진 종양 중의 단백질 수준을 나타내고; **도 6d**는 10 mg/kg의 세톡시맵 또는 1 mg/kg의 포지오티닙으로 처리된 YHIM-1029 PDX 모델로부터 얻어진 종양 중의 단백질 수준을 나타내고;

도 7은 진행성 NSCLC를 갖는 환자에서 아미반타맵의 2-파트 1상 연구(NCT02609776)를 위한 연구 설계를 나타내고; 코호트 A(EGFR-의존성 저항성) 및 코호트 B(EGFR-비의존성 저항성)를 폐쇄하였다. 3GTKI = 3세대 티로신 키나제 억제제; amp = 증폭; C = 주기; ECOG PS = 미 동부 종양학 협력 그룹 수행도(Eastern Cooperative Oncology Group performance status); PK = 약동학적 특성; RP2D = 권장 2상 용량(recommended phase 2 dose); SOC = 표준 치료(standard of care).

도 8은 표적 병변 직경의 합에 있어서의 기저선으로부터의 최상의 변화 백분율을 나타낸다(* 미확인 부분 반응, a - EGFR TKI로 치료된 2명의 환자, 베바시주맵 + 방사선 요법을 가진 1명의 환자, 애쥬번트 면역-항암 화학요법을 가진 1명의 환자. 2명의 환자는 기저선 후 질병 평가를 갖지 않았으며, 이 도표에 포함되어 있지 않다. SoD = 직경의 합).

도 9는 최상의 반응을 나타낸다(a - 부분 반응 또는 더 우수한 반응, b - 부분 반응 또는 더 우수한 반응 또는 적어도 12주의 안정한 질병(2가지 질병 평가). NE = 평가 불가능(not evaluable); ORR = 전체 반응률; PD = 진행성 질병; PR = 부분 반응률; SD = 안정한 질병).

도 10은 시간 경과에 따른 표적 병변 직경의 합에 있어서의 기저선으로부터의 변화를 나타낸다(a - EGFR TKI로 치료된 2명의 환자, 베바시주맵 + 방사선 요법을 가진 1명의 환자, 애쥬번트 면역-항암 화학요법을 가진 1명의 환자).

도 11은 무진행 생존기간을 나타낸다.

도 12a 내지 도 12c는 아미반타맵에 의한 처리 후에, *EGFR* 엑손20ins 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자에서의 종양의 감소를 나타낸다. **도 12a**는 *EGFR* H773delinsNPY 돌연변이를 갖는 58세 환자에서 1050 mg 아미반타맵 치료 후의 방사선허적 반응을 나타내고; **도 12b**는 *EGFR* S768_D770dup 돌연변이를 갖는 48세 환자에서 1050 mg 아미반타맵 치료 후의 방사선허적 반응을 나타내고; **도 12c**는 *EGFR* 엑손20ins를 갖는 NSCLC에서의 아미반타맵의 다양한 항종양 기전의 제안된 모델을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

본 명세서에 인용된, 특허 및 특허 출원을 포함하지만 이에 한정되지 않는 모든 간행물은 마치 완전히 기재된 것처럼 본 명세서에 참고로 포함된다.

본 명세서에서 사용되는 용어는 단지 특정 실시 형태들을 설명하기 위한 것이며, 한정하는 것으로 의도되지 않음을 이해해야 한다. 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다.

본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 또는 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 시험 실시예에 사용될 수 있지만, 예시적인 방법 및 재료가 본 명세서에 기재되어 있다. 본 발명을 설명하고 청구함에 있어서, 하기 용어가 사용될 것이다.

달리 언급되지 않는 한, 목록이 제시되는 경우, 그러한 목록의 각각의 개별 요소, 및 그러한 목록의 하나하나의 모든 조합은 별개의 실시 형태임이 이해되어야 한다. 예를 들어, "A, B 또는 C"로 표현된 실시 형태의 목록은 실시 형태 "A", "B", "C", "A 또는 B", "A 또는 C", "B 또는 C" 또는 "A, B 또는 C"를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the")은 문맥이 명확하게 달리 지시하지 않으면, 복수의 지시 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "세포"에 대한 언급은 2개 이상의 세포의

조합 등을 포함한다.

- [0051] 다수의 언급된 요소들 사이의 접속 용어 "**및/또는**"은 개별 선택지 및 조합된 선택지 둘 모두를 포함하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 2개의 요소들이 "**및/또는**"에 의해 결합되는 경우, 제1 선택지는 제2 요소 없이 제1 요소의 적용가능성을 지칭한다. 제2 선택지는 제1 요소 없이 제2 요소의 적용가능성을 지칭한다. 제3 선택지는 제1 요소와 제2 요소가 함께 적용가능함을 지칭한다. 이들 선택지 중 어느 것이든 하나는 이 의미 내에 속하는 것으로 이해되며, 이에 따라 본 명세서에 사용되는 바와 같이 용어 "**및/또는**"의 요건을 충족시킨다. 이들 선택지 중 하나 초과와 동시 적용가능성 또한 이 의미 내에 속하는 것으로 이해되며, 이에 따라 용어 "**및/또는**"의 요건을 충족시킨다.
- [0052] 이행 용어 "**포함하는**", "**~로 본질적으로 이루어진**", 및 "**~로 이루어진**"은 특허 용어에서 그들의 일반적으로 허용되는 의미를 함축하는 것으로 의도되며; 즉, (i) "**구비하는**", "**함유하는**", 또는 "**특징으로 하는**"과 동의어인 "**포함하는**"은 포괄적 또는 개방형(open-ended)이고 추가의 언급되지 않은 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않으며; (ii) "**~로 이루어진**"은 청구범위에 명시되지 않은 임의의 요소, 단계, 또는 성분을 배제하고; (iii) "**~로 본질적으로 이루어진**"은 명시된 재료 또는 단계, 및 청구된 발명의 "**기본적이고 신규한 특성(들)**"에 실질적으로 영향을 주지 않는 것들"로 청구범위의 범주를 제한한다. 어구 "**포함하는**"(또는 이의 등가적 표현)의 관점에서 기재된 실시 형태는 또한 "**~로 이루어진**" 및 "**~로 본질적으로 이루어진**"의 관점에서 독립적으로 기재된 것들을 실시 형태로서 제공한다.
- [0053] "**공동투여**", "**~와 함께 투여**", "**~와 병용하여 투여**", "**~와 병용하여**" 등은 단일 환자에 대한 선택된 치료제들 또는 약물들의 투여를 포함하며, 이러한 치료제들 또는 약물들은 동일하거나 상이한 투여 경로에 의해 또는 동일하거나 상이한 시간에 투여되는 치료 계획(treatment regimen)을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0054] "**단리된**"은 분자가 생성되는 시스템, 예컨대 재조합 세포의 다른 성분으로부터 실질적으로 분리되고/되거나 정제된 분자(예컨대 합성 폴리뉴클레오타이드, 폴리펩티드, 벡터 또는 바이러스)의 상동 집단뿐만 아니라, 적어도 하나의 정제 또는 단리 단계를 거친 단백질을 지칭한다. "**단리된**"은 다른 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없는 분자를 지칭하며, 더 높은 순도로, 예컨대 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 순도로 단리된 분자를 포함한다.
- [0055] 압과 같은 질병 또는 장애와 관련하여 "**치료하다**", "**치료하는**" 또는 "**치료**"는 하기 중 하나 이상을 달성하는 것을 지칭한다: 장애의 중증도 및/또는 지속기간을 감소시킴; 치료되는 장애에 특징적인 증상의 악화를 억제함; 이전에 장애를 가졌던 대상체에서 그러한 장애의 재발을 제한하거나 예방함; 또는 장애에 대해 이전에 증상을 나타낸 대상체에서 증상의 재발을 제한하거나 예방함.
- [0056] 질병 또는 장애와 관련하여 "**예방하다**", "**예방하는**", "**예방**", 또는 "**예방법**"은 장애가 대상체에서 발생하는 것을 예방하는 것을 의미한다.
- [0057] "**진단하는**" 또는 "**진단**"은 대상체가 주어진 질병 또는 질환을 앓고 있는지, 또는 앞으로 주어진 질병 또는 질환이 발생할 수 있는지, 또는 이전에 진단된 질병 또는 질환에 대한 치료에 반응할 가능성이 높은지를 결정하는, 즉 치료에 반응할 가능성에 대해 환자 집단을 계층화하는 방법을 지칭한다. 진단은 전형적으로 진단되는 질병에 대한 일반적인 가이드라인 또는 대상체가 특정 치료에 반응할 가능성이 높음을 나타내는 다른 기준에 기초하여 의사에 의해 수행된다.
- [0058] "**반응성인**", "**반응성**" 또는 "**반응할 가능성이 높은**"은, 검출가능하든 검출 불가능하든 어느 것이든 간에, 하나 이상의 증상의 경감 또는 개선, 질병 정도의 저하, 안정화된(즉, 악화되지 않는) 질병 상태, 질병의 확산의 예방, 질병 진행의 지연 또는 둔화, 질병 상태의 개선 또는 고식, 및 관해(부분 또는 전체 어느 것이든 간에)와 같은 임의의 종류의 개선 또는 양성 반응을 지칭한다.
- [0059] "**새로 진단된**"은 EGFR 또는 c-Met 발현 암으로 진단받았지만 다발성 골수종에 대한 치료를 아직 제공받고 있지 않은 대상체를 지칭한다.
- [0060] "**치료적 유효량**"은 필요한 용량에서 그리고 필요한 시간 동안 원하는 치료 결과를 달성하는 데 유효한 양을 지칭한다. 치료적 유효량은 개체의 질병 상태, 연령, 성별, 및 체중, 그리고 치료제 또는 치료제들의 병용물이 개체에서 원하는 반응을 유도하는 능력과 같은 인자들에 따라 변동될 수 있다. 효과적인 치료제 또는 치료제들의 병용물의 예시적인 지표는, 예를 들어 환자의 개선된 웰빙(well-being)을 포함한다.
- [0061] "**불응성(refractory)**"은 치료에 반응하지 않는 질병을 지칭한다. 불응성 질병은 치료 전 또는 치료 시작 시점

에서 치료에 대해 저항성일 수 있거나, 또는 불응성 질병은 치료 동안 저항성이 될 수 있다.

- [0062] "재발성(relapsed)"은 치료제에 의한 이전 치료 후의 개선 기간 후에 질병 또는 질병의 징후 및 증상의 복귀를 지칭한다.
- [0063] "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. "비인간 동물"은 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비포유동물, 예컨대 비인간 영장류, 양, 개, 고양이, 말, 소, 닭, 양서류, 파충류 등을 포함한다. 용어 "대상체"와 "환자"는 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용된다.
- [0064] "약"은 당업자에 의해 결정된 바와 같은 특정 값이 허용되는 오차 범위 내에 있음을 의미하며, 이는 어떻게 그 값이 측정 또는 결정되는지, 즉 측정 시스템의 제한사항에 부분적으로 좌우될 것이다. 특정 검정, 결과 또는 실시 형태와 관련하여 실시예에서 또는 명세서에서의 어딘가 다른 곳에서 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, "약"은 당업계의 관행에 따른 1 표준 편차, 또는 최대 5%의 범위 어느 쪽이든 더 큰 값 이내에 있음을 의미한다.
- [0065] "암"은 비제어된 방식으로 증식하는 경향이 있고, 일부 경우에는 환자의 신체의 다른 영역으로 전이(확산)되는 경향이 있는 세포의 비정상적인 성장을 지칭한다.
- [0066] "EGFR 또는 c-Met 발현 암"은 EGFR 또는 c-Met의 검출가능한 발현을 갖거나 EGFR 또는 c-Met 돌연변이 또는 증폭을 갖는 암을 지칭한다. EGFR 또는 c-Met 발현, 증폭 및 돌연변이 상태는 서열분석, 형광 동소 혼성화(fluorescent *in situ* hybridization), 면역조직화학, 유세포측정법 또는 웨스턴 블롯팅(western blotting)과 같은 알려진 방법을 사용하여 검출될 수 있다.
- [0067] "표피 성장 인자 수용체" 또는 "EGFR"은 GenBank 수탁 번호 NP_005219에 제시된 아미노산 서열을 갖는 인간 EGFR(HER1 또는 ErbB1로도 알려짐(문헌[Ullrich *et al.*, *Nature* 309:418-425, 1984]))뿐만 아니라 이의 천연-발생 변이체를 지칭한다.
- [0068] "EGFR 엑손 20 돌연변이" 또는 "EGFR 엑손20ins" 또는 "엑손20ins"는, 위치 762 내지 823에서 아미노산으로 번역되고, C-나선(762 내지 766), 및 그 다음에 위치하는 루프(767-775)를 포함하는 뉴클레오티드 내에 적어도 하나의 돌연변이를 포함하는 인간 EGFR 유전자를 지칭한다(문헌[Yasuda H *et al.*, *Science Translational Medicine* 2013; 5(216):216ra177 doi 10.1126/scitranslmed.3007205] 참조). 엑손 20에서의 1 내지 7개의 아미노산의 삽입 돌연변이는 EGFR에서의 C-나선의 말단에 웨지를 형성하며, 이러한 웨지는 활성 키나제 입체형태를 촉진시킨다.
- [0069] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "간세포 성장 인자 수용체" 또는 "c-Met"는 GenBank 수탁 번호 NP_001120972에 제시된 아미노산 서열을 갖는 인간 c-Met 및 이의 천연 변이체를 지칭한다.
- [0070] "이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체" 또는 "이중특이성 EGFR/c-Met 항체"는 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 갖는 이중특이성 항체를 지칭한다. EGFR에 특이적으로 결합하는 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 도메인은 전형적으로 VH/VL 쌍이고, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 EGFR 및 c-Met에 대한 결합의 관점에서 1가이다.
- [0071] "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합한다" 또는 "특이적으로 결합하는" 또는 "결합한다"는 항체가 항원 또는 항원 내의 에피토프에 대해 다른 항원들에 대한 친화성보다 더 큰 친화성으로 결합하는 것을 지칭한다. 전형적으로, 항체는 약 5×10^{-8} M 이하, 예를 들어 약 1×10^{-9} M 이하, 약 1×10^{-10} M 이하, 약 1×10^{-11} M 이하, 또는 약 1×10^{-12} M 이하의 평형 해리 상수(K_D)로 항원 또는 항원 내의 에피토프에 결합하며, 이때 전형적으로 K_D 는 비특이적 항원(예를 들어, BSA, 카세인)에 결합하기 위한 그의 K_D 보다 적어도 100배 더 적다. 해리 상수는 알려진 프로토콜을 사용하여 측정될 수 있다. 그러나, 항원 또는 항원 내의 에피토프에 결합하는 항체는 다른 관련 항원들과의, 예를 들어 다른 종(상동체), 예컨대 인간 또는 원숭이, 예를 들어 마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*)(사이노몰거스, 사이노(cyno)) 또는 판 트로글로디테스(*Pan troglodytes*)(침팬지, 침프(chimp))로부터의 동일한 항원과의 교차-반응성을 가질 수 있다. 단일특이성 항체는 하나의 항원 또는 하나의 에피토프에 결합하지만, 이중특이성 항체는 2개의 별개의 항원 또는 2개의 별개의 에피토프에 결합한다.
- [0072] "항체"는 광의를 의미하며, 무린, 인간, 인간화 및 키메라 단일클론 항체를 포함한 단일클론 항체, 항원-결합 단편, 다중특이성 항체(예컨대, 이중특이성, 삼중특이성, 사중특이성 등), 이량체성, 사량체성, 또는 다량체성 항체, 단일쇄 항체, 도메인 항체를 포함하는 면역글로불린 분자, 및 필요한 특이성의 항원 결합 부위를 포함하

는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성을 포함한다. "전장 항체"는 이항화물 결합에 의해 상호연결된 2개의 중쇄(HC) 및 2개의 경쇄(LC)뿐만 아니라 이의 다량체(예를 들어, IgM)로 구성된다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(도메인 CH1, 힌지, CH2 및 CH3으로 구성됨)으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)으로 구성된다. VH 및 VL 영역은 프레임워크 영역(FR)이 산재된, 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 초가변성의 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 CDR 및 4개의 FR 세그먼트로 구성되며, 아미노-말단부터 카르복시-말단까지 하기의 순서대로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4.

[0073] "상보성 결정 영역(CDR)"은 항원에 결합하는 항체 영역이다. CDR은 하기와 같은 다양한 도해(delineation)를 사용하여 정의될 수 있다: 카바트(Kabat) (문헌[Wu et al. (1970) *J Exp Med* 132: 211-50]) (문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991]), 초티아(Chothia) (문헌[Chothia et al. (1987) *J Mol Biol* 196: 901-17]), IMGT (문헌[Lefranc et al. (2003) *Dev Comp Immunol* 27: 55-77]) 및 AbM (문헌[Martin and Thornton (1996) *J Biol Biol* 263: 800-15]). 이러한 다양한 도해와 가변 영역 넘버링 사이의 상응성이 설명되어 있다(예를 들어, 문헌[Lefranc et al. (2003) *Dev Comp Immunol* 27: 55-77]; 문헌[Honegger and Pluckthun, (2001) *J Mol Biol* 309:657-70]; International ImmunoGeneTics (IMGT) 데이터베이스; 웹 자원(Web resource), <http://www.imgt.org> 참조). UCL Business PLC의 abYsis와 같은 이용가능한 프로그램을 사용하여 CDR을 상세하게 설명할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "CDR", "HCDR1", "HCDR2", "HCDR3", "LCDR1", "LCDR2" 및 "LCDR3"은 본 명세서에 달리 명시적으로 기재되어 있지 않는 한, 상기에 기재된 방법들인 카바트, 초티아, IMGT 또는 AbM 중 임의의 것에 의해 정의된 CDR을 포함한다.

[0074] 면역글로불린은 중쇄 불변 도메인 아미노산 서열에 따라, 5개의 주요 분류, IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM으로 정해될 수 있다. IgA 및 IgG는 동종형 IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로 추가로 하위-분류된다. 임의의 척추동물 종의 항체 경쇄는 그의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 명확하게 별개인 2개의 유형, 즉 카파(κ) 및 람다(λ) 중 하나로 정해될 수 있다.

[0075] "항원 결합 단편"은 항원에 결합하는 면역글로불린 분자의 일부분을 지칭한다. 항원 결합 단편은 합성 폴리펩티드이거나, 효소적으로 얻을 수 있는 폴리펩티드이거나, 유전자 조작된 폴리펩티드일 수 있으며, VH, VL, VH 및 VL, Fab, F(ab')₂, Fd 및 Fv 단편, 1개의 VH 도메인 또는 1개의 VL 도메인으로 이루어진 도메인 항체(dAb), 상어 가변 IgNAR 도메인, 낙타화(camelized) VH 도메인, 항체의 CDR을 모방하는 아미노산 잔기로 이루어진 최소 인식 단위, 예컨대 FR3-CDR3-FR4 부분, HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3 및 LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3을 포함한다. VH 및 VL 도메인은 합성 링커를 통해 함께 연결되어 다양한 유형의 단일쇄 항체 설계를 형성할 수 있으며, 여기서 VH/VL 도메인은 VH 및 VL 도메인이 별도의 단일쇄 항체 작체물에 의해 발현되는 경우에 분자내에서, 또는 분자간에 쌍을 이루어서 1가 항원 결합 부위, 예컨대 단일쇄 Fv(scFv) 또는 다이아바디(diabody)를 형성할 수 있으며, 이는, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO1998/44001호, WO1988/01649호, WO1994/13804호, 및 WO1992/01047호에 기재되어 있다.

[0076] "단일클론 항체"는 실질적으로 균질한 항체 분자 집단으로부터 얻어진 항체를 지칭하는데, 즉, 집단을 구성하는 개별 항체는 항체 중쇄로부터 C 말단 라이신의 제거와 같은 가능성 있는 잘 알려진 변경, 또는 아미노산 이성질화 또는 탈아미드화, 메티오닌 산화 또는 아스파라긴 또는 글루타민 탈아미드화와 같은 번역 후 변형을 제외하고는 동일하다. 단일클론 항체는 전형적으로 1개의 항원 에피토프에 결합한다. 이중특이성 단일클론 항체는 2개의 별개의 항원 에피토프에 결합한다. 단일클론 항체는 항체 집단 내에 불균질한 글리코실화를 가질 수 있다. 단일클론 항체는 단일특이성 또는 다중특이성, 예컨대 이중특이성 1가, 2가 또는 다가일 수 있다.

[0077] "재조합체"는, 상이한 공급원으로부터의 세그먼트들이 결합되어 재조합 DNA, 항체 또는 단백질을 생성할 때 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 분리된 DNA, 항체 및 다른 단백질을 지칭한다.

[0078] "이중특이성"은 2개의 별개의 항원 또는 동일한 항원 내의 2개의 별개의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 이중특이성 항체는 다른 관련 항원들에 대한, 예를 들어 다른 종(상동체), 예컨대 인간 또는 원숭이, 예를 들어 마카카 사이노몰거스(*Macaca cynomolgus*) (사이노몰거스, 사이노), 또는 판 트로글로디테스(*Pan troglodytes*)로부터의 동일한 항원에 대한 교차-반응성을 가질 수 있거나, 2개 이상의 별개의 항원 사이에 공유되는 에피토프에 결합할 수 있다.

[0079] "길항제" 또는 "억제제"는, 세포 단백질에 결합될 때, 그러한 단백질의 천연 리간드에 의해 유도되는 적어도 하나의 반응 또는 활성을 억제하는 분자를 지칭한다. 분자는, 적어도 하나의 반응 또는 활성이, 길항제의 부재

하에서(예를 들어, 음성 대조군) 억제되는 적어도 하나의 반응 또는 활성보다 적어도 약 20%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 100%만큼 더 많이 억제될 때, 또는 그러한 억제가 길항제의 부재 하에서의 억제와 대비하여 통계학적으로 유의할 때, 길항제이다.

[0080] "PD-(L)1 축 억제제"는 PD-1 하류 신호전달을 억제하는 분자를 지칭한다. PD-(L)1 축 억제제는 PD-1, PD-L1 또는 PD-L2에 결합하는 분자일 수 있다.

[0081] "생물학적 샘플"은 대상체 내에 존재하는 유체, 세포 또는 조직뿐만 아니라, 대상체로부터 분리된 유사한 유체, 세포, 또는 조직의 집합을 지칭한다. 예시적인 샘플은 생물학적 유체, 예컨대 혈액, 혈청 및 장막 유체, 혈장, 림프, 소변, 타액, 난액, 눈물 방울, 배설물, 객담, 분비 조직 및 장기의 점막 분비물, 질 분비물, 복수액, 흉강, 심낭, 복막강, 복강 및 다른 체강의 유체, 기관지 세척에 의해 수집된 유체, 활액, 대상체 또는 생물학적 공급원과 접촉된 액체 용액, 예를 들어, 세포 또는 장기 컨디셔닝된 배지를 포함하는 세포 및 장기 배양 배지, 세척액 등, 조직 생검물, 종양 조직 생검물, 종양 조직 샘플, 세침 흡인물, 외과적으로 절제된 조직, 기관 배양물 또는 세포 배양물이다.

[0082] 본 출원에 사용되는 바와 같이, "저 푸코스" 또는 "저 푸코스 함량"은 푸코스 함량이 약 1% 내지 15%인 항체를 지칭한다.

[0083] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "정상 푸코스" 또는 "정상 푸코스 함량"은 푸코스 함량이 약 50% 초과, 전형적으로 약 80% 초과 또는 85% 초과인 항체를 지칭한다.

[0084] 본 발명의 방법

[0085] 아미반타맙 또는 JNJ-61186372(JNJ-372)는 미국 특허 제9,593,164호에 기재된 IgG1 항-EGFR/c-Met 이중특이성 항체이다.

[0086] 본 발명은 아미반타맙이 EGFR 엑손 20 돌연변이를 갖는 대상체를 치료하는 데 효과적이라는 발견에 적어도 부분적으로 기초한다.

[0087] EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내에 1 내지 7개의 아미노산의 삽입 돌연변이를 포함한다. EGFR의 엑손 20은 위치 762 내지 823에서 아미노산으로 번역되는 뉴클레오티드를 포함한다. 그것은 C-나선(잔기 762 내지 766), 및 C-나선 다음에 위치하는 루프(잔기 767 내지 774)를 함유하며, 여기서 삽입은 리간드-의존성 EGFR 경로 활성화를 유도하고 종양발생을 야기할 수 있다. 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내의 1개의 아미노산의 삽입이다. 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내의 2개의 아미노산의 삽입이다. 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내의 3개의 아미노산의 삽입이다. 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내의 4개의 아미노산의 삽입이다. 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내의 5개의 아미노산의 삽입이다. 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내의 6개의 아미노산의 삽입이다. 일 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 내의 7개의 아미노산의 삽입이다.

[0088] 일 실시 형태에서, EGFR의 흔하지 않은 돌연변이는 S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이이다. 일 실시 형태에서, X는 G 이외의 임의의 아미노산이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719A이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719C이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719S이다. 일 실시 형태에서, G719X는 G719D이다.

[0089] 본 발명의 소정 실시 형태는 대상체가 하나 이상의 EGFR 엑손 20 돌연변이, 예컨대 삽입 돌연변이, 또는 다른 흔하지 않은 돌연변이를 갖는지를 결정하는 것에 관한 것이다. 돌연변이 검출 방법은 당업계에 알려져 있으며, 이에는 PCR 후의 핵산 서열분석, FISH, CGH, 또는 차세대 서열분석(NGS)이 포함된다. 일부 실시 형태에서, 엑손 20 돌연변이 또는 다른 흔하지 않은 돌연변이는 종양 조직 샘플을 사용하거나 혈장으로부터의 순환 유리 DNA를 사용함으로써 DNA 서열분석, 예컨대 차세대 서열분석(NGS)에 의해 검출된다.

[0090] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 분리된 이중특이성 항-표피 성장 인자 수용체(EGFR)/간세포 성장 인자 수용체(c-Met) 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0091] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐암을 갖는 대상체에게 분리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0092] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 비소세포 폐암(NSCLC)을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 NSCLC를 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0093] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 소세포 폐암(SCLC)을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 SCLC를 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0094] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0095] 본 발명은 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 사용하여 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은
- [0096] 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;
- [0097] 상기 샘플에서 EGFR 엑손 20 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계;
- [0098] 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 투여하거나 투여를 위해 제공하는 단계를 포함한다.
- [0099] 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플이다.
- [0100] 일부 실시 형태에서, 생물학적 샘플은 종양 조직 생검이다.
- [0101] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는
- [0102] EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 제1 도메인은 서열 번호 1의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 서열 번호 2의 HCDR2, 서열 번호 3의 HCDR3, 서열 번호 4의 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 서열 번호 5의 LCDR2 및 서열 번호 6의 LCDR3을 포함하고; 제2 도메인은 서열 번호 7의 HCDR1, 서열 번호 8의 HCDR2, 서열 번호 9의 HCDR3, 서열 번호 10의 LCDR1, 서열 번호 11의 LCDR2 및 서열 번호 12의 LCDR3을 포함한다.
- [0103] 일부 실시 형태에서, EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인은 서열 번호 13의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 14의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고; c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.
- [0104] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형이다.
- [0105] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 제1 중쇄(HC1), 서열 번호 18의 제1 경쇄(LC1), 서열 번호 19의 제2 중쇄(HC2) 및 서열 번호 20의 제2 경쇄(LC2)를 포함한다.
- [0106] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 푸코스 함량이 약 1% 내지 약 15%인 바이안테나리 글리칸 구조를 포함한다.
- [0107] 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체는 바이안테나리 복합형의 Fc 올리고당을 보유하는 비교적 고도로 탈푸코실화된 항체의 성공적인 발현으로 이어지는 것으로 보고된 상이한 방법들을 사용하여 제조될 수 있는데, 이러한 방법에는, 예컨대 다음과 같은 것이 있다: 배양물 오스몰랄 농도(osmolality)의 제어(문헌[Konno *et al.*, Cytotechnology 64:249-65, 2012]), 숙주 세포주로서의 변이체 CHO 세포주 Lec13의 적용(문헌[Shields *et al.*, J Biol Chem 277:26733-26740, 2002]), 숙주 세포주로서의 변이체 CHO 세포주 EB66의 적용(문헌[Olivier *et al.*, MAbs 2(4), 2010; Epub ahead of print; PMID:20562582]), 숙주 세포주로서의 래트 하이브리도마 세포주 YB2/0의 적용(문헌[Shinkawa *et al.*, J Biol Chem 278:3466-3473, 2003]), 특이적으로 α 1,6-푸코실트랜스퍼라제(*FUT8*) 유전자에 대한 짧은 간섭(small interfering) RNA의 도입(문헌[Mori *et al.*, Biotechnol Bioeng 88:901-908, 2004]), 또는 β -1,4-*N*-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III과 골지(Golgi) α -만노시다제 II 또는 강력한 알파-만노시다제 I 억제제인 키펀넨신(kifunensine)의 공발현(문헌[Ferrara *et al.*, J Biol Chem 281:5032-5036, 2006]; 문헌[Ferrara *et al.*, Biotechnol Bioeng 93:851-861, 2006]; 문헌[Xhou *et al.*, Biotechnol Bioeng 99:652-65, 2008]). 일반적으로, 항체의 글리칸 내의 푸코스 함량을 낮추는 것은 항체-매개 세포성 세포독성(ADCC)을 증강시킨다.

- [illegible]

합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0116] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 SCLC를 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 SCLC를 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0117] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0118] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형이고, EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0119] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형이고, EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0120] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 NSCLC를 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 NSCLC를 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형이고, EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0121] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 SCLC를 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 SCLC를 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형이고, EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0122] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형이고, EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 13의 VH 및 서열 번호 14의 VL을 포함하고; 상기 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함한다.

[0123] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형이다. 위치 214, 356, 358, 422, 431, 435 또는 436(잔기 넘버링은 EU 넘버링에 따름)에서의 변이와 함께, 약간의 변이가 IgG1 불변 도메인 내에 존재한다 (예를 들어, 잘 알려진 동종이인자형) (예를 들어, IMGT 웹 자원(Web resource); IMGT 레퍼토리(Repertoire) (IG 및 TR); 단백질 및 대립유전자; 동종이인자형 참조). 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 임의의 IgG1 동종

이인자형, 예컨대 G1m17, G1m3, G1m1, G1m2, G1m27 또는 G1m28을 가질 수 있다.

- [0124] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 HC1, 서열 번호 18의 LC1, 서열 번호 19의 HC2 및 서열 번호 20의 LC2를 포함한다.
- [0125] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐암을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 HC1, 서열 번호 18의 LC1, 서열 번호 19의 HC2 및 서열 번호 20의 LC2를 포함한다.
- [0126] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 NSCLC를 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 NSCLC를 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 HC1, 서열 번호 18의 LC1, 서열 번호 19의 HC2 및 서열 번호 20의 LC2를 포함한다.
- [0127] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 SCLC를 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 SCLC를 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 HC1, 서열 번호 18의 LC1, 서열 번호 19의 HC2 및 서열 번호 20의 LC2를 포함한다.
- [0128] 본 발명은 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 또한 제공하며, 상기 방법은 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 폐 선암종을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 EGFR/c-Met 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 HC1, 서열 번호 18의 LC1, 서열 번호 19의 HC2 및 서열 번호 20의 LC2를 포함한다.
- [0129] 일부 실시 형태에서, 대상체는 하나 이상의 이전 항암 요법에 의한 치료에 대해 재발성 또는 저항성이다.
- [0130] 일부 실시 형태에서, 대상체는 하나 이상의 이전 항암 요법에 의한 치료의 결과로서 EGFR 엑손 20 돌연변이를 획득하였다.
- [0131] 일부 실시 형태에서, 대상체는 키나제 억제제에 의한 치료의 결과로서 EGFR 엑손 20 돌연변이를 획득하였다.
- [0132] 일부 실시 형태에서, 대상체는 EGFR 키나제 억제제에 의한 치료의 결과로서 EGFR 엑손 20 돌연변이를 획득하였다.
- [0133] 일부 실시 형태에서, 대상체는 c-Met 키나제 억제제에 의한 치료의 결과로서 EGFR 엑손 20 돌연변이를 획득하였다.
- [0134] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 이전 항암 요법은 하나 이상의 화학치료제, 면역관문 억제제, 표적화된 항암 요법 또는 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0135] 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제 또는 AXL의 억제제이다.
- [0136] 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캅마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙이다.
- [0137] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 이전 항암 요법은 카르보플라틴, 파클리탁셀, 젠시타빈, 시스플라틴, 비노렐빈, 도세탁셀, 팔보시클립, 크리조티닙, PD-(L)1 축 억제제, EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제, AXL의 억제제, 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캅마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0138] 일부 실시 형태에서, 대상체는 EGFR 억제제에 대해 저항성을 나타내거나 획득 저항성을 갖는다. 암이 저항성을 획득할 수 있는 예시적인 EGFR 억제제는 항-EGFR 항체 세톡시맵(ERBITUX[®]), 판티누무맵(VECTIBIX[®]), 마투주맵, 니모투주맵, 소분자 EGFR 억제제 에를로티닙(TARCEVA[®]), 게피티닙(IRESSA[®]), EKB-569(펠리티닙, 비가역적 EGFR

TKI), pan-ErbB 및 다른 수용체 티로신 키나제 억제제, 라파티닙(EGFR 및 HER2 억제제), 펠리티닙(EGFR 및 HER2 억제제), 반데타닙(ZD6474, ZACTIMATM, EGFR, VEGFR2 및 RET TKI), PF00299804(다코미티닙, 비가역적 pan-ErbB TKI), CI-1033(비가역적 pan-erbB TKI), 아파티닙(BIBW2992, 비가역적 pan-ErbB TKI), AV-412(이중 EGFR 및 ErbB2 억제제), EXEL-7647(EGFR, ErbB2, GEVGR 및 EphB4 억제제), CO-1686(비가역적 돌연변이체-선택적 EGFR TKI), AZD9291(비가역적 돌연변이체-선택적 EGFR TKI), 및 HKI-272(네라티닙, 비가역적 EGFR/ErbB2 억제제)이다.

[0139] 대상체는 항암 요법에 의한 치료에 대해 저항성을 나타내거나, 저항성이 발생되었거나, 또는 저항성 발생에 취약한지를 결정하기 위해 다양한 정성적 및/또는 정량적 방법이 사용될 수 있다. 항암 요법에 대한 저항성과 관련될 수 있는 증상은, 환자의 웰빙(well-being)의 감소 또는 정체, 종양 크기의 증가, 종양 성장의 정지성 또는 지연성 감소, 및/또는 체내에서 한 위치로부터 다른 기관, 조직 또는 세포로의 암성 세포의 확산을 포함한다. 암과 관련된 다양한 증상의 재확립 또는 악화는 또한, 대상체가 항암 요법에 대해 저항성이 발생되었거나 또는 저항성 발생에 취약하다는 것을 나타낼 수 있으며, 예컨대 식욕부진, 인지 기능이상, 우울증, 호흡곤란, 피로, 호르몬 교란, 호중구감소증, 통증, 말초 신경병증, 및 성기능이상이다. 암과 관련된 증상은 암의 유형에 따라 다양할 수 있다. 예를 들어, 자궁경부암과 관련된 증상은 비정상적인 출혈, 통상적이지 않은 중질 질 분비물, 정상 월경 주기와 관련 없는 골반통, 방광 통증 또는 배뇨 동안의 통증, 및 정기적인 월경 기간들 사이에서의 출혈, 성교 후, 질세척 후, 또는 골반 검사 후 출혈을 포함할 수 있다. 폐암과 관련된 증상은 지속적인 기침, 객혈, 숨참, 천명, 흉통, 식욕 상실, 노력 없이 일어나는 체중 감량, 및 피로를 포함할 수 있다. 간암에 대한 증상은 식욕 상실 및 체중 감량, 복통, 특히 등 및 어깨로 확대될 수 있는 복부의 우상부에서의 통증, 구역 및 구토, 전신 쇠약 및 피로, 종대된 간, 복부 종창(복수), 및 피부 및 눈의 흰자위의 황변(황달)을 포함할 수 있다. 종양학에서 숙련된 자는 특정 암 유형과 관련된 증상을 용이하게 확인할 수 있다.

[0140] 예시적인 PD-(L)1 축 억제제는 PD-1에 결합하는 항체, 예컨대 니블루맵(OPDIVO[®]), 켄브롤리루맵(KEYTRUDA[®]), 신틸리맵, 세미폴리맵(LIBTAYO[®]), 트리폴리바맵, 티셀렐리주맵, 스파르탈리주맵, 캄렐리주맵, 도스트랄리맵, 게놀림주맵 또는 세트렐리맵, 또는 PD-L1에 결합하는 항체, 즉 PD-L1 항체, 예컨대 엔바폴리맵, 아테졸리주맵(TECENTRIQ[®]), 두르발루맵(IMFINZI[®]) 및 아벨루맵(BAVENCIO[®])이다.

[0141] 시판 항체는 승인된 판매점 또는 약국을 통해 구매될 수 있다. 이들 소분자의 아미노산 서열 구조는 CAS 레지스트리로부터의 회사들에 의한 USAN 및/또는 INN 제출안으로부터 찾아볼 수 있다.

[0142] 일부 실시 형태에서, 대상체는 치료 미경험 상태이다.

[0143] 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이는 드 노보 돌연변이이다.

[0144] 암과 관련될 수 있는 EGFR 활성화 돌연변이는 EGFR의 적어도 하나의 생물학적 활성의 증가, 예컨대 상승된 티로신 키나제 활성, 수용체 동종이량체 및 이종이량체의 형성, 향상된 리간드 결합 등으로 이어지는 점 돌연변이, 결실 돌연변이, 삽입 돌연변이, 역위, 또는 유전자 증폭을 포함한다. 돌연변이는 EGFR 유전자 또는 이 유전자와 관련된 조절 영역의 임의의 부분에 위치할 수 있으며, 엑손 18, 19, 20 또는 21에서의 돌연변이 또는 키나제 도메인에서의 돌연변이를 포함할 수 있다. EGFR 활성화 돌연변이의 다른 예가 당업계에 알려져 있다(예를 들어, 미국 특허 출원 공개 US2005/0272083호 참조). EGFR 및 기타 ErbB 수용체 - 수용체 동종이량체 및 이종이량체, 수용체 리간드, 자가인산화 부위, 및 ErbB 매개 신호전달에 관여하는 신호전달 분자를 포함함 - 에 관한 정보는 당업계에 알려져 있다(예를 들어, 문헌[Hynes and Lane, Nature Reviews Cancer 5: 341-354, 2005] 참조).

[0145] 일부 실시 형태에서, EGFR 활성화 돌연변이는 L718Q, G719A, G719X(X는 임의의 아미노산임), L861X(X는 임의의 아미노산임), L858R, E746K, L747S, E749Q, A750P, A755V, V765M, C797S, L858P 또는 T790M 치환, E746 내지 A750의 결실, R748 내지 P753의 결실, M766과 A767 사이의 A1a(A)의 삽입, S768과 V769 사이의 Ser, Val 및 A1a(SVA)의 삽입, P772와 H773 사이의 Asn 및 Ser(NS)의 삽입, D761과 E762 사이, A763과 Y764 사이, Y764와 Y765 사이, M766과 A767 사이, A767과 V768 사이, S768과 V769 사이, V769와 D770 사이, D770과 N771 사이, N771과 P772 사이, P772와 H773 사이, H773과 V774 사이, V774와 C775 사이의 하나 이상의 아미노산의 삽입, EGFR 엑손 20에서의 하나 이상의 결실, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0146] 예시적인 c-Met 활성화 돌연변이는 c-Met 단백질의 적어도 하나의 생물학적 활성의 증가, 예컨대 상승된 티로신 키나제 활성, 수용체 동종이량체 및 이종이량체의 형성, 향상된 리간드 결합 등으로 이어지는 점 돌연변이, 결

실 돌연변이, 삽입 돌연변이, 역위, 또는 유전자 증폭을 포함한다. 돌연변이는 c-Met 유전자 또는 이 유전자와 관련된 조절 영역의 임의의 부분에 위치할 수 있으며, 예컨대 c-Met의 키나제 도메인에서의 돌연변이일 수 있다. 예시적인 c-Met 활성화 돌연변이는 잔기 위치 N375, V13, V923, R175, V136, L229, S323, R988, S1058/T1010 및 E168에서의 돌연변이이다. EGFR 및 c-Met 돌연변이 또는 유전자 증폭을 검출하기 위한 방법은 잘 알려져 있다.

[0147] 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 폐암, 위암, 직결장암, 뇌암, 상피 세포로부터 유래된 암, 유방암, 난소암, 직결장암, 항문암, 전립선암, 신장암, 방광암, 두경부암, 인두암, 코의 암, 췌장암, 피부암, 구강암, 혀암, 식도암, 질암, 자궁경부암, 비장암, 고환암, 위암, 흉선암, 결장암, 갑상선암, 간암, 간세포 암종(HCC) 또는 산발성 또는 유전성 유두상 신세포 암종(PRCC), 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 폐암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 위암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 결직장암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 뇌암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 상피 세포암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 유방암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 난소암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 결직장암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 항문암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 전립선암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 신장암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 방광암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 두경부암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 인두암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 코의 암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 췌장암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 피부암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 구강암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 혀암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 식도암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 질암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 자궁경부암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 비장암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 고환암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 위암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 흉선암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 결장암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 갑상선암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 간암을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 간세포 암종(HCC)을 포함한다. 일부 실시 형태에서, EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암은 산발성 또는 유전성 유두상 신세포 암종(PRCC)을 포함한다.

[0148] 일부 실시 형태에서, NSCLC는 편평 세포 암종, 선암종, 및 대세포 암종을 포함한다. 일부 실시 형태에서, NSCLC의 세포는 상피 표현형을 갖는다. 일부 실시 형태에서, NSCLC는 하나 이상의 EGFR 억제제에 의한 치료에 대해 획득 저항성을 갖는다.

[0149] NSCLC에서, EGFR 유전자에서의 특이적 돌연변이는 EGFR 티로신 키나제 억제제(EGFR-TKI)에 대한 높은 반응 속도(70 내지 80%)와 관련된다. 엑손 19에서의 5개의 아미노산 결실 또는 EGFR에서의 점 돌연변이 L858R은 EGFR-TKI 감수성과 관련된다(문헌[Nakata and Gotoh, Expert Opin Ther Targets 16 :771-781, 2012]). 이들 돌연변이는 EGFR 키나제 활성의 리간드-비의존성 활성화를 가져온다. EGFR 활성화 돌연변이는 NSCLC 환자의 10 내지 30%에서 발생하며, 동아시아인, 여성, 비흡연자, 및 선암종 조직구조를 갖는 환자에서 유의하게 더 일반적이다(문헌[Janne and Johnson Clin Cancer Res 12(14 Suppl): 4416s-4420s, 2006]). EGFR 유전자 증폭은 또한 EGFR-TKI 치료 후의 반응과 강하게 상관된다(문헌[Cappuzzo *et al.*, J Natl Cancer Inst 97:643-55, 2005]). EGFR 엑손 20 삽입은 EGFR TKI 저항성과 관련되어 있다.

[0150] EGFR 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자의 대부분은 초기에 EGFR TKI 요법에 반응하지만, 사실상 모두는 저항성을 획득하며, 이는 지속적인 반응을 방해한다. 환자의 50 내지 60%는 EGFR의 키나제 도메인에서의 제2 부위 점 돌연변이(T790M)로 인해 저항성을 획득한다. EGFR 티로신 키나제 억제제에 대해 저항성을 나타내게 되는 모든 종양의 거의 60%는 c-Met 발현을 증가시키거나, c-Met 유전자를 증폭시키거나, 또는 그의 유일한 알려진 리간드,

HGF를 증가시킨다(문헌[Turke *et al.*, Cancer Cell, 17:77-88, 2010]).

- [0151] 일부 실시 형태에서, 대상체에게는 하나 이상의 항암 요법이 추가로 투여된다.
- [0152] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 항암 요법은 화학요법, 방사선 요법, 수술, 표적화된 항암 요법, 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0153] 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제 또는 AXL의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 EGFR의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 c-Met의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 HER2의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 HER3의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 HER4의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 VEGFR의 억제제이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 AXL의 억제제이다.
- [0154] 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캅마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙이다.
- [0155] 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 에를로티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 게피티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 라파티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 반데타닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 아파티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 오시메르티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 라제르티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 포지오티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 크리오티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 카보잔티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 캅마티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 악시티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 렌바티닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 닌테다닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 레고라페닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 파조파닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 소라페닙이다. 일부 실시 형태에서, 키나제 억제제는 수니티닙이다.
- [0156] 본 발명의 방법에서 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체와 병용하여 투여될 수 있는 항암 요법은 당업자에게 알려진 화학요법 약물 또는 다른 항암 치료제 중 임의의 하나 이상을 포함한다. 화학요법제는 암의 치료에 유용한 화학적 화합물이며, 성장 억제제 또는 다른 세포독성제를 포함하고, 알킬화제, 항대사물제, 항미소관 억제제, 토포아이스머라제 억제제, 수용체 티로신 키나제 억제제, 혈관생성 억제제 등을 포함한다. 화학요법제의 예에는 하기가 포함된다: 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 사이클로포스파미드(CYTOXAN®); 알킬 설포네이트, 예컨대 부셀판, 임프로셀판 및 피포셀판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보퀸, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아밀아민 - 알트레타민, 트라이에틸렌멜라민, 트라이에틸렌포스포아미드, 트라이에틸렌티오포스포아미드 및 트라이메틸올로멜라민을 포함함 -; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제, 예컨대 아클라시노마이신, 악티노마이신, 안트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 칼리케아미신, 카루비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-다이아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신, 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포르피로마이신, 푸로마이신, 켈라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 튜베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사물제, 예컨대 메토타렉세이트 및 5-FU; 엽산 유사체, 예컨대 테노프테린, 메토타렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토팩루린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 다이데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충물, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레불린산; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지퀸; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에도글루시드; 질산갈륨; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 포도필린산; 2-에틸하이드라지드; 프로카르바진; PSK®; 라족산; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지퀸; 2,2',2"-트라이클로로트라이에틸아민; 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가사이토신; 아라비노사이드("Ara-

C"); 사이클로포스파미드; 티오테파; 탁소이드 또는 탁세인 패밀리의 구성원, 예컨대 파클리탁셀(TAXOL®), 도세탁셀(TAXOTERE®) 및 이들의 유사체; 클로람부실; 젠시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토프린; 메토크세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파미드; 미토마이신 C; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 나벨빈; 노반트론; 테니포사이드; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포아이스머라제 억제제 RFS 2000; 다이플루오로메틸로르니틴(DMFO); 레틴산; 에스페라미신; 카페시타빈; 소라페닙(NEXAVAR®), 수니티닙(SUTENT®), 파조파닙(VOTRIENT™), 토세라닙(PALLADIATM), 반데타닙(ZACTIMATM), 세디라닙(RECENTIN®), 레고라페닙(BAY 73-4506), 악시티닙(AG013736), 레스타우르티닙(CEP-701), 에를로티닙(TARCEVA®), 게피티닙(IRESSATM), 아파티닙(BIBW 2992), 라파티닙(TYKERB®), 네라티닙(HKI-272) 등을 포함한, 수용체 티로신 키나제 및/또는 혈관생성의 억제제, 및 상기 중 임의의 것의 약제학적으로 허용되는 염, 산 또는 유도체. 이러한 정의에서는 종양에 대한 호르몬 작용을 조절 또는 억제하도록 작용하는 항-호르몬제, 예컨대 하기가 또한 포함된다: 항-에스트로겐제 - 예를 들어, 타목시펜, 탈록시펜, 아로마타제 억제 4(5)-이미다졸, 4-하이드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY 117018, 오나프리스톤, 및 토레미펜(FARESTON®)을 포함함 -; 및 항-안드로젠, 예컨대 플루타미드, nil루타미드, 바이칼루타미드, 류프롤라이드, 및 고세레틸; 및 상기 중 임의의 것의 약제학적으로 허용되는 염, 산 또는 유도체. 문헌[Wiemann et al., 1985, in *Medical Oncology* (Calabresi et al., eds.), Chapter 10, McMillan Publishing]에 개시된 것들과 같은 다른 종래의 세포독성 화학적 화합물이 또한 본 발명의 방법에 적용가능하다.

[0157] **투여**

[0158] 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약제학적으로 허용되는 담체 중의 형태로 투여될 수 있다. "담체"는 본 발명의 항체와 함께 투여되는 희석제, 애주번트(adjutant), 부형제, 또는 비히클을 지칭한다. 그러한 비히클은 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예컨대 낙화생유, 대두유, 광유, 참기름 등을 포함하는, 물 및 오일과 같은 액체일 수 있다. 예를 들어, 0.4% 식염수 및 0.3% 글리신이 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 제형화하는데 사용될 수 있다. 이들 용액은 무균성이고 일반적으로 미립자 물질이 없다. 이들은 통상적인 잘 알려진 멸균 기법(예를 들어, 여과)에 의해 멸균될 수 있다. 비경구 투여의 경우, 담체는 멸균수를 포함할 수 있으며, 용해도 또는 보존성을 증가시키기 위해 다른 부형제가 첨가될 수 있다. 주사용 현탁액 또는 용액은 또한 적절한 첨가제와 함께 수성 담체를 이용하여 제조될 수 있다. 다른 인간 단백질, 예를 들어 인간 혈청 알부민을 포함하는 적합한 비히클 및 제형이, 예를 들어 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092, 특히 pp. 958-989 참조]에 기재되어 있다.

[0159] 투여 방식은 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 숙주에게 전달하는 임의의 적합한 경로일 수 있으며, 예컨대 비경구 투여, 예를 들어 진피내, 근육내, 복막내, 정맥내 또는 피하, 폐, 경점막(구강, 비강내, 질내, 직장) 투여로서, 이러한 투여에서는 정제, 캡슐, 용액, 분말, 겔, 입자 형태이고, 주사기, 이식 장치, 삼투압 펌프, 카트리지, 마이크로펌프 내에 담긴 제형; 또는 당업자에 의해 인식되는 다른 수단을 사용하는데, 이는 당업계에 잘 알려진 바와 같다. 부위 특이적 투여는, 예를 들어, 종양내, 관절내, 기관지내, 복강내, 관절강내, 연골내, 강내, 척강내, 소뇌내, 뇌실내, 결장내, 자궁경부내, 위내, 간내, 심근내, 골내, 골반내, 심막내, 복막내, 흉막내, 전립선내, 폐내, 직장내, 신장내, 망막내, 척수내, 활막내, 흉부내, 자궁내, 혈관내, 방광내, 병변내, 질, 직장, 협측, 설하, 비강내, 또는 경피 전달에 의해 달성될 수 있다.

[0160] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 140 mg 내지 약 1750 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 140 mg 내지 약 1750 mg의 용량으로 투여된다.

[0161] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 200 mg, 약 210 mg, 약 220 mg, 약 230 mg, 약 240 mg, 약 250 mg, 약 260 mg, 약 270 mg, 약 280 mg, 약 290 mg, 약 300 mg, 약 310 mg, 약 320 mg, 약 330 mg, 약 340 mg, 약 350 mg, 약 360 mg, 약 370 mg, 약 380 mg, 약 390 mg, 약 400 mg, 약 410 mg, 약 420 mg, 약 430 mg, 약 440 mg, 약 450 mg, 약 460 mg, 약 470 mg, 약 480 mg, 약 490 mg, 약 500 mg, 약 510 mg, 약 520 mg, 약 530 mg, 약 540 mg, 약 550 mg, 약 560 mg, 약 570 mg, 약 580 mg, 약 590 mg, 약 600 mg, 약 610 mg, 약 620 mg, 약 630 mg, 약 640 mg, 약 650 mg, 약 660 mg, 약 670 mg, 약 680 mg, 약 690 mg, 약 700 mg, 약 710 mg, 약 720 mg, 약 730 mg, 약 740 mg, 약 750 mg, 약 760 mg, 약 770 mg, 약 780 mg, 약 790 mg, 약 800 mg, 약 810 mg, 약 820 mg, 약 830 mg, 약 840 mg, 약 850 mg, 약 860 mg, 약 870 mg, 약 880 mg, 약 890 mg, 약 900 mg, 약 910 mg, 약 920 mg, 약 930 mg, 약 940 mg, 약 950 mg, 약 960 mg, 약 970 mg, 약 980 mg, 약 990 mg, 약 1000 mg, 약 1010 mg, 약 1020 mg, 약 1030 mg, 약 1040 mg, 약 1050 mg, 약 1060 mg, 약 1070

mg, 약 1080 mg, 약 1090 mg, 약 1100 mg, 약 1110 mg, 약 1120 mg, 약 1130 mg, 약 1140 mg, 약 1150 mg, 약 1160 mg, 약 1170 mg, 약 1180 mg, 약 1190 mg, 약 1200 mg, 약 1210 mg, 약 1220 mg, 약 1230 mg, 약 1240 mg, 약 1250 mg, 약 1260 mg, 약 1270 mg, 약 1280 mg, 약 1290 mg, 약 1300 mg, 약 1310 mg, 약 1320 mg, 약 1330 mg, 약 1340 mg, 약 1350 mg, 약 1360 mg, 약 1370 mg, 약 1380 mg, 약 1390 mg, 약 1400 mg, 약 1410 mg, 약 1420 mg, 약 1430 mg, 약 1440 mg, 약 1450 mg, 약 1460 mg, 약 1470 mg, 약 1480 mg, 약 1490 mg, 약 1500 mg, 약 1510 mg, 약 1520 mg, 약 1530 mg, 약 1540 mg, 약 1550 mg, 약 1560 mg, 약 1570 mg, 약 1580 mg, 약 1590 mg, 약 1600 mg, 약 1610 mg, 약 1620 mg, 약 1630 mg, 약 1640 mg, 약 1650 mg, 약 1660 mg, 약 1670 mg, 약 1680 mg, 약 1690 mg, 약 1700 mg, 약 1710 mg, 약 1720 mg, 약 1730 mg, 약 1740 mg, 약 1750 mg, 약 1760 mg, 약 1770 mg, 약 1780 mg, 약 1790 mg, 약 1800 mg, 약 1810 mg, 약 1820 mg, 약 1830 mg, 약 1840 mg, 약 1850 mg, 약 1860 mg, 약 1870 mg, 약 1880 mg, 약 1890 mg, 약 1900 mg, 약 1910 mg, 약 1920 mg, 약 1930 mg, 약 1940 mg, 약 1950 mg, 약 1960 mg, 약 1970 mg, 약 1980 mg, 약 1990 mg 또는 약 2000 mg의 용량으로 투여된다.

[0162] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 350 mg, 약 700 mg, 약 1050 mg 또는 약 1400 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 350 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 700 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 750 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 800 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 850 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 900 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 950 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1000 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1050 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1100 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1150 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1200 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1250 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1300 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1350 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 1400 mg의 용량으로 투여된다.

[0163] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 1회 약 1050 mg이 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 1회 약 1400 mg이 투여된다.

[0164] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 2주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 2주에 1회 약 1050 mg이 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 2주에 1회 약 1400 mg이 투여된다.

[0165] 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 2회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 2주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 3주에 1회 투여된다. 일부 실시 형태에서, 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 4주에 1회 투여된다.

[0166] 병용 요법을 위해, 하나 이상의 항암제가 항암제의 권장 용량 및 투여량을 사용하여 투여될 수 있다.

[0167] **본 발명의 방법에 사용되는 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체의 생성**

[0168] 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 예시적인 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 아미반타맙이다. 아미반타맙은 하기 아미노산 서열을 특징으로 한다:

[0169] EGFR 결합 아암

[0170] >서열 번호 1(HCDR1, EGFR 결합 아암)

[0171] TYGMH

[0172] >서열 번호 2(HCDR2, EGFR 결합 아암)

[0173]	VIWDDGSYKYYGDSVKG
[0174]	>서열 번호 3(HCDR3, EGFR 결합 아암)
[0175]	DGITMVRGVMKDYFDY
[0176]	>서열 번호 4(LCDR1, EGFR 결합 아암)
[0177]	RASQDISSALV
[0178]	>서열 번호 5(LCDR2, EGFR 결합 아암)
[0179]	DASSLES
[0180]	>서열 번호 6(LCDR3, EGFR 결합 아암)
[0181]	QQFNSYPLT
[0182]	>서열 번호 7(HCDR1, c-Met 결합 아암)
[0183]	SYGIS
[0184]	>서열 번호 8(HCDR2, c-Met 결합 아암)
[0185]	WISAYNGYTNYAQLQG
[0186]	>서열 번호 9(HCDR3, c-Met 결합 아암)
[0187]	DLRGTNYFDY
[0188]	>서열 번호 10(LCDR1, c-Met 결합 아암)
[0189]	RASQGISNWLA
[0190]	>서열 번호 11(LCDR2, c-Met 결합 아암)
[0191]	AASSLLS
[0192]	>서열 번호 12(LCDR3, c-Met 결합 아암)
[0193]	QQANSFPIT
[0194]	>서열 번호 13(VH, EGFR 결합 아암)
[0195]	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGGSYKYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIT MVRGVMKDYFDYWGGTLVTSS
[0196]	>서열 번호 14(VL, EGFR 결합 아암)
[0197]	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSESGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGT KVEIK
[0198]	>서열 번호 15(VH, c-Met 결합 아암)
[0199]	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISWVRQAPGHGLEWMGWISAYNGYTNYAQLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRG TNYFDYWGGTLVTSS
[0200]	>서열 번호 16(VL, c-Met 결합 아암)
[0201]	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWFQHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQANSFPITFGGQT RLEIK
[0202]	>서열 번호 17 HC1
[0203]	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGGSYKYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIT MVRGVMKDYFDYWGGTLVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD

DGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0204] >서열 번호 18 LC1

[0205] AIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSESGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGT
KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC

[0206] >서열 번호 19 HC2

[0207] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCETSGYTFTSYGISWVRQAPGHGLEWMGWI SAYNGYTNIAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDLRG
TNYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV
NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
YSRLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0208] >서열 번호 20 LC2

[0209] DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGISNWLAWFQHKPGKAPKLLIYAASSLLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPITFGQGT
RLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC

[0210] 공개적으로 입수가 가능한 다른 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체가 또한, 미국 특허 제9,593,164호에 기재된 바와 같은 아미반타맙과 비교할 때 유사한 특성을 나타내는 한 본 발명의 방법에 사용될 수 있다. 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 또한, 공개적으로 입수가 가능한 EGFR 결합 VH/VL 도메인과 c-Met 결합 VH/VL 도메인을 조합하고, 생성된 이중특이성 항체를 미국 특허 제9,593,164호에 기재된 바와 같이 이들의 특성에 대해 시험함으로써 생성될 수 있다.

[0211] 본 발명의 방법에 사용된 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는, 예를 들어 2개의 단일특이성 2가 항체들 사이에서의 Fab 아암 교환(또는 하프 분자 교환)을 사용하여 생성될 수 있는데, 이는 공발현을 사용하거나 또는 무세포 환경에서의 시험관내에서, 각각의 하프 분자 내의 중쇄 CH3 계면에 치환을 도입하여 별개의 특이성을 갖는 2개의 항체 하프 분자의 이중이량체 형성을 유리하게 함으로써 행해진다. Fab 아암 교환 반응은 이항화-결합 이성질화 반응 및 CH3 도메인의 해리-회합의 결과이다. 모 단일특이성 항체의 힌지 영역 내의 중쇄 이항화물 결합은 환원된다. 모 단일특이성 항체들 중 하나의, 생성된 유리 시스템은, 제2 모 단일특이성 항체 분자의 시스템인 잔기와 중쇄간 이항화물 결합을 형성하고, 동시에 모 항체의 CH3 도메인이 해리-회합에 의해 방출 및 재형성된다. Fab 아암의 CH3 도메인은 이중이량체화에 비하여 이중이량체화에 유리하도록 조작될 수 있다. 생성된 산물은, 각각이 별개의 에피토프, 즉 EGFR 상의 에피토프 및 c-Met 상의 에피토프에 결합하는 2개의 Fab 아암 또는 하프 분자를 갖는 이중특이성 항체이다. 예를 들어, 본 발명의 이중특이성 항체는 국제 특허 출원 공개 WO2011/131746호에 기재된 기술을 사용하여 생성될 수 있다. IgG1 항체의 경우에는 하나의 중쇄 내의 돌연변이 F405L 및 다른 하나의 중쇄 내의 돌연변이 K409R이 사용될 수 있다. IgG2 항체의 경우, 야생형 IgG2, 및 F405L 및 R409K 치환을 가진 IgG2 항체가 사용될 수 있다. IgG4 항체의 경우, 야생형 IgG4, 및 F405L 및 R409K 치환을 가진 IgG4 항체가 사용될 수 있다. 이중특이성 항체를 생성하기 위해, 제1 단일특이성 2가 항체 및 제2 단일특이성 2가 항체가 Fc 영역에서 상기 언급된 돌연변이를 갖도록 조작되며; 이들 항체는 힌지 영역 내의 시스템인이 이항화물 결합 이성질화를 거칠 수 있게 하기에 충분한 환원성 조건 하에서 함께 인큐베이션되고; 그럼으로써 Fab 아암 교환에 의해 이중특이성 항체를 생성한다. 인큐베이션 조건은 비환원성 상태로 최적으로 회복될 수 있다. 사용될 수 있는 예시적인 환원제는 2-메르캅토에틸아민(2-MEA), 다이티오프트레이톨(DTT), 다이티오에리트릴톨(DTE), 글루타티온, 트리스(2-카르복시에틸)포스핀(TCEP), L-시스테인 및 베타-메르캅토에탄올이다. 예를 들어, pH 5 내지 8에서, 예를 들어 pH 7.0에서 또는 pH 7.4에서 적어도 25 mM 2-MEA의 존재 하에서 또는 적어도 0.5 mM 다이티오프트레이톨의 존재 하에서 20°C 이상의 온도에서 90분 이상 동안의 인큐베이션이 사용될 수 있다.

[0212] 본 발명의 방법에 사용되는 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 또한 노브-인-홀(Knob-in-Hole)(Genentech), CrossMAb(Roche) 및 정전기적-일치(Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed), LUZ-Y(Genentech), 가닥 교환 조작된 도메인 바디(Strand Exchange Engineered Domain body)(SEEDbody)(EMD Serono), 및 Biclonic(Merus)과 같은 설계를 사용하여 생성될 수 있다.

[0213] "노브-인-홀" 전략에서는(예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 2006/028936호 참조), 인간 IgG 내의 CH3 도메인

의 계면을 형성하는 선택된 아미노산이 CH3 도메인 상호작용에 영향을 주는 위치에서 돌연변이되어 이중이량체 형성을 촉진할 수 있다. 작은 측쇄(홀)를 갖는 아미노산이 제1 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 중쇄 내로 도입되고, 큰 측쇄(노브)를 갖는 아미노산이 제2 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 중쇄 내로 도입된다. 2개의 항체의 공발현 후에, "홀"을 갖는 중쇄와 "노브"를 갖는 중쇄의 우선적인 상호작용의 결과로서 이중이량체가 형성된다. 노브와 홀을 형성하는 예시적인 CH3 치환 쌍은 다음과 같다(제1 중쇄의 제1 CH3 도메인 내의 변형된 위치/제2 중쇄의 제2 CH3 도메인 내의 변형된 위치로서 표현됨): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S 및 T366W/T366S_L368A_Y407V.

[0214] Fab 아암 교환을 촉진하기 위해 "노브-인-홀" 전략을 이용하는 것에 더하여, CrossMAb 기술은 생성되는 이중특이성 항체의 정확한 경쇄 쌍형성을 보장하기 위해 하나의 하프 아암에서 CH1/CL 도메인 교환을 이용한다(예를 들어, 미국 특허 제8,242,247호 참조).

[0215] 한쪽 또는 양쪽 아암에서, 중쇄와 경쇄 사이에서 또는 이중특이성 항체 내의 중쇄 내에서 가변 또는 불변 도메인, 또는 두 도메인 모두를 교환함으로써 본 발명의 전장 이중특이성 항체를 생성하기 위하여 다른 크로스-오버 전략이 사용될 수 있다. 이들 교환은, 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO2009/080254호, WO2009/080251호, WO2009/018386호 및 WO2009/080252호에 기재된 바와 같이 VH-CH1을 VL-CL로, VH를 VL로, CH3을 CL로 그리고 CH3을 CH1로 교환하는 것을 포함한다.

[0216] 하나의 CH3 표면에서 양으로 하전된 잔기를, 그리고 제2 CH3 표면에서 음으로 하전된 잔기를 치환함으로써 정전기 상호작용을 사용하여 중쇄 이중이량체화를 촉진하는 것과 같은 다른 전략이 사용될 수 있으며, 이는 미국 특허 출원 공개 제2010/0015133호; 미국 특허 출원 공개 제2009/0182127호; 미국 특허 출원 공개 제2010/028637호 또는 미국 특허 출원 공개 제2011/0123532호에 기재된 바와 같다. 다른 전략에서는, 미국 특허 출원 공개 제2012/0149876호 또는 미국 특허 출원 공개 제2013/0195849호에 기재된 바와 같이 하기의 치환(제1 중쇄의 제1 CH3 도메인 내의 변형된 위치/제2 중쇄의 제2 CH3 도메인 내의 변형된 위치로서 표현됨)에 의해 이중이량체화가 촉진될 수 있다: L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F, 또는 T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W.

[0217] 본 발명의 이중특이성 항체를 생성하기 위하여 SEEDbody 기술이 이용될 수 있다. SEEDbody는, 그의 불변 도메인에서, 선택된 IgG 잔기가 IgA 잔기로 치환되어 있어서, 이중이량체화를 촉진시키는데, 이는 미국 특허 출원 공개 제20070287170호에 기재된 바와 같다.

[0218] 돌연변이는 전형적으로 표준 방법을 사용하여 항체의 불변 도메인과 같은 분자에 대해 DNA 수준에서 이루어진다.

[0219] **예시적인 실시 형태.**

[0220] 1) EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 항-표피 성장 인자 수용체(EGFR)/간세포 성장 인자 수용체(c-Met) 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0221] 2) EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 돌연변이에 대해 양성인 암을 갖는 대상체에게 단리된 이중특이성 항-표피 성장 인자 수용체(EGFR)/간세포 성장 인자 수용체(c-Met) 항체의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0222] 3) 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 사용하여 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서,

[0223] a) 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;

[0224] b) 상기 샘플에서 EGFR 엑손 20 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및

[0225] c) 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 투여하거나 투여를 위해 제공하는 단계를 포함하는, 방법.

[0226] 4) 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 사용하여 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서,

[0227] a) 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플을 제공하는 단계;

[0228] b) 상기 샘플에서 EGFR S768I, L861Q 및/또는 G719X 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 단계; 및

- [0229] c) 상기 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에게 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체를 투여하거나 투여를 위해 제공하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0230] 5) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인 및 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인을 포함하며, 상기 제1 도메인은 서열 번호 1의 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 서열 번호 2의 HCDR2, 서열 번호 3의 HCDR3, 서열 번호 4의 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 서열 번호 5의 LCDR2 및 서열 번호 6의 LCDR3을 포함하고, 상기 c-Met에 결합하는 제2 도메인은 서열 번호 7의 HCDR1, 서열 번호 8의 HCDR2, 서열 번호 9의 HCDR3, 서열 번호 10의 LCDR1, 서열 번호 11의 LCDR2 및 서열 번호 12의 LCDR3을 포함하는, 방법.
- [0231] 6) 실시 형태 5에 있어서, 상기 EGFR에 특이적으로 결합하는 제1 도메인은 서열 번호 13의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열 번호 14의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, 상기 c-Met에 특이적으로 결합하는 제2 도메인은 서열 번호 15의 VH 및 서열 번호 16의 VL을 포함하는, 방법.
- [0232] 7) 실시 형태 1에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 IgG1 동종형인, 방법.
- [0233] 8) 실시 형태 1에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 서열 번호 17의 제1 중쇄(HC1), 서열 번호 18의 제1 경쇄(LC1), 서열 번호 19의 제2 중쇄(HC2) 및 서열 번호 20의 제2 경쇄(LC2)를 포함하는, 방법.
- [0234] 9) 실시 형태 1에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 푸코스 함량이 약 1% 내지 약 15%인 바이안테나리 글리칸 구조를 포함하는, 방법.
- [0235] 10) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 하나 이상의 이전 항암 요법에 의한 치료에 대해 재발성 또는 저항성인, 방법.
- [0236] 11) 실시 형태 10에 있어서, 상기 하나 이상의 이전 항암 요법은 하나 이상의 화학치료제, 면역관문 억제제, 표적화된 항암 요법 또는 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.
- [0237] 12) 실시 형태 10에 있어서, 상기 하나 이상의 이전 항암 요법은 카르보플라틴, 파클리탁셀, 젬시타빈, 시스플라틴, 비노렐빈, 도세탁셀, 팔보시클립, 크리조티닙, PD-(L)1 축 억제제, EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제, AXL의 억제제, 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캅마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.
- [0238] 13) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 대상체는 치료 미경험 상태인, 방법.
- [0239] 14) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 암은 폐암, 위암, 직결장암, 뇌암, 상피 세포로부터 유래된 암, 유방암, 난소암, 직결장암, 항문암, 전립선암, 신장암, 방광암, 두경부암, 인두암, 코의 암, 췌장암, 피부암, 구강암, 혀암, 식도암, 질암, 자궁경부암, 비장암, 고환암, 위암, 흉선암, 결장암, 갑상선암, 간암, 간세포 암종(HCC) 또는 산발성 또는 유전성 유두상 신세포 암종(PRCC), 또는 이들의 임의의 조합인, 방법.
- [0240] 15) 실시 형태 14에 있어서, 폐암은 비소세포 폐암(NSCLC), 소세포 폐암(SCLC) 또는 폐 선암종, 폐의 육종모양 암종 또는 이들의 임의의 조합인, 방법.
- [0241] 16) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 하나 이상의 항암 요법을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0242] 17) 실시 형태 16에 있어서, 상기 하나 이상의 항암 요법은 화학요법, 방사선 요법, 수술, 표적화된 항암 요법, 키나제 억제제, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는, 방법.
- [0243] 18) 실시 형태 17에 있어서, 상기 키나제 억제제는 EGFR의 억제제, c-Met의 억제제, HER2의 억제제, HER3의 억제제, HER4의 억제제, VEGFR의 억제제 또는 AXL의 억제제인, 방법.
- [0244] 19) 실시 형태 18에 있어서, 상기 키나제 억제제는 에를로티닙, 게피티닙, 라파티닙, 반데타닙, 아파티닙, 오시메르티닙, 라제르티닙, 포지오티닙, 크리오티닙, 카보잔티닙, 캅마티닙, 악시티닙, 렌바티닙, 닌테다닙, 레고라페닙, 파조파닙, 소라페닙 또는 수니티닙인, 방법.
- [0245] 20) 실시 형태 1 또는 실시 형태 3에 있어서, 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이는 드 노보 돌연변이인, 방법.

- [0246] 21) 실시 형태 1 또는 실시 형태 3에 있어서, 상기 EGFR 엑손 20 돌연변이는 획득된 돌연변이인, 방법.
- [0247] 22) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 140 mg 내지 약 1750 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0248] 23) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 약 700 mg, 약 750 mg, 약 800 mg, 약 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1000 mg, 1050 mg, 1100 mg, 1150 mg, 1200 mg, 1250 mg, 1300 mg, 1350 mg 또는 1400 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0249] 24) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 1050 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0250] 25) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 1400 mg의 용량으로 투여되는, 방법.
- [0251] 26) 실시 형태 1 내지 실시 형태 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 이중특이성 항-EGFR/c-Met 항체는 주 2회, 주 1회, 2주에 1회, 3주에 1회 또는 4주에 1회 투여되는, 방법.
- [0252] 이제 본 발명을 하기의 구체적인 비제한적 실시예를 참조하여 설명할 것이다.
- [0253] **실시예 1. 재료 및 방법.**
- [0254] **Ba/F3 세포주 및 약물 화합물**
- [0255] 모든 돌연변이체 Ba/F3 세포주는 GSMG(독일생물자원센터, German Collection of Microorganisms and Cell Cultures)로부터 구입하였으며, 미국 하버드 대학의 다나-파버 암 연구소(Dana-Farber Cancer Institute)로부터 입수하였다. 모든 세포를 5% CO₂를 갖는 가슴된 인큐베이터 내에서 10% 소태아 혈청(FBS) 및 퓨로마이신이 보충된 RPMI 1640 배지 중에 유지하였다. 아미반타말 및 IgG1 대조군은 Janssen에 의해 제공받았다. 게피티닙, 오시메르티닙, 세톡시말, 및 포지오티닙은 SelleckChem(미국 텍사스주 휴스턴 소재)으로부터 구입하였다.
- [0256] **항체**
- [0257] p-EGFR(2234), EGFR(4267), p-cMet(3077), cMet(8198), p-ERK(4370), ERK(9107), p-AKT(9271), AKT(9272), p-S6(4858), S6(2217), p27(2252), 절단된 PARP(5625S), 절단된 카스파제 3(9661), 및 BIM(2933)에 대해 특이적인 1차 항체를 Cell Signaling Technologies로부터 구입하였으며; p21(sc-817) 및 p53(sc-126)은 Santa Cruz Biotechnology, Inc.로부터 구입하였으며, GAPDH(PAB13195)는 Abnova(대만 타이페이 소재)로부터 구입하였다. IHC 검정을 위하여, mF4/80(#70076) 및 mNkp46(AF2225)을 각각 Cell Signaling Technologies 및 R&D Systems로부터 구입하였다.
- [0258] **환자-유래 세포**
- [0259] YU-1163(S768_D770dup) 세포주는 NSCLC를 갖는 환자로부터의 악성 삼출액으로부터 유래되었으며, 콜라겐-코팅된 플레이트 상에서 5% FBS가 보충된 ACL-4 배지 중에서 배양하였다. 세포는 환자에서 관찰된 운전자 발암유전자를 유지하였다. 세포를, 이들에 대해 추가의 검정을 수행하기 전에, 95% 초과된 순도로 상피 세포 부착 분자(EpCAM)-양성 세포 집단에서 풍부화하였다. DFCI-58(H773_V774insNPH) 및 DFCI-127(P772_H773insPNP) 세포주를 미국 하버드 대학의 다나-파버 암 연구소로부터 입수하고, 각각 10% FBS를 함유하는 ACL-4 배지 및 RPMI 배지 중에서 배양하였다. 모든 환자 샘플은 환자로부터의 서면 사전동의서를 입수한 후에 수집하였다. 본 연구 프로토콜은 각각의 기관감사위원회(institutional review board)에 의해 승인되었다.
- [0260] **환자-유래 오가노이드 배양물**
- [0261] 환자-유래 오가노이드(YU0-029 및 YU0-036)를 이전에 기재된 바와 같이 확립하였다(54). 간략하게 말하면, NSCLC를 갖는 2명의 환자로부터의 악성 삼출액을 수집하고, 원심분리하고, 세포 펠렛을 성장-인자 감소된 Matrigel(Corning)과 혼합하고 48웰 플레이트 내로 시딩하였다. 고화된 겔을 1X Glutamax(Invitrogen), 10 mM HEPES(Invitrogen), 1X 항생-항진균제(antibiotic-antimycotic)(Invitrogen), 1X B-27(Invitrogen), 20% R-스폰던 컨디셔닝된 배지, 5 mM 니코틴아미드(Sigma), 1.25 mM N-아세틸시스테인(Sigma), 500 nM SB-202190(Sigma), 500 nM A83-01(Tocris), 100 ng/mL의 마우스 노긴(noggin)(Peprotech), 100 ng/mL의 인간 FGF10(Peprotech), 25 ng/mL의 인간 FGF7(Peprotech), 50 µg/mL의 프리모신(Invivogen), 및 10 µM Y-

27632(Enzo)를 함유하는 개량된 DMEM/F12(Invitrogen)로 오버레이하였다. R-스폰딘-컨디셔닝 배지는 HA-R-스폰딘1-Fc 293T 세포(영국 애빙던 소재의 Amsbio)로부터 생성하였다. 계대배양을 위해, 오가노이드를 수집하고, 25-게이지 바늘로 기계적으로 전단하고, 차가운 PBS로 세척한 후, 오가노이드 펠릿을 Matrigel 중에 재현탁시키고, 1:2 내지 1:4의 비로 24웰 플레이트 내로 시딩하였다. 배양 배지를 적어도 주 2회 보충하였다. 이전에 기재된 바와 같이 세포 생존력 시험을 수행하였다(55). 간략하게 말하면, 오가노이드를 트립신 처리(trypsinize)하여 단세포를 형성하고, 5 내지 10일 동안 배양하였다. 이어서, 오가노이드를 수집하고, 5% Matrigel을 함유하는 배지 중에 재현탁시키고, 2,000개의 오가노이드/ μL 의 농도로 96웰 플레이트(Corning)에 플레이팅하였다. IgG1 대조군 또는 다양한 농도의 아미반타맵을 함유하는 배지를 첨가하고, 72시간 동안 인큐베이션하였다. 제조자의 설명서에 따라 마이크로플레이트 발광광도계 상에서 CellTiter-Glo 3D 배양 시약(Promega)을 사용하여 세포 생존력을 결정하였다.

[0262] **환자-유래 이중이식편 모델**

[0263] OrientBio(대한민국 서울 소재)로부터 입수된 6 내지 8주령된 중증 복합 면역결핍(NOG) 및 누드(nu/nu) 암컷 마우스를 사용하여 PDX를 생성하였다. 모든 방법은 본 발명자들의 기관 동물 연구 위원회(Institutional Animal Research Committee)(연세 의과대학(Yonsei University College of Medicine))의 가이드라인을 준수하였으며, AAALAC(Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, 실험실 동물 관리 평가 인증 협회)에 의해 승인되었다. 피사 및 지지 조직을 코어 생검 검체로부터 제거한 후, 각 환자로부터의 종양 조직의 작은 검체($3\text{ mm} \times 3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$)를 1 마리 또는 2 마리의 마우스에 피하 이식하였다. 종양이 1.5 cm 직경에 도달한 후, 이를 절제하고, 작은 검체($3\text{ mm} \times 3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$)로 절단하고, 누드 마우스에 재이식하였다.

[0264] **생체내 이중이식편 연구**

[0265] 암컷 무흉선 BALB-c/nu 마우스를 5 내지 6주령된 시점에서 Orient Bio로부터 입수하였다. 모든 마우스를 연세 의과대학의 동물연구위원회의 가이드라인(Animal Research Committee's Guidelines at Yonsei University College of Medicine)에 따라 취급하였으며, 모든 시설은 AAALAC에 의해 승인되었다. Ba/F3 세포 및 PDC(1×10^7 개의 세포)를 각각 NOG 및 BALB-c/nu 마우스 내로 피하 주사하고, 성장을 매주 2회 측정하였으며; 촉진가능한 병변의 확립 후, 마우스를 시험에 할당하였다. 일단 종양 부피가 대략 150 내지 200 mm^3 에 도달하였으면, 마우스를 5 마리씩의 동물의 군에 무작위로 할당하여 비히클, igG1 대조군, 또는 아미반타맵을 제공하였다. 캘리퍼를 사용하여 매 2일마다 종양 크기를 측정하였다. 각 군에서의 평균 종양 부피를 mm^3 단위로 표현하였으며, 장형 회전타원체에 대한 방정식에 따라 계산하였다: 종양 부피 = $0.523 \times (\text{큰 직경}) \times (\text{작은 직경})^2$.

[0266] **항종식 검정**

[0267] EGFR 엑손20ins 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포 또는 PDC를 100 μL 로 96웰 플레이트 상에 시딩하였다. 72시간 동안 IgG1 대조군, 아미반타맵, 게피티닙, 또는 오시메르티닙에 의한 처리 후에, 제조자의 설명서에 따라 CellTiter-Glo® 2.0 검정 키트(Promega)를 사용하여 ATP의 총량을 정량화함으로써 세포 생존력을 측정하였다.

[0268] **콜로니 형성 검정**

[0269] 세포를 6웰 배양 플레이트 상에 시딩하고, 37°C에서 12일 동안 아미반타맵(0, 0.1, 또는 1 mg/mL)과 함께 인큐베이션하였다. 세포를 인산염 완충 식염수(PBS)로 세척하고, 고정시키고, 5% 크리스탈 바이올렛 중 4% 파라포름알데하이드로 10분 동안 염색하였다. 콜로니를 1% 소듐 도데실 설페이트로 용리시키고, 470 nm에서 ELISA를 사용하여 광학 밀도 값을 결정하였다.

[0270] **항체-의존성 세포성 세포독성 검정**

[0271] ADCC 검정은 제조자의 설명서에 따라 락타제 데하이드로게나제(LDH) 세포독성 검출 키트(Cytotoxicity Detection Kit)(Roche)를 사용하여 수행하였다. 건강한 지원자로부터 얻어진 인간 PBMC를 이펙터 세포로서 사용하였다. 50:1 내지 5:1 범위의 이펙터:표적(E:T) 세포비를 사용하여 ADCC를 수행하고, 5% CO₂에서 37°C에서 4 내지 24시간 동안 인큐베이션하였다. 100 $\mu\text{g/mL}$ 내지 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 의 아미반타맵 농도를 시험하였다. 세포 배양 상층액의 락테이트 데하이드로게나제 활성을 측정하고, 제조자의 프로토콜에 기재된 바와 같이 세포독성 백분율을 계산하였다.

[0272] **면역형광 분석**

[0273] PDC를 0.01% 폴리-L-라이신(Sigma-Aldrich) 코팅된 커버슬립 상에 시딩하였다. 다음날, 세포를 IgG1 대조군 또

는 0.1 mg/mL의 아미반타맙으로 처리하였다. 72시간 후에, 커버슬립을 15분 동안 4% 포름알데하이드 중에 고정시키고, 5분 동안 0.5% Triton X-100을 사용하여 투과화하고, 실온에서 1시간 동안 1차 항체와 함께 인큐베이션하였다. 본 연구에 사용된 1차 항체는 1:100 희석의 토끼 단일클론 항-EGFR 및 항-cMet(Santa Cruz Biotechnology) 및 ab992(Millipore)였다. 커버슬립을 PBS로 2회 행군 후, 적절한 형광단-접합된 2차 항체(Invitrogen)와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 4',6-다이하미디노-2-페닐인돌(DAPI; 300 nmol/L; Invitrogen)로 대비염색하고, 커버슬립을 Faramount 수성 마운팅 배지(DAKO)를 사용하여 슬라이드 상에 마운팅하였다.

[0274] 면역조직화학

[0275] 면역조직화학을 자동화 염색 시스템(BOND Rx, Leica Biosystems)을 사용하여 수행하였다. 간략하게 말하면, 4-mm 파라핀-포매된 종양 절편을 탈파라핀화하고 재수화하였다. 이어서, 슬라이드를 100°C에서 20분 동안 시트르산 염 완충액을 사용하여 열-유도 에피토프 회복을 거쳤다. 항체를 1:100 희석으로 사용하고, 헤마톡실린 용액을 대비염색으로 사용하였다. 염색된 슬라이드를 Vectra Polaris 및 Phenochart 프로그램으로 시각화하였다.

[0276] 생체내 약력학적 연구

[0277] 종양 조직을 보유하는 마우스를 비히클, IgG1 대조군, 또는 주당 2회 복막내(i.p) 아미반타맙(10 또는 30 mg/kg), 또는 일일 1회 세툽시맙(10 mg/kg), 포지오티닙(1 mg/kg)으로 처리하였다. 종양 샘플을 15일간의 처리 후 48시간째에 수집하고, EGFR 및 cMet 하류 신호전달을 면역블롯팅(immunoblotting)에 의해 평가하였다.

[0278] 통계학적 분석

[0279] 3개의 독립적인 실험으로부터 데이터를 수집하고, 설명적으로 제시하거나, 또는 일원분산분석(one-way ANOVA)에 이어서 던넛 검정 또는 스튜던트 t-검정에 의해 분석하였다. 용량-반응 곡선을 GraphPad Prism(Ver. 5, graphPad Software Inc.)을 사용하여 작성하였다.

[0280] 실시예 2. 아미반타맙은 다양한 EGFR 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 Ba/F3 세포의 증식을 억제한다.

[0281] 엑손20ins와 관련하여 아미반타맙의 항종양 활성을 입증하기 위하여, 다수의 엑손20ins를 Ba/F3 세포에서 안정하게 발현시켰다. 5개의 구별되는 엑손20ins를 유도하였으며(도 1b), 이들 모두는 NSCLC 환자에서 관찰된 것들이다(V769_D770insASV, D770delinsGY, H773_V774insH, Y764_V765insHH 및 D770_N771insSVD)(20,21). 0.05 내지 1 mg/mL 범위의 아미반타맙으로 처리된 Ba/F3 세포에서는, Ba/F3 세포 생존력의 유의한 용량-의존적 감소($P < 0.0001$)가 5개의 모든 EGFR 엑손20ins 돌연변이에서 관찰되었다(도 1c). 대조적으로, 각각 1세대 및 3세대 비가역적 EGFR-TKI인 게피티닙 및 오시메르티닙에 의한 처리는 아미반타맙에 비해 제한된 항증식 활성을 나타내었는데(도 1c), 이는 EGFR-TKI에 대한 엑손20ins의 잘 알려진 저항성을 확인시켜 준다. IgG1 대조군 항체가 동일한 Ba/F3 세포주에서 사용되었을 때 세포 생존력에 대한 효과가 관찰되지 않았다(데이터는 제시되지 않음). TKI-감수성 EGFR 돌연변이, 예컨대 L858R 또는 엑손 19 결실에 의해 유도된 종양 모델에서, 아미반타맙은 몇몇 제안된 작용 기전(mechanism of action, MOA)을 갖는데, 이에겐 리간드 결합의 차단, 수용체 하향조절, 하류 신호전달 억제 및 면역-유도 항종양 활성의 촉발이 포함된다(22). 이들 MOA가 또한 엑손20ins와 관련하여 관찰되는지 그리고 도 1c에서 관찰된 항증식 활성에 기여하는지를 결정하기 위하여, D770delinsGY 및 H773_V774insH EGFR 엑손20ins 돌연변이를 과발현하는 Ba/F3 세포에서 면역블롯 분석을 수행하였다. 아미반타맙에 의한 처리 후에 총 EGFR 수준이 비처리된 세포(도 1d) 또는 IgG1 대조군 항체로 처리된 세포에 비해 감소되었다(데이터는 제시되지 않음). EGFR 발현 수준의 감소와 일치되게, EGFR 하류 신호전달 경로인 포스포-EGFR(p-EGFR), 포스포-AKT(p-AKT), 포스포-ERK(p-ERK), 및 포스포-S6(p-S6)이 또한 아미반타맙 처리 후에 유의하게 감소되었는데(도 1d), 이는 아미반타맙이 EGFR을 표적화하고, EGFR-관련 하류 신호전달 캐스케이드를 억제하였음을 시사한다. V769insASV, Y764 insHH 및 D770_N771insSVD 엑손20ins 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포에서도 유사한 결과가 관찰되었다(데이터는 제시되지 않음). 100 nM의 게피티닙 및 오시메르티닙이 D770delinsGY 및 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3 세포에서 p-EGFR을 감소시키는 하였지만, 하류 EGFR 신호전달 경로 성분은 억제되지 않았는데, 이는 세포 생존력에 대한 TKI 효과의 결여와 상관되었다(도 1e). 최근 연구에서는, 포지오티닙이 EGFR 엑손20ins NSCLC에서 항종양 활성을 보여주었다(23, 24). 본 발명자들은 EGFR 엑손20ins를 과발현하는 Ba/F3에서 포지오티닙에 대한 세포 생존력 시험을 추가로 평가하였다(데이터는 제시되지 않음). 이전 보고와 일치되게(23), 포지오티닙은 돌연변이체 EGFR 엑손20ins 세포에서 세포 생존력을 강하게 억제하였다(IC_{50} 은 0.8 내지 10.9 nM의 범위임). 이전 연구에 보고된 바와 같이(25), 포지오티닙은 또한 WT EGFR을 보유하는 Ba/F3 세포의 증식을 강력하게 억제하였다(IC_{50} = 0.8 nM). 더 균형잡힌 방식으로, 엑손20ins 돌연변이에 대한 선택성을

제시하기 위하여, 본 발명자들은 WT EGFR에 비해 EGFR 엑손20ins 돌연변이체에서의 아미반타맙과 포지오티닙 사이의 항증식 효력을 비교하였다. 포지오티닙은 아미반타맙과 비교할 때, WT EGFR에 비해 더 낮은 EGFR 엑손20ins 돌연변이체 선택성을 나타내었는데, 이는 포지오티닙이 정상 조직에 유해한 영향을 줄 수 있으며, 그럼으로써 실질적인 독성, 예컨대 피부 발진 및 설사를 일으킬 수 있음을 시사한다(26). 아미반타맙-매개 세포성 세포독성에 관여하는 기전을 더 잘 이해하기 위하여, 본 발명자들은 세포 주기 진행 및 프로그래밍된 세포 사멸에 대한 아미반타맙 처리의 효과를 평가하였다. *EGFR* D770delinsGY 및 H773_V774insH 엑손20ins 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포에서, G1 기의 세포의 축적이 비히클-처리된 세포와 비교하여 아미반타맙-처리된 세포에서 관찰되었다(도 1f). *EGFR*-TKI는 감작화(sensitizing) *EGFR* 돌연변이를 보유하는 NSCLC 세포에서 아포토시스를 유도하는 것으로 보고되어 있었기 때문에(27-29), 본 발명자들은 아미반타맙에 의한 처리가 아포토시스 기구의 인계이전체를 가져왔는지의 여부를 조사하였다. 아미반타맙 처리는 BIM 및 절단된 카스파제 3을 포함한 프로-아포토시스 단백질(pro-apoptotic protein)의 유도를 가져왔는데(도 1g), 이는 아미반타맙이, 하류 *EGFR* 신호전달 캐스케이드의 억제에 추가하여, BIM- 및 카스파제-의존적 방식으로 아포토시스를 또한 유도하였음을 시사하였다.

[0282] **실시예 3. 아미반타맙은 PDC 및 오가노이드에서 항종양 활성을 나타낸다.**

[0283] 외인성 *EGFR* 엑손20ins 돌연변이를 발현하도록 조작된 Ba/F3 세포로부터의 본 발명자들의 조사결과를 확대하기 위하여, 본 발명자들은 엑손20ins를 보유하는 몇몇 PDC에서 아미반타맙의 활성을 평가하였다. 아미반타맙의 항종양 활성 및 관련된 기전적인 중점을 P772ins_H773insPNP(DFCI-127), H773_V774insNPH(DFCI-58), 및 S768_D770dup(YU-1163) 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 환자로부터 생성된 PDS에서 평가하였다. DFCI-127 세포 및 DFCI-58 세포 둘 모두에서, 아미반타맙 처리는 총 *EGFR* 및 *cMet* 수준의 감소된 발현뿐만 아니라, p-*EGFR*, p-*cMet*, p-AKT, p-ERK, 및 p-S6의 억제를 가져왔는데(도 2a), 이는 *EGFR* 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 Ba/F3 세포주에서 관찰된 결과와 일치한다. 세포 생존력 및 콜로니 형성의 분석은 아미반타맙이 IgG1 대조군에 비해 PDC의 세포 성장 및 증식을 용량-의존적으로 억제하였음을 보여주었다(도 2b 및 도 2c). DFCI-127 및 DFCI-58 세포에서의 *EGFR*, *cMet*, p-*EGFR*, p-*cMet*, p-AKT, 및 p-S6의 유의한 감소와 대조적으로, 아미반타맙으로 처리된 YU-1163은 예기치 않게도 p-ERK의 유도를 보여주었다(도 2a). 이 결과와 일치되게, 72시간 동안의 아미반타맙 처리 후에 또는 장기간 처리 후에 YU-1163의 성장은 억제되지 않았다(도 2b 및 도 2c). YU-1163의 전체 엑솜 서열분석 데이터로부터, 본 발명자들은 *TP53* 유전자에서의 동시발생(co-occurring) 돌연변이를 관찰하였다(R280T; 96%의 돌연변이체 대립유전자 빈도). 최근 연구에 따르면, *TP53*에서의 돌연변이는 NSCLC에서의 *EGFR* 돌연변이와 함께 공통으로 발생하였다. 구체적으로는, *EGFR* 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자에서 엑손 8에서의 *TP53* 돌연변이는 WT *TP53*을 갖는 환자보다 *EGFR*-TKI에 대한 더 낮은 반응성 및 더 나쁜 예후를 보여준다(30,31). 실제로, 축적된 연구는 *TP53*에서의 R280T 돌연변이가 암 세포의 증식 및 생존에 있어서 중요한 역할을 하고, 돌연변이체 *TP53*의 녹아운(knockdown)이 방광암 세포에서 G2 정지 및 아포토시스를 야기한다는 것을 보여주어 왔다(32,33). 3개의 상이한 *TP53*-유도 siRNA에 의한 돌연변이체 *TP53*의 고갈은 1 mg/mL의 아미반타맙으로 전처리된 YU-1163에서 활성화된 ERK의 감소를 가지면서 세포 증식을 유의하게 억제하였다(데이터는 제시되지 않음). 돌연변이체 *TP53*이 *EGFR*-TKI 저항성과 관련되어 있고(34), 고갈된 돌연변이체 *TP53*은 p-ERK의 하류 조절에 의해 아미반타맙의 감수성을 회복하였음을 고려해 볼 때, YU-1163 세포에서의 아미반타맙 처리 후의 p-ERK의 유도는, 잠재적으로 돌연변이체 *TP53*과 ERK 신호전달 캐스케이드 사이의 크로스토크를 통한 세포 생존의 주요 조절인자가 될 수 있다(35-37). 추가적으로, 본 발명자들은 A767_V769dup(YUO-036) 및 S768_D770dup(YUO-029)를 가진 환자의 흉막 삼출액으로부터 2개의 PDO 모델을 생성하여 *EGFR* 엑손20ins를 갖는 원래의 NSCLC의 표현형 및 분자적 지형(landscape)을 반복하였다(데이터는 제시되지 않음). YUO-029는 YU-1163 PDC(S768_D770dup)가 유래된 동일한 환자로부터 유래되었다. 도 2d에 나타난 바와 같이, YUO-036은 용량-의존적 방식으로 아미반타맙에 대해 감수성을 나타낸 반면, YU-1163을 갖는 동일한 환자로부터 유래된 YUO-029는 IgG1 대조군에 비해 아미반타맙 처리 후에 세포 생존력의 유의한 감소를 보여주지 않았다(도 2e). 종합하면, 이들 결과는 아미반타맙이 *EGFR* 및 *cMet* 신호전달 경로의 하향조절에 의해 *EGFR* 엑손20ins 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자-유래 암 세포에서 강력한 항종양 활성을 가짐을 나타낸다.

[0284] **실시예 4. *EGFR* 및 *cMet*는 아미반타맙에 반응하여 내재화된다.**

[0285] 아미반타맙에 의한 처리는 Ba/F3 세포(도 1a 내지 도 1g) 및 PDC(도 2a 내지 도 2e)에서 관찰된 바와 같이 *EGFR* 및 *cMet*의 하향조절을 가져온다. 많은 연구에 따르면, 항-*EGFR* mAb는 *EGFR*의 내재화를 유도하며, 이는 세포 표면 상에서의 이의 발현의 하향조절로 이어진다(38,39). 아미반타맙이 *EGFR* 엑손20ins 돌연변이를 갖는 세포 상의 *EGFR*에 직접 결합하는지의 여부를 조사하기 위하여, D770delinsGY 또는 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3

세포를 0.1 mg/mL의 IgG1 대조군 및 0.1 mg/mL의 아미반타맙과 함께 인큐베이션하였다. 형광-활성화 세포 분류 (FACS)를 사용하여 원형질막-결합 EGFR의 수준을 측정하였다. 원형질막 상에서의 EGFR 발현은 아미반타맙 처리 후 30분째에 거의 2배만큼 감소되기 시작하였다. 30분 시점에서 IgG1 대조군 처리된 세포 대비 EGFR의 중위 형광 강도(MFI)의 % 변화는 D770delinsGY 및 H773_V774insH에서 각각 56% 및 68%였으며, 후속으로 아미반타맙 처리 후 72시간째에 IgG1 대조군-처리된 세포 대비 40% EGFR 발현으로 유지되었다(표 1). *EGFR* 엑손20ins를 보유하는 PDC 상의 cMet뿐만 아니라 EGFR의 내재화를 조사하기 위하여, DFCI-127 및 DFCI-58 PDC를 0.1 mg/mL의 아미반타맙으로 처리하고, 원형질막-결합된 cMet 및 EGFR을 아미반타맙 처리 후 72시간째에 측정하였다(도 3a 및 도 3b). 이들 결과는 아미반타맙이 IgG1 대조군에 비해 PDC 상의 EGFR 및 cMet를 감소시켰음을 보여주었다. 면역형광(IF) 염색을 사용하여 아미반타맙 처리 후의 EGFR 및 cMet의 내재화를 시각화하였다. 72시간 동안의 0.1 mg/mL의 아미반타맙에 의한 처리는 내부 구획 내로의 EGFR 및 cMet 수용체의 재분포로 이어진 반면, IgG-처리된 세포는 EGFR 또는 cMet에 대한 염색 패턴의 변화를 보여주지 않았다(데이터는 제시되지 않음). 내재화, 그리고 후속으로, 리소좀에 의한 EGFR 및 cMet 수용체의 하향조절은 아미반타맙 처리 후 면역블롯, FACS 및 IF 검정에서 관찰된 감소된 EGFR 및 cMet 단백질 수준을 설명할 수 있었다. 리소좀 분해가 EGFR 단백질 수준을 하향조절하는 데 관여하였는지를 결정하기 위하여, D770delinsGY 및 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3 세포를 자가포식 억제제 바필로마이신의 부재 및 존재 하에서 아미반타맙으로 처리하였다. 바필로마이신 처리는 EGFR의 분해를 억제하였는데(도 3c), 이는 아미반타맙 처리 후의 총 EGFR 단백질 수준의 하향조절이 내재화 세포 표면 수용체의 리소좀 분해를 수반할 수 있음을 시사한다. 종합하면, 이들 결과는 아미반타맙에 의한 처리가 수용체 내재화를 유도하고, EGFR 및 cMet-매개 신호전달을 억제함으로써 아미반타맙의 관찰된 항증식 효과에 기여할 수 있음을 시사한다.

[표 1]

D770delinsGY 및 H773_V774insH를 과발현하는 Ba/F3 세포에서 검출된 원형질막 상에서의 EGFR 발현.

	% MFI 비	
	D770delinsGY	H773_V774insH
30 분	55.9	68.0
6 시간	58.9	49.1
24 시간	47.5	49.3
48 시간	45.7	46.9
72 시간	44.4	42.9

* % MFI(중위 형광 강도)

실시예 5. 아미반타맙은 생체내에서 Ba/F3 및 PDC 모델의 *EGFR* 엑손20ins 돌연변이-유도 성장을 억제한다.

아미반타맙이 생체내에서 *EGFR* 엑손20ins-유래 종양에 대해 활성인지를 결정하기 위하여, *EGFR* D770delinsGY 및 H773_V774insH 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 Ba/F3 세포 및 *EGFR* P772insPNP 및 S768_D770dup 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 PDC(각각 DFCI-127 및 YU-1163)를 사용하여 이종이식편 모델을 생성하였다. 마우스를 주당 2회 i.p.로 30 mg/kg의 아미반타맙, IgG1 대조군, 또는 비히클로 처리하였다. 아미반타맙-처리된 마우스는 Ba/F3 세포-보유 NOG 마우스 모델에서 비히클 또는 IgG1 대조군-처리된 마우스에 비해 감소된 종양 부피를 보여주었다(도 4a 및 도 4b). 종양 성장의 억제가 초기에 일어났으며, 처리 후 15일째에 지속되었다. 시험관내에서의 Ba/F3 및 PDC 세포에서 보여진 바와 같이, Ba/F3-보유 NOG 마우스 모델에서 아미반타맙 처리 후 EGFR, cMet, p-EGFR, 및 p-cMet의 단백질 발현이 유의하게 감소되었다(도 4c). 유사하게, PDC 이종이식편 모델에서, 아미반타맙-처리된 마우스는 비히클-처리된 마우스에 비해 종양 부피의 감소를 보여주었을 뿐만 아니라(도 4d 및 도 4e와 도 4g 및 도 4h), EGFR, cMet, p-EGFR, 및 p-cMet 단백질 수준의 감소를 보여주었다(도 4f 및 도 4i). 아주 흥미롭게도, 아미반타맙은 시험관내에서 YU-1163 PDC의 증식을 억제할 수 없기는 하였지만(도 2a 내지 도 2e), 아미반타맙 처리 후에 YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스에서 극적인 종양 퇴행이 관찰되었는데, 이는 추가의 인자가 아미반타맙의 생체내 항종양 효과에 기여할 수 있음을 시사한다(도 4g). 상기에 언급된 바와 같이, 포지오티닙은 *EGFR* 엑손20ins 질병에서 예비 임상 활성을 보여준 표적화된 작용제(targeted agent)이다(23, 24). 본 발명자들은 YU-1163(S768_D770dup)-보유 BALB/c 누드 마우스 및 D770_N771insSVD를 과발현하는 Ba/F3 세포-보유 NOG 마우스에서 포지오티닙의 항종양 활성 및 안전성을 아미반타맙의 것들과 비교하였다. 5 mg/kg의 포지오티닙(Q.D.)의 이전에 보고된 투여 계획을 사용하였을 때(23), 6일간의 처리 이내에 갑작스러운 사망이 발생하였다. 포지오티닙 및 아미반타맙에 대한 피부 독성 분석은, 포지오티닙-처리된 마우스는 5 mg/kg

및 10 mg/kg의 용량에서 얼굴, 복부, 및 등에 중증 피부 독성을 나타낸 반면, 30 mg/kg의 아미반타맵은 단지 얼굴에 최소한의 각화증만을 나타내었음을 보여주었다. 피부 독성에 더하여, 아미반타맵-처리된 마우스에 비해 포지오티닙-처리된 마우스에서 극적인 체중 손실이 관찰되었다. 아미반타맵에 대한 유리한 독성 프로파일은 진행 중인 I상 연구에서 보여진 것들과 일치하였다(18).

[0290] **실시예 6. 아미반타맵은 엑손20ins 모델에서 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 유도한다.**

[0291] ADCC의 과정은 표적 세포 항원과 활성화된 Fc γ 수용체(Fc γ R)가 각각 항체의 Fab 부분 및 Fc 부분에 의해 인계 이징될 때 개시되는 것으로 알려져 있다. 이펙터 세포, 주로 자연 살해(NK) 세포는 탈과립화 및 후속 사이토카인 생성을 촉발하며, 그 결과 표적 세포의 제거를 가져온다(40). ADCC가 아미반타맵-매개 항종양 활성화에서 역할을 하는지의 여부를 결정하기 위하여, 이펙터 세포로서 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)와 공동배양된 *EGFR* 엑손20ins 돌연변이를 발현하는 PDC(DFCI-127 및 YU-1163)를 사용하여 ADCC 검정을 수행하였다(E:T = 50:1). 아미반타맵에 의한 처리는 용량-의존적 방식으로 그리고 *EGFR*를 표적화하는 단일클론 항체인 세톡시맵보다 더 큰 정도로 PDC 둘 모두에서 세포독성을 가져왔다(도 5a 및 도 5b). 확대해석하면, 세톡시맵 처리는 아미반타맵에 대해 관찰된 것에 비해 YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스 모델에서 종양 부피의 덜 두드러진 감소로 이어졌다(데이터는 제시되지 않음). 도 5a에 나타난 아미반타맵-매개 세포성 세포독성은 DFCI-127 및 YU-1163 PDC에서 Fc 수용체(FcR) 차단제와의 인큐베이션에 의해 유의하게 손상되었는데(도 5c), 이는 아미반타맵-매개 ADCC 효과가 PBMC 상의 FcR과의 상호작용을 필요로 한다는 것을 시사한다. 유사하게, 아미반타맵의 항종양 효과는 아미반타맵을 항-마우스 CD16/CD32 항체와 공동처리하여 YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스에서 NK 세포 및 단핵구/대식세포 상의 FcR γ III/FcR γ II를 차단하였을 때 생체내에서 소실되었다(데이터는 제시되지 않음). 염증성 카이토카인, 예컨대 IFN- γ 및 TNF α 는 감염된 단핵구 및 활성화된 NK 세포로부터 ADCC 동안 분비되어, 항원 제시 및 적응 면역 반응을 조장하는 것으로 알려져 있다(41-43). 아미반타맵-의존성 ADCC와 분비된 IFN- γ 수준 사이의 상관관계를 조사하기 위하여, 본 발명자들은 아미반타맵 처리 후에 PDC 및 PBMC와 공동배양된 배지 중에서 IFN- γ 의 수준을 측정하였다. ADCC 효과의 정도와 일치되게, IFN- γ 수준은 세톡시맵 처리에 비해 아미반타맵 처리에 의해 유의하게 증가되었다(도 5d). FcR 차단제에 의한 처리는 IFN- γ 분비를 감소시켰는데, 이는 IFN- γ 분비가 아미반타맵의 Fc 도메인과 면역 세포 상의 FcR 사이의 상호작용에 의존적이었음을 나타낸다(도 5e). *EGFR* 엑손20ins-유도 종양 상의 *EGFR* 및 cMet에 결합된 아미반타맵에 의해 활성화되는 NK 세포로부터 분비된 IFN- γ 를 포함한 유도된 염증성 사이토카인은 생체내에서 인접한 면역 세포의 활성화 및 이의 종양 세포로의 동원으로 이어질 수 있다. 이를 조사하기 위하여, 본 발명자들은 각각 10 mg/kg 및 30 mg/kg 용량의 아미반타맵으로 처리된 PDX 모델(YHIM-1029) - 이는 D770_N771insG 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 환자-유래 종양으로부터 생성됨 - (도 6a), 및 YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스 모델에서, 종양 내로의 대식세포 및 NK 세포의 침윤을 분석하였다. BALB/c 누드 마우스에서 각각 대식세포 및 NK 세포의 마커인 mF4/80 및 mNkp46가 아미반타맵에 의한 처리 후에 종양에서 상승되었는데, 이는 시험관내에서 관찰된 ADCC의 기전적인 성분이 생체내에서 종양 내로의 주요 이펙터 세포의 동원으로 변환될 수 있음을 시사한다(데이터는 제시되지 않음). 추가적으로, 이들 결과는 아미반타맵이 *EGFR* 엑손20ins와 관련하여 세톡시맵보다 더 큰 ADCC 및 항종양 활성을 가지며, ADCC가 아미반타맵의 세포독성 효과를 매개하는 데 중요한 기전임을 시사한다.

[0292] **실시예 7. 아미반타맵은 D770_N771insG 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 PDX 모델에서 항종양 활성을 입증한다.**

[0293] PDX 모델(YHIM-1029)에서 아미반타맵에 의한 처리는 종양 부피의 강력한 감소를 가져왔는데, 이는 Ba/F3 및 PDX 모델에서 관찰된 항종양 활성이 PDX 모델에서 보존되었음을 나타낸다. 대조적으로, 세톡시맵(10 mg/kg) 또는 포지오티닙(1 mg/kg)에 의한 처리는 종양 부피를 단지 미약하게 감소시켰다(도 6b). 포지오티닙의 용량을 상기에 기재된 포지오티닙의 독성으로 인해 이 실험을 위해 1 mg/kg으로 감소시켰다(데이터는 제시되지 않음). 약력학적 분석은 아미반타맵 처리가 *EGFR* 및 cMet 하향조절, 하류 신호전달 경로인 p-AKT, p-ERK, 및 p-S6의 억제, 및 감소된 아포토시스 마커를 가져왔음을 보여주었다(도 6c). 대조적으로, 세톡시맵 또는 포지오티닙으로 처리된 마우스로부터의 종양은 *EGFR* 하류 신호전달 성분인 p-ERK 및 p-S6을 유지하였는데(도 6d), 이는 종양 성장에 대해 관찰된 미약한 효과와 일치하였다. *EGFR*, cMet, Ki-67, 및 TUNEL 염색을 위한 면역조직화학적 염색, 및 헤마톡실린 및 에오신(H&E) 염색을 사용하여, 아미반타맵 또는 비히클 처리 후에 얻어진 종양 절편의 조직병리학적 검사는 생체내에서 *EGFR* 엑손20ins-유도 종양에서 수용체 억제 및 아포토시스 기구의 인계이지먼트를 추가로 확인시켜 주었다(데이터는 제시되지 않음). 아미반타맵의 항종양 효과가 생체내 모델에서 선천 면역에 의한 영향을 받았는지의 여부를 검증하기 위하여, 본 발명자들은 항-CD16/CD32 항체의 투여를 통해 마우스 CD16/32를 차단하였다. 도 6b에 나타난 아미반타맵의 항종양 효과는, 아미반타맵-처리된 PDX-보유 BALB/c 누드 마우스가 항-CD16/CD32 항체와 공동처리되었을 때 소실되었는데, 이는 아미반타맵의 항종양 효과가 이러한 조건

에서 면역 세포에 의해 부분적으로 매개되었음을 나타낸다(데이터는 제시되지 않음).

실시예 8. EGFR 엑손20ins 질병을 갖는 환자에서의 아미반타맙의 항종양 활성.

아미반타맙의 잠재적인 임상 이득을 진행성 NSCLC를 갖는 환자에서 아미반타맙의 진행 중인 2-파트 1상 연구(NCT02609776)에서 평가하였다. 도 7은 연구 설계를 도시한다.

여기서 제시된 분석은 1050 mg(80 kg 이상인 환자에 대해서는 1400 mg)의 아미반타맙의 권장된 2상 용량(RP2D)을 첫 번째 사이클에 대해서는 주 1회, 이후에는 격주로 정맥내 제공받은 엑손20ins 돌연변이를 갖는 등록된 모든 환자를 포함한다. 안전성 집단(N=50)은 RP2D의 아미반타맙을 제공받은 모든 환자를 포함하였으며, 반응-평가가능한 집단(n=39)은 적어도 2가지의 질병 평가를 가졌거나 중단된 요법을 가졌던 환자를 포함하였다. 유해사건(adverse event, AE)은 규격[Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.03]에 따라 등급을 매겼다. 반응은 규격[Response Criteria in Solid Tumors v1.1]에 따라 연구자에 의해 평가하였다.

환자. 임상 연구의 파트 1과 파트 2에 걸쳐, EGFR 엑손20ins-돌연변이된 NSCLC를 갖는 50명의 환자는 RP2D의 아미반타맙의 적어도 1회의 용량을 제공받았으며; 이들 환자 중에서, 39명은 확인된 13개의 구별되는 EGFR 엑손20ins 변경에 대해 반응-평가가능하였다(표 2).

[표 2]

반응-평가가능한 환자의 인구 통계학적 특성 및 질병 특성.

	총계 (N=39)
중위 연령, 세 (범위)	61 (40 내지 78)
남성 / 여성, n (%)	19 (49) / 20 (51)
인종, n (%)	
아시아인	25 (64)
흑인	1 (3)
백인	11 (28)
보고되지 않음	2 (5)
ECOG PS, n (%)	
0	14 (36)
1	24 (62)
2	1 (3)
초기 진단으로부터의 시간의 중위값 - 개월	12 (1 내지 56)
선암종, n (%)	39 (100)
엑손 20ins 돌연변이, n (%)	39 (100)
이전 치료 차수(line)의 중위값, n (범위)	1 (0 내지 7)
이전 전신 요법, n (%)	33 (85)
백금-기반 화학요법 ^a	29 (74)
면역-항암 요법 ^b	13 (33)
EGFR TKI	9 (23)
베바시주맙	4 (10)
이전 요법 없음	6 (15)

^a 전이된 상태(metastatic setting)에서, ^b 니볼루맙, 아테졸리주맙, 펌브롤리주맙, 두르발루맙; ECOG

PS = 미 동부 종양학 협력 그룹 수행도; EGFR = 표피 성장 인자 수용체; TKI = 티로신 키나제

억제제

안전성. RP2D의 환자의 96%에서 AE가 보고되었으며, 대개 등급 1 내지 등급 2였다(60%; 표 3). AE로 인한 용량 감소(5 [10%]) 및 중단(3 [6%])이 드물었으며; 중증 독성의 일관된 패턴은 용량 중단 또는 변경과 관련이 없었다. 가장 흔한 모든-등급(all-grade) AE는 발진, 주입 관련 반응, 및 조갑주위염이었다(표 3). IRR은 주로

첫 번째 주입에서 발생하였으며, 후속 치료를 방해하지 않았다. 등급 3 이상의 발진은 보고되지 않았으며, 1명의 환자가 등급 3 설사를 보고하였다(3 [6%] 환자수는 임의의 등급의 설사를 가졌다). 3 (6%) 환자수는 고아밀라제혈증, 저칼륨혈증, 증가된 리파제, 및 건부/홍부 통증의 등급 3 이상의 치료-관련 AE를 가졌다. 연조직염, 간질성 폐 질병, 및 건부/홍부 통증의 치료-관련 심각한 AE가 3 (6%) 환자수에서 보고되었다.

• 사망으로 이어진 AE는 치료-관련된 것으로 간주되지 않았다.

[표 3]

RP2D로 치료된 환자(안전성 집단)에서의 유해 사건(AE).

안전성 집단에서의 AE, n (%)	총계 (N=50)
임의의 AE	48 (96)
심각한 AE	14 (28)
등급 3 이상의 AE	18 (36)
사망으로 이어진 AE (모두 아미반타말과 관련이 없음)	4 (8)
중단으로 이어진 AE	3 (6)
용량 감소로 이어진 AE	5 (10)
용량 중단으로 이어진 AE ^a	15 (30)
모든-등급 AE (≥15%), n (%)	총계 (N=50)
발진 ^b	36 (72)
주입-관련 반응	30 (60)
조갑주위염	17 (34)
변비	13 (26)
저알부민혈증	11 (22)
호흡곤란	10 (20)
피로	9 (18)
요통	8 (16)
구내염	8 (16)

a - 주입 관련 반응은 제외함, b - 좌창성 피부염, 발진, 전신성 발진, 반점상 구진성 발진, 농포성 발진, 구진성 발진, 홍반, 전신성 홍반, 홍반성 발진, 황반, 회음부 발진, 소양성 발진, 피부염을 포함함; AE = 유해 사건; RP2D = 권장 2 상 용량.

효능. 표적 병변의 감소가 백금 후(post-platinum) 환자에서만뿐만 아니라 치료-미경험 환자에서도 관찰되었다(도 8). 확인된 모든 13개의 구별되는 EGFR 엑손20ins 변형에 걸쳐 활성이 관찰되었다. 단지 확인된 반응의 수인 전체 반응률(ORR)은 36% (95% 신뢰 구간[CI], 21 내지 53)였으며, 이때 14/39 환자수가 부분 반응을 달성하였다(도 9). 백금 후 환자에서의 ORR은 41% [95% CI, 24 내지 61]였다(도 9). 임상 이득률(부분 반응 또는 더 우수한 반응 또는 적어도 12주의 안정적인 질병[2가지 질병 평가])은 모든 환자에 대해서는 67% (95% CI, 50 내지 81), 그리고 백금 후 환자에 대해서는 72% (95% CI, 53 내지 87)였다. 반응은 2개월간의 치료 이내에 주로 발생하였다(도 10). 중위 4개월 (범위, 1 내지 26)의 추적관찰 시점에서, 모든 평가가능한 환자에 대한 중위 반응 지속기간(median duration of response, mDOR)은 10개월 (범위, 1 내지 16)이었다(도 10). mDOR은 백금 후 환자의 경우 7개월 (범위, 1 내지 16)이었다(도 10). 데이터 컷오프 시점에서, 9/14 (64%) 환자수가 진행 중인 반응을 가졌으며; 백금-기반 화학요법 도중에 진행된 7/12 (58%) 환자수는 진행 중인 반응을 가지면서 치료를 유지한다. 중위 무진행 생존기간(mPFS)은 모든 환자 중에서 8.3개월 (95% CI, 3.0 내지 14.8)이었으며, 이때 유의한 조기 중도절단(censoring)을 갖는다(도 11). 백금 후 환자는 8.6개월 (95% CI, 3.7 내지 14.8)의

mPFS를 가졌다(도 11).

[0305] 아미반타맵의 임상 활성이 *EGFR* 엑손20ins 질병을 갖는 환자에서 관찰되었다. *EGFR* H773delinsNPY 엑손20ins 돌연변이를 보유하는 58세 환자는 65% 종양 감소를 가지면서 부분 반응을 달성하였으며(도 12a), *EGFR* S768_D770dup 엑손20ins 돌연변이를 갖는 48세 환자는 38.9% 종양 감소를 가지면서 부분 반응을 달성하였다(도 12b). 이들 환자는 관리가능한 독성을 가지면서 아미반타맵 지속 하에서 각각 92주 및 32주 동안 무진행이었다.

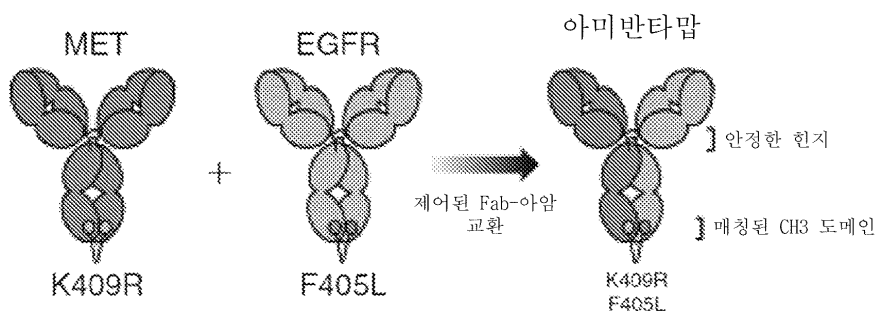
[0306] *EGFR* 및 종양 억제인자 *TP53* 유전자가 독립적인 예후를 가지면서 NSCLC를 갖는 환자에서 흔하게 돌연변이되는 것으로 관찰되었다. 더욱이, *EGFR* 및 *TP53*에서의 동시 돌연변이를 갖는 환자에서는, *EGFR*-TKI에 대해 감소된 반응성에 대한 보고가 있다(53). 본 발명자들의 연구에서, 아미반타맵에 의한 처리 후에 YU-1163 PDC 및 YUO-029 PDO에서 유사한 효과가 관찰되었다. 다른 한편으로, 아미반타맵은 YU-1163-보유 BALB/c 누드 마우스에서 강력한 생체내 활성을 나타내었는데, 이는 도 5a 내지 도 5e에 나타난 아미반타맵의 ADCC 활성이 생체내 항종양 활성에 관여하는 것으로 여겨졌음을 시사한다. 이들 결과는 아미반타맵에 의해 유도된 이펙터 세포-의존성 및 세포-비의존성 MOA의 조합(도 12c)이, 다루기 힘든(intractable) 돌연변이, 예를 들어 *EGFR* 엑손20ins 질병에서의 것, 및 동시 유해 돌연변이, 예컨대 본 발명자들의 임상 모델에서 존재하고 더 광범위한 환자 집단에서 보고되는 *TP53* 돌연변이의 합체를 보유하는 종양에서 항종양 활성을 가져올 수 있음을 시사한다.

[0307] **결론.** 아미반타맵은 RP2D로 치료된 엑손20ins 질병을 갖는 환자에서 관리가능한 안전성 프로파일을 갖는다. 독성은 대부분 등급 1 내지 등급 2였으며, *EGFR* 활성의 억제와 일치하였다. 등급 3 이상의 발진 사건은 보고되지 않았으며, 단지 1건의 등급 3 설사만이 보고되었다. 치료-미경험 환자 및 백금 후 환자에서 반응이 관찰되었다. ORR은 모든 환자에 대해서는 36%, 그리고 백금 후 환자에 대해서는 41%였다. 반응은 모든 환자에 대해서는 10개월, 그리고 백금 후 환자에 대해서는 7개월의 mDOR로 지속되었다. 아미반타맵 요법은 모든 환자에 대해서는 8.3개월, 그리고 백금 후 환자에 대해서는 8.6개월의 mPFS를 가져왔다. 이들 데이터에 기초하여, 아미반타맵은 백금-기반 화학요법 도중에 또는 그 후에 진행된 *EGFR* 엑손20ins NSCLC 질병을 갖는 환자의 치료를 위한 FDA 혁신적 치료제 지정을 받았다.

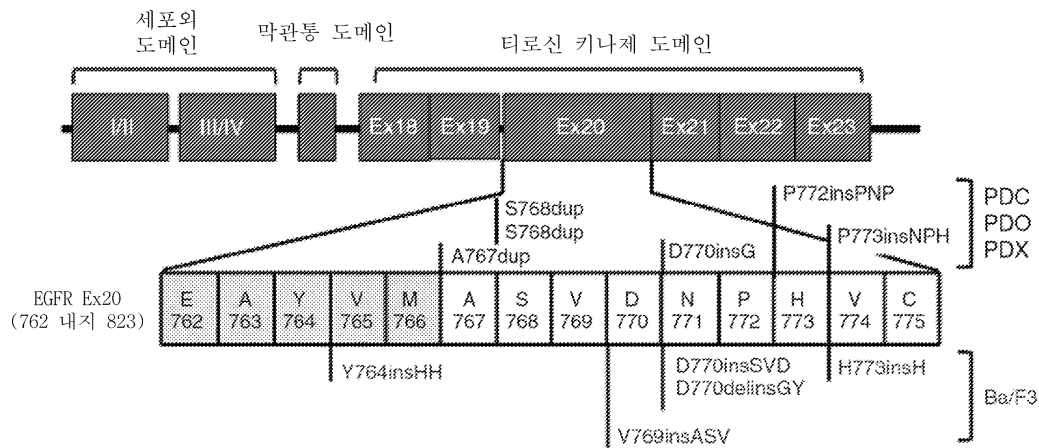
[0308] 114명의 환자(안전성군) 및 81명의 환자(효능군)를 포함하는 이러한 임상 시험으로부터의 추가의 데이터는 상기에 개시된 데이터와 일치하였다. 구체적으로는, 아미반타맵은 40%의 ORR로의 강력한 효능 및 11.1개월의 중위 반응 지속기간을 나타내었다. 중위 무진행 생존기간(mPFS)은 8.3개월이었다. 안전성 프로파일은 이들 환자에서 내약성을 나타내었는데, 이때 치료-관련 유해 사건은 주로 등급 1 내지 등급 2(16%가 등급 3 이상임)였다.

도면

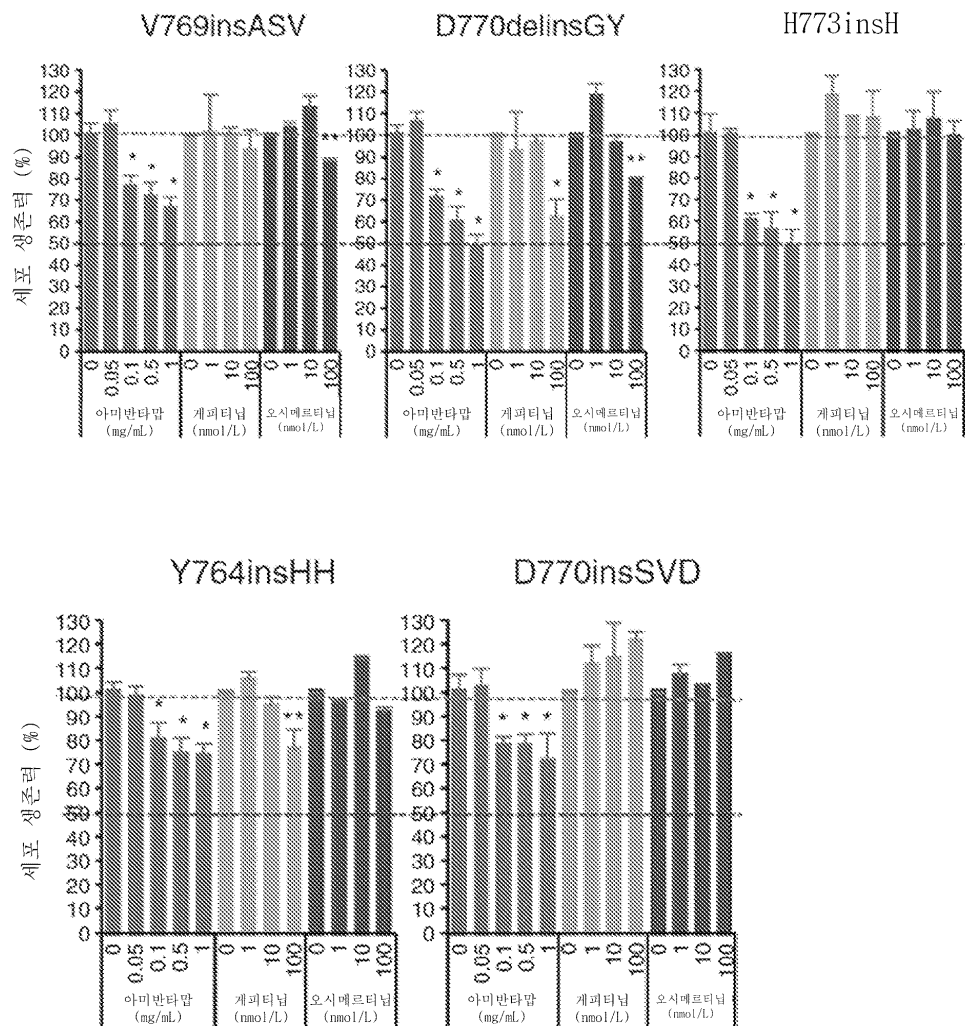
도면1a



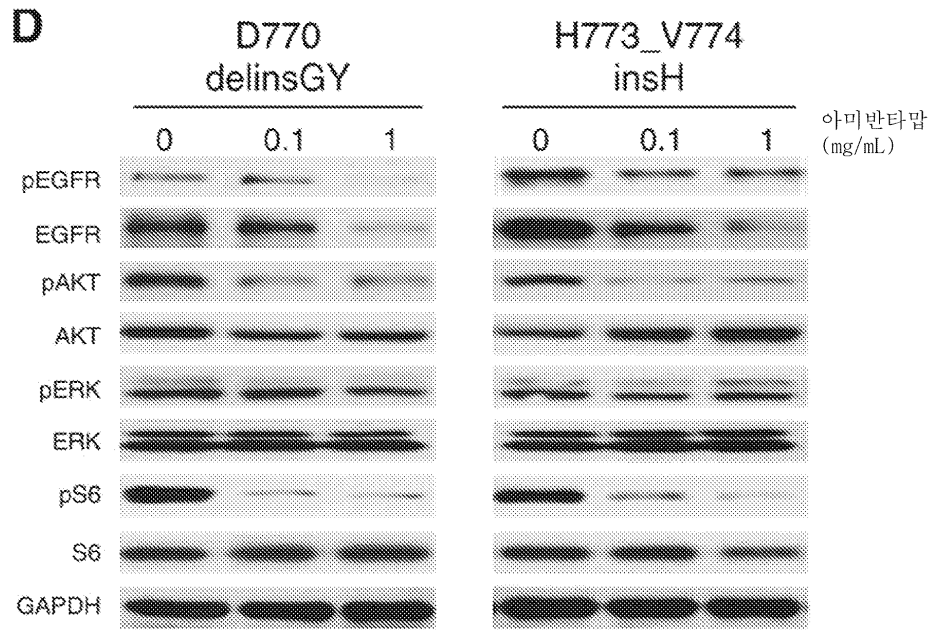
도면1b



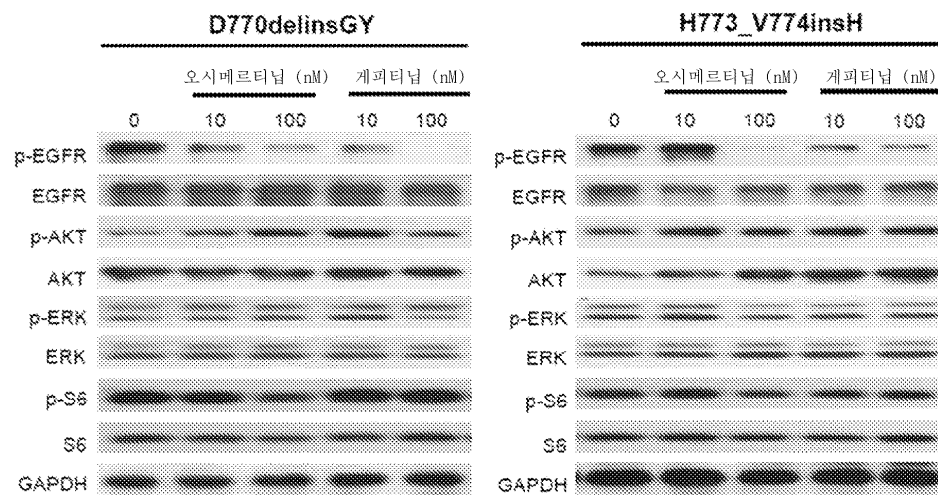
도면1c



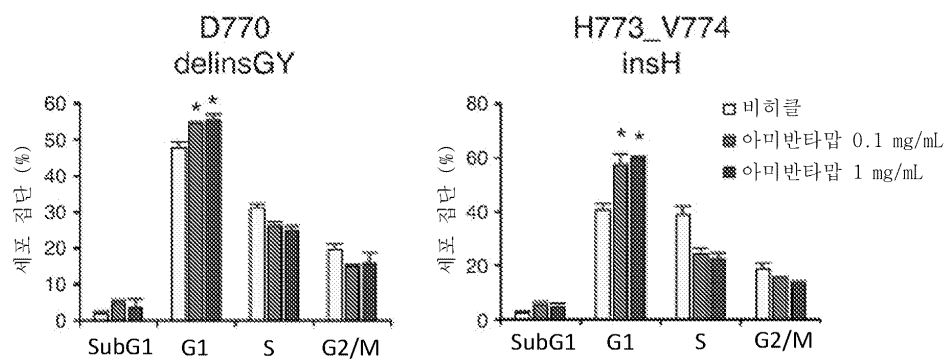
도면1d



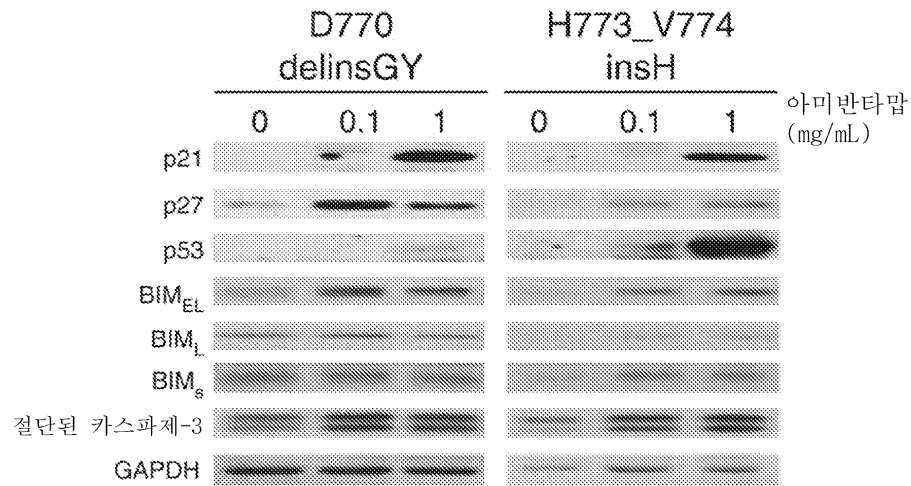
도면1e



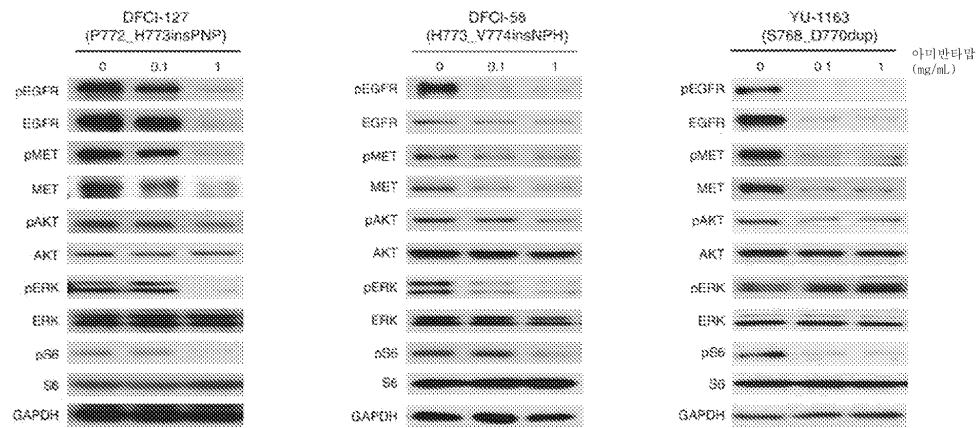
도면1f



도면1g

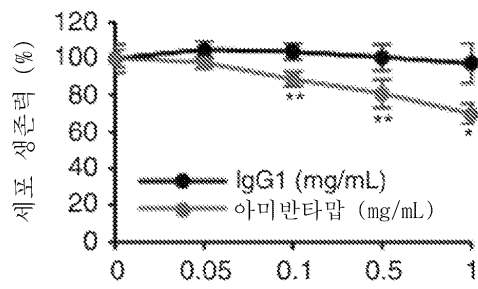


도면2a

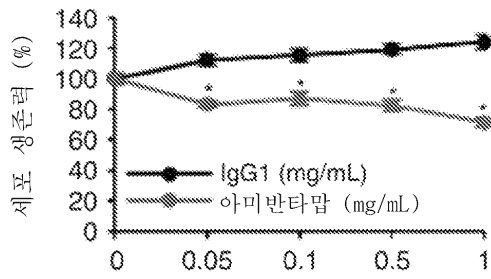


도면2b

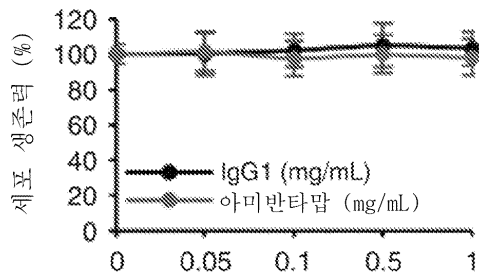
DFCI -127 (P772_H773insPNP)



DFCI -58 (H773_V774insNPH)

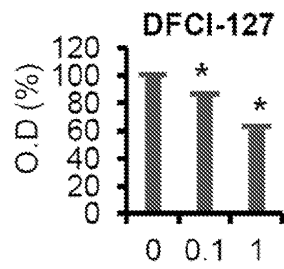


YU -1163 (S768_D770dup)

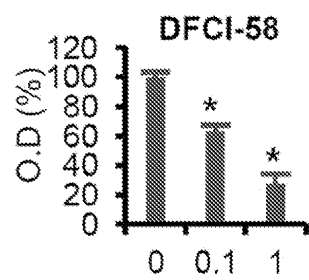


도면2c

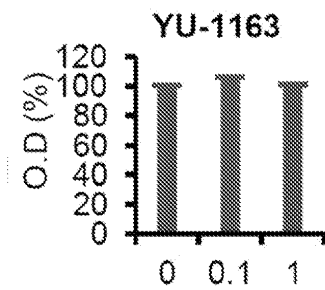
DFCI-127 (P772_H773insPNP)



DFCI-58 (H773_V774insNPH)

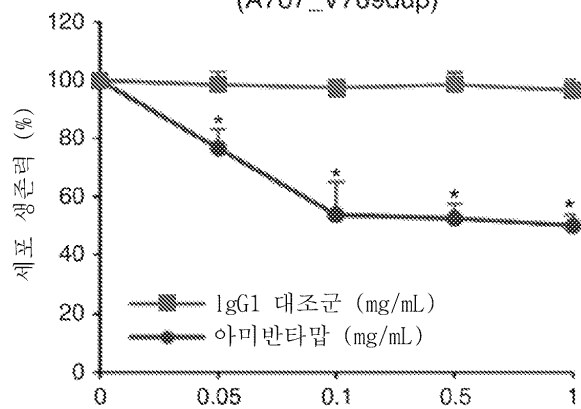


YU-1163 (S768_D770dup)

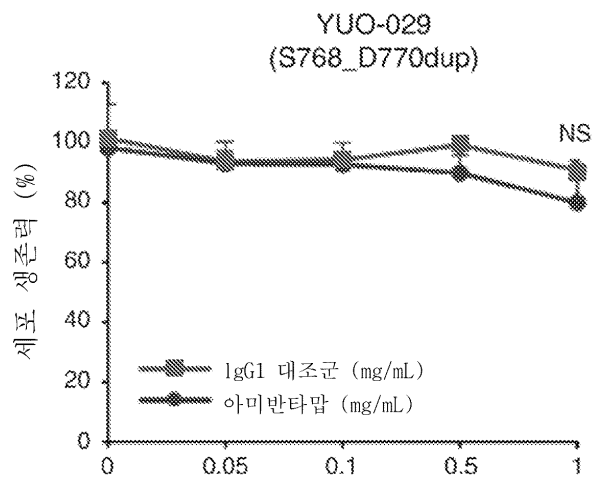


도면2d

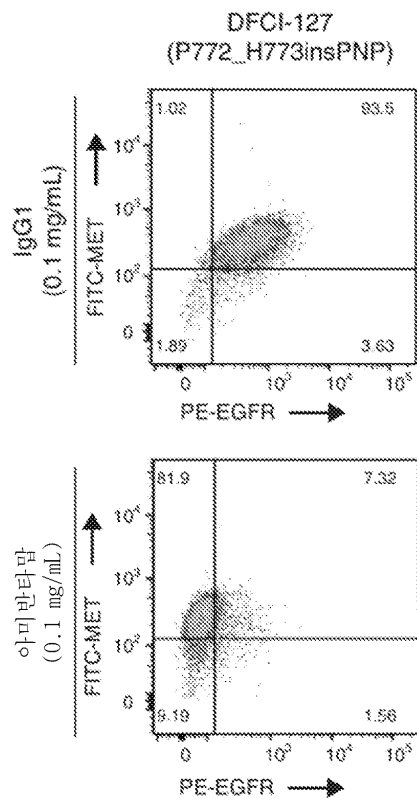
YUO-036
(A767_V769dup)



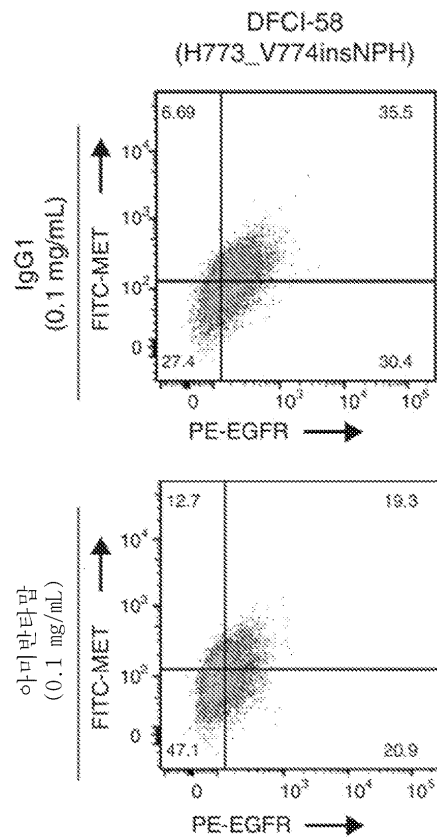
도면2e



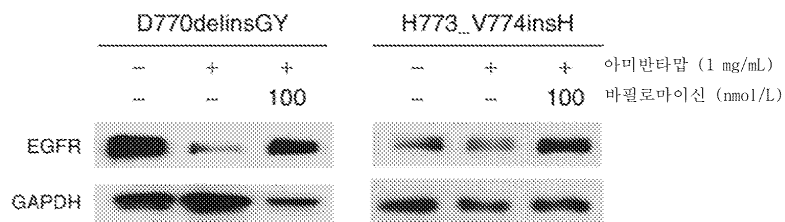
도면3a



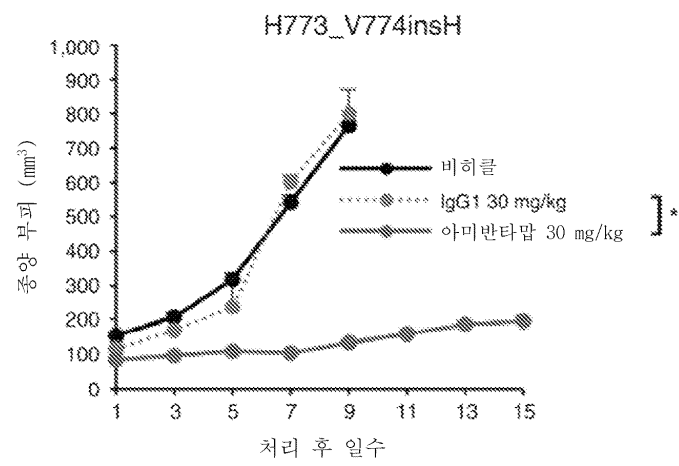
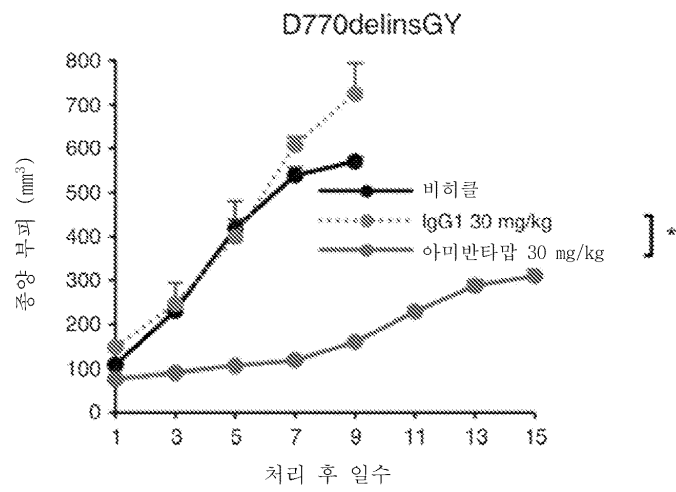
도면3b



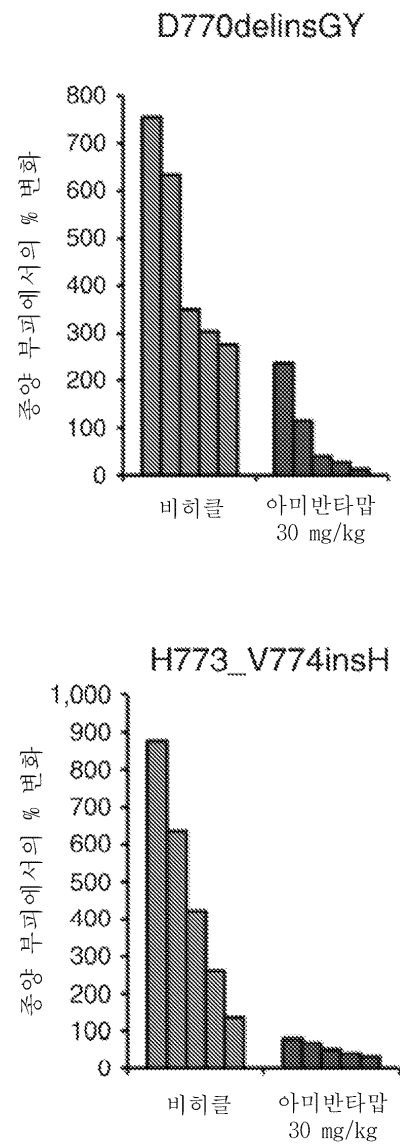
도면3c



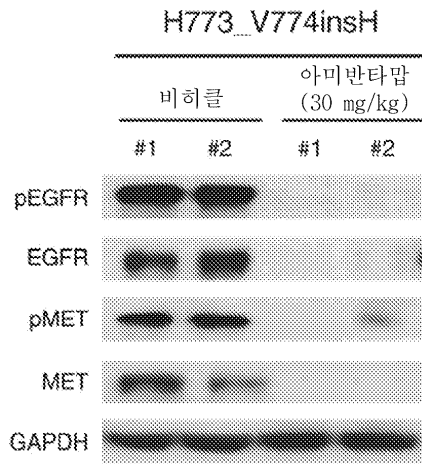
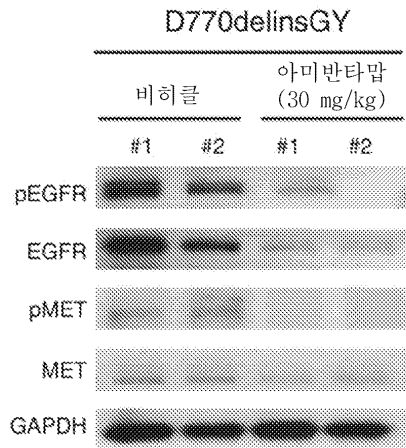
도면4a



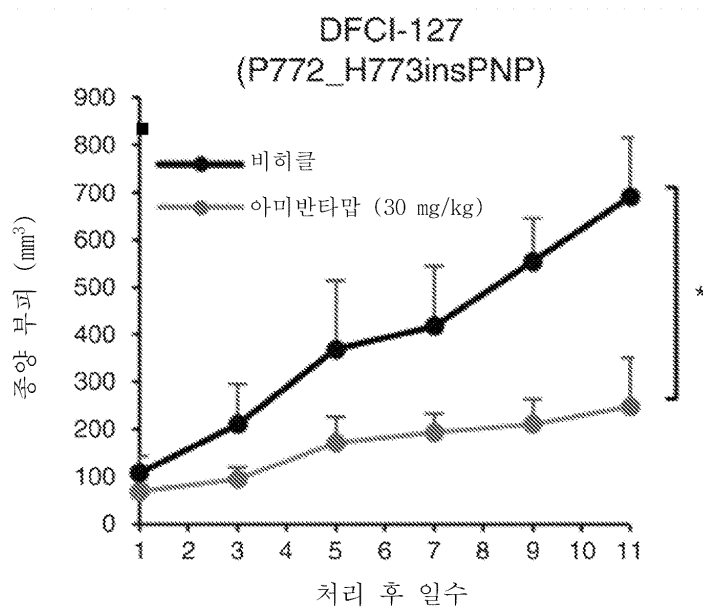
도면4b



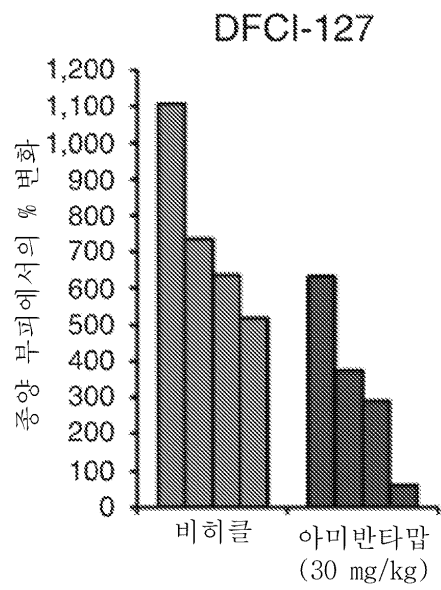
도면4c



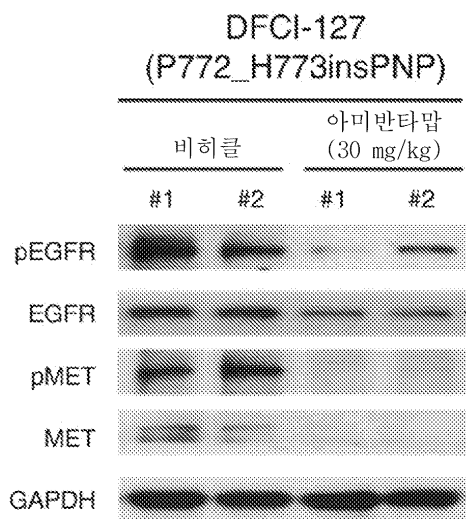
도면4d



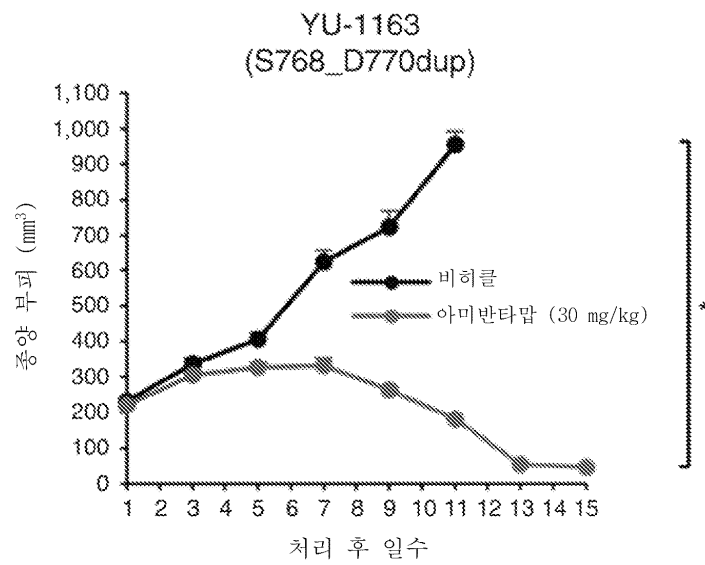
도면4e



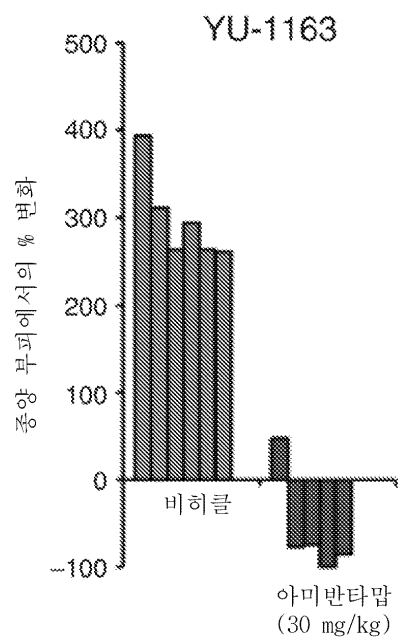
도면4f



도면4g



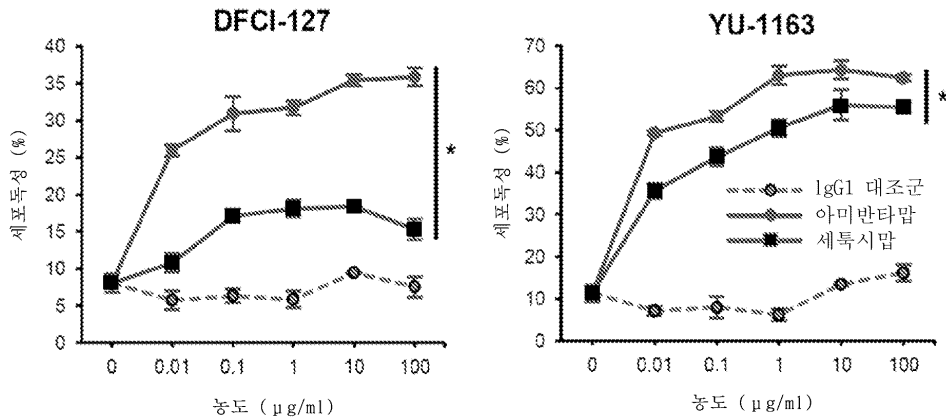
도면4h



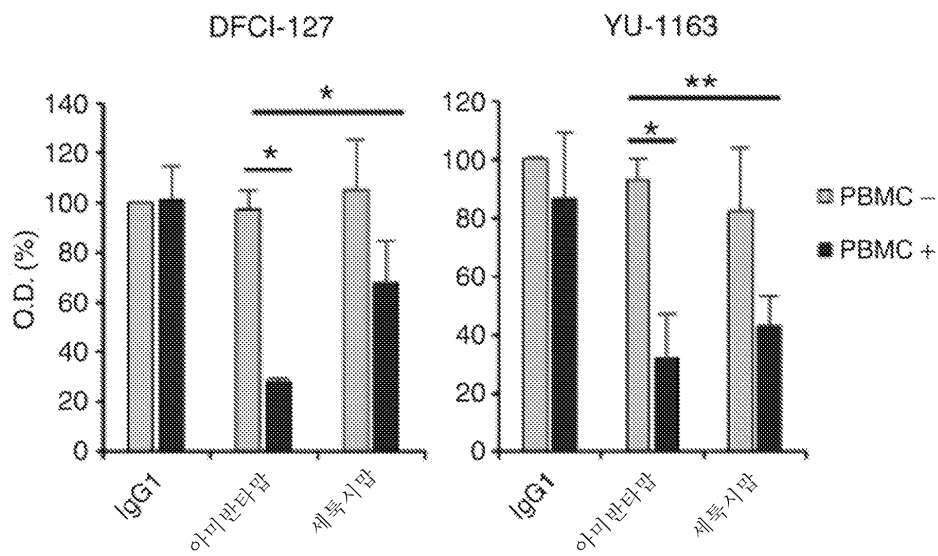
도면4i



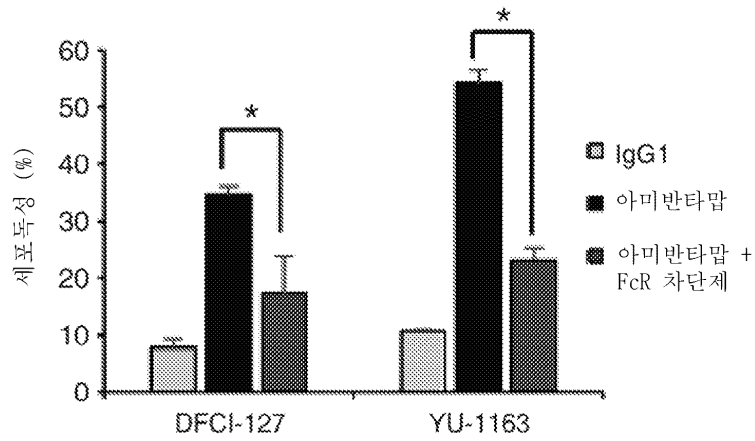
도면5a



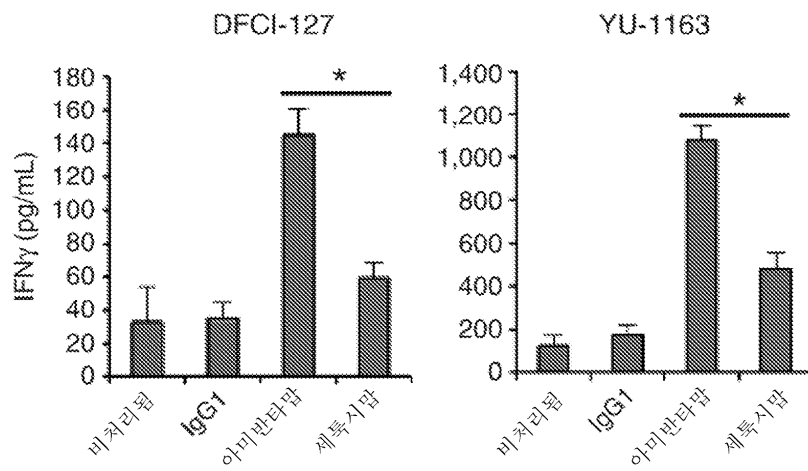
도면5b



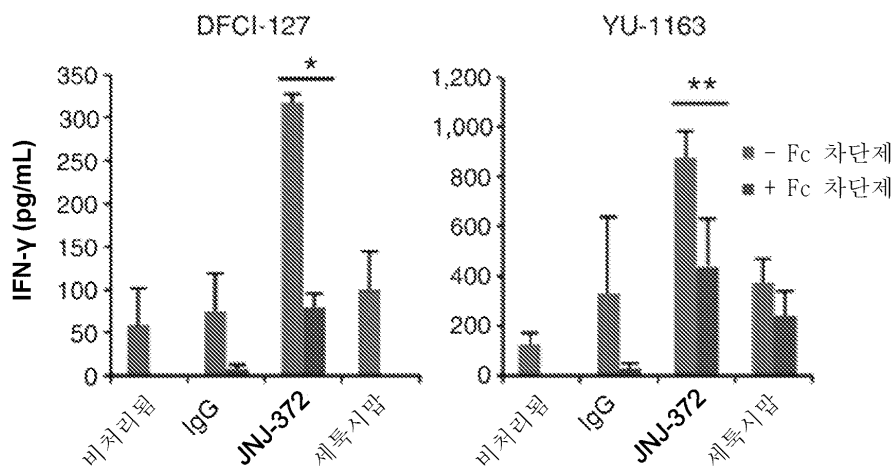
도면5c



도면5d



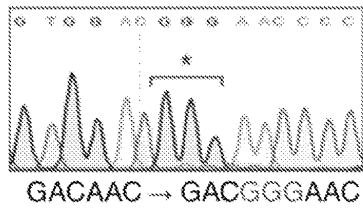
도면5e



도면6a

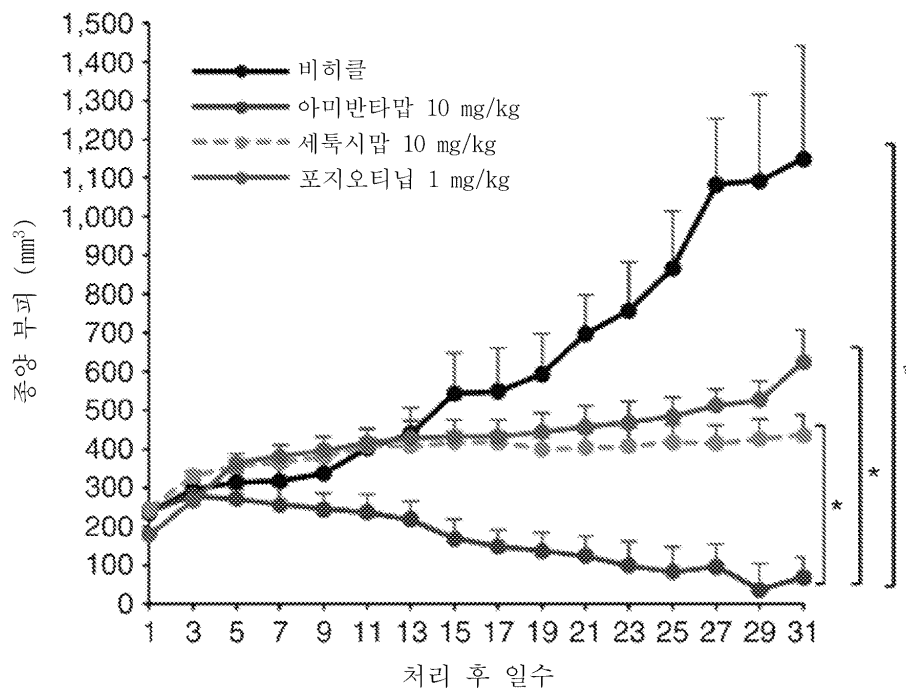
YHIM-1029 (D770_N771insG)

D770_N771insG

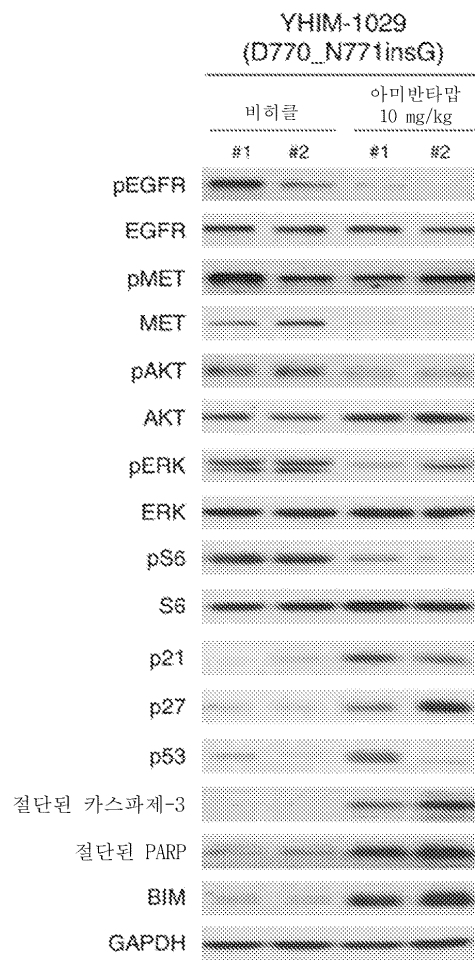


도면6b

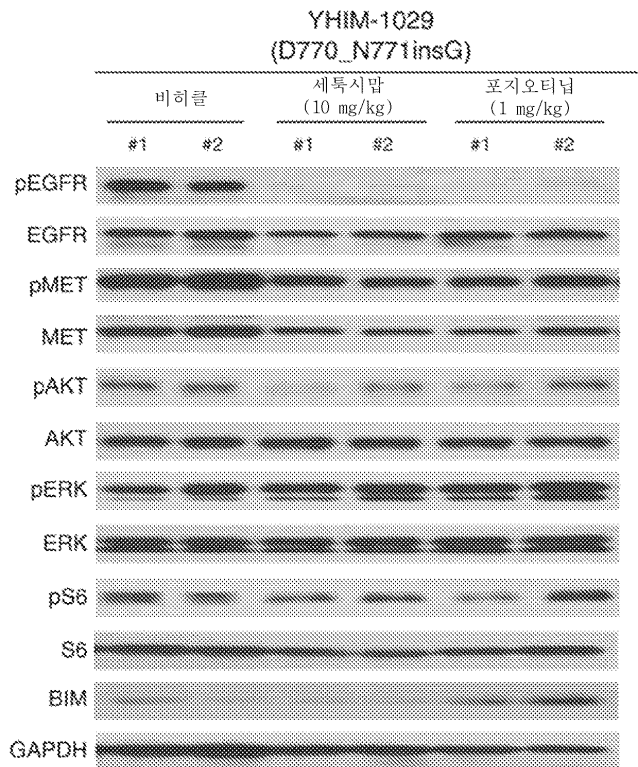
YHIM-1029



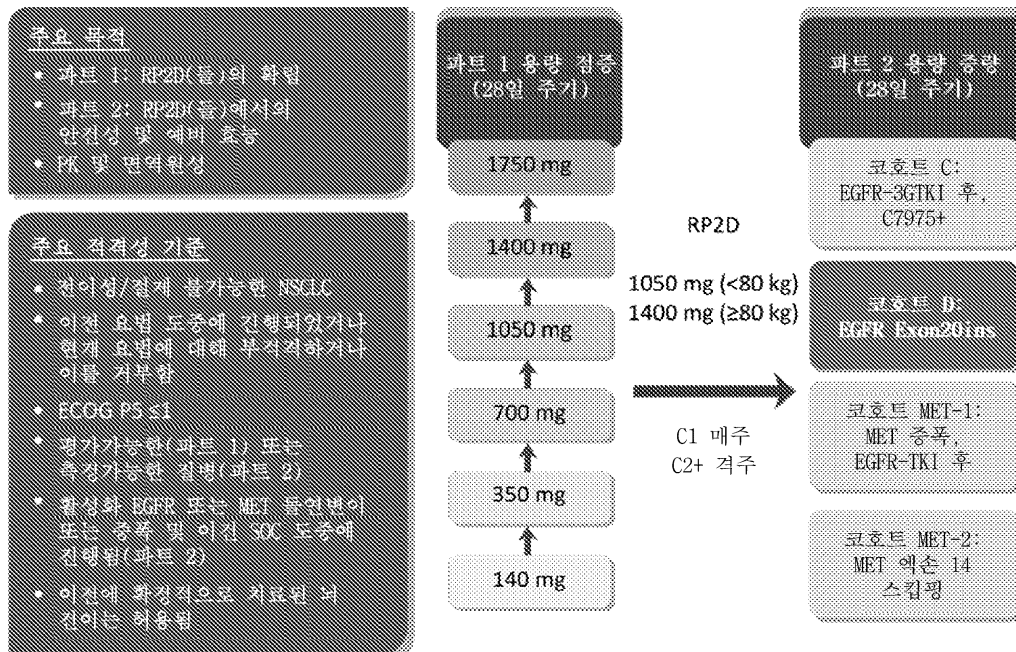
도면6c



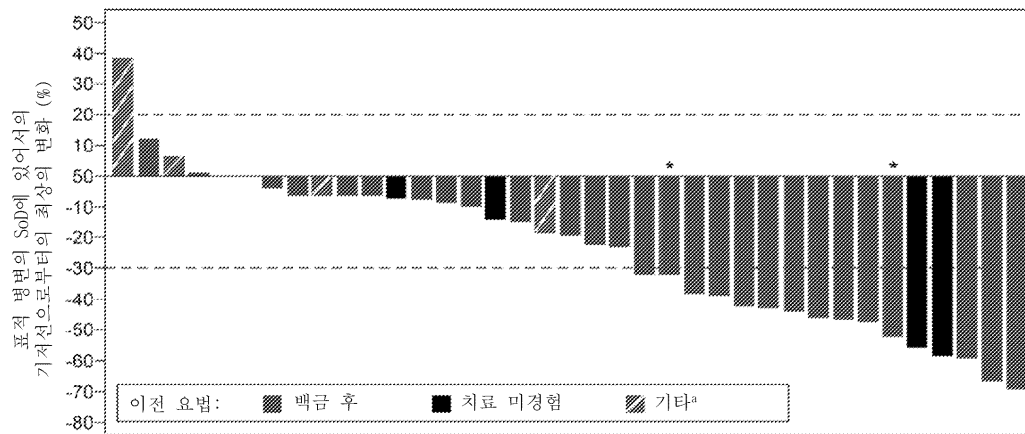
도면6d



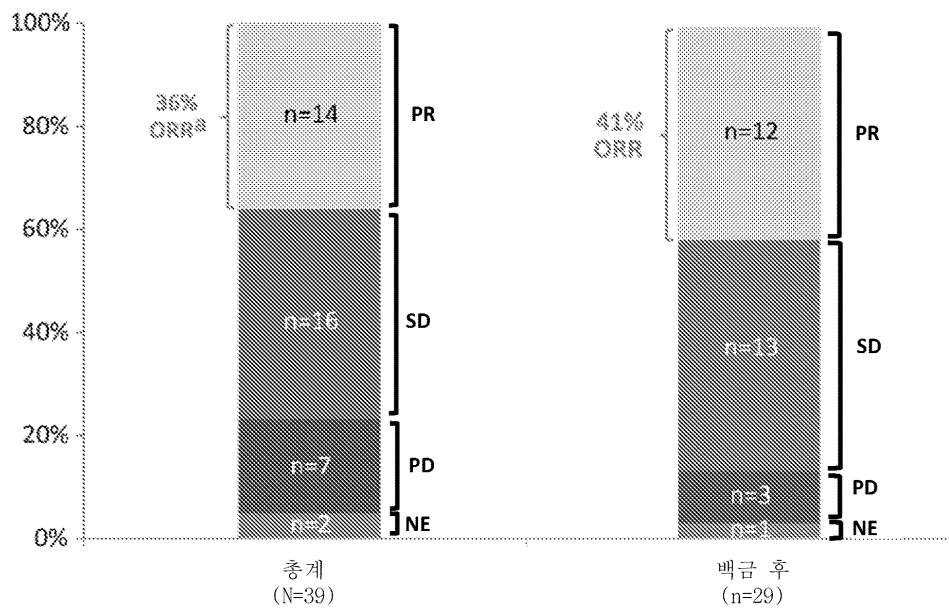
도면7



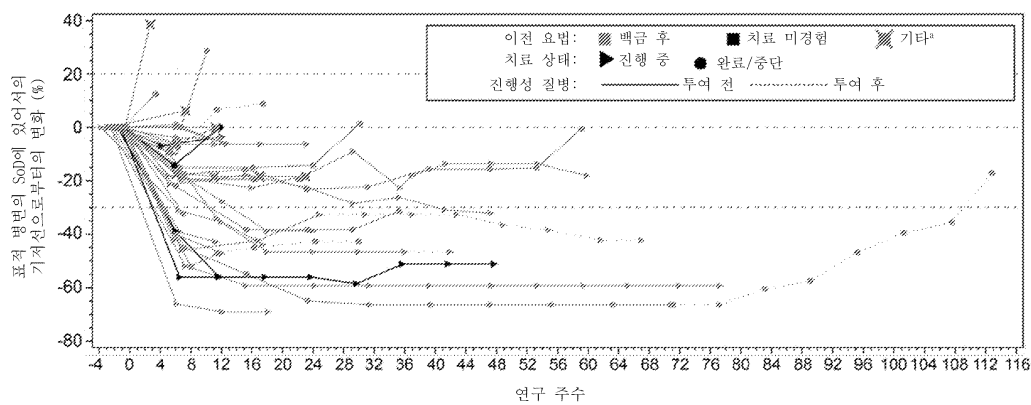
도면8



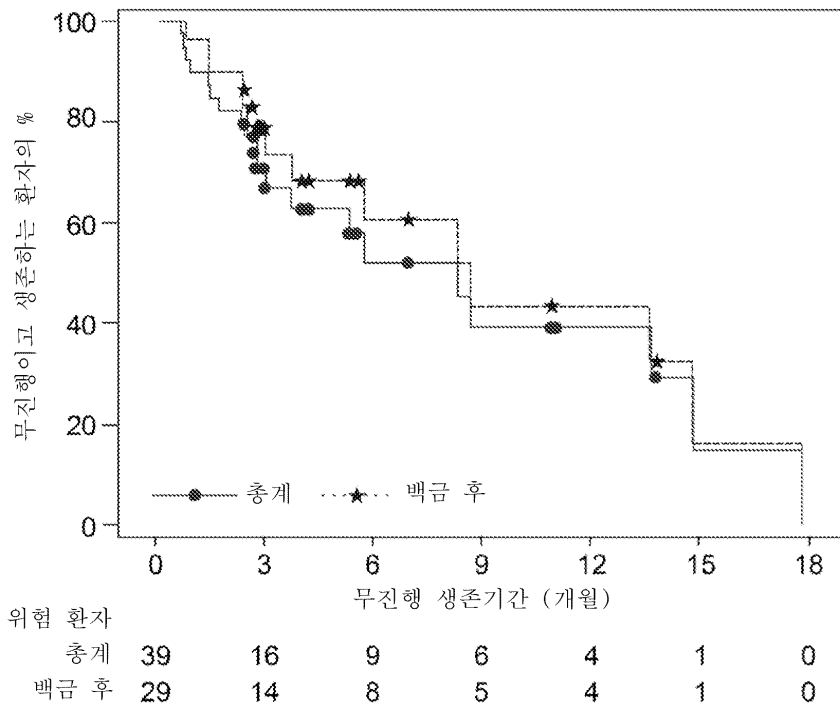
도면9



도면10

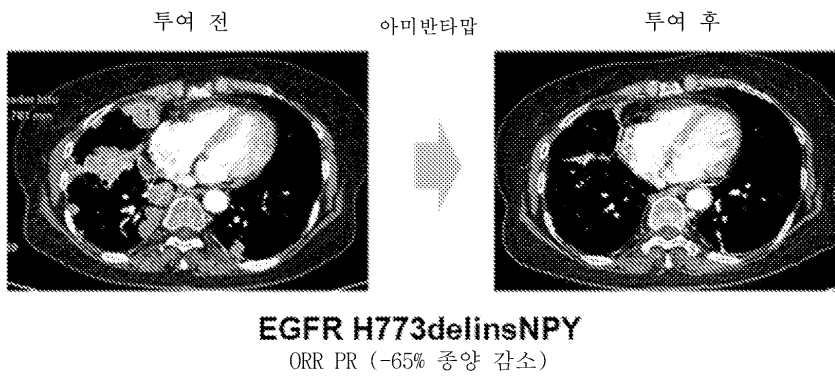


도면11



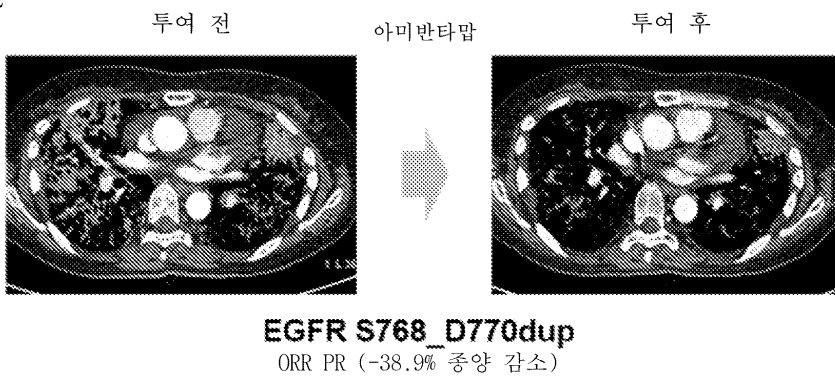
도면12a

사례 #1

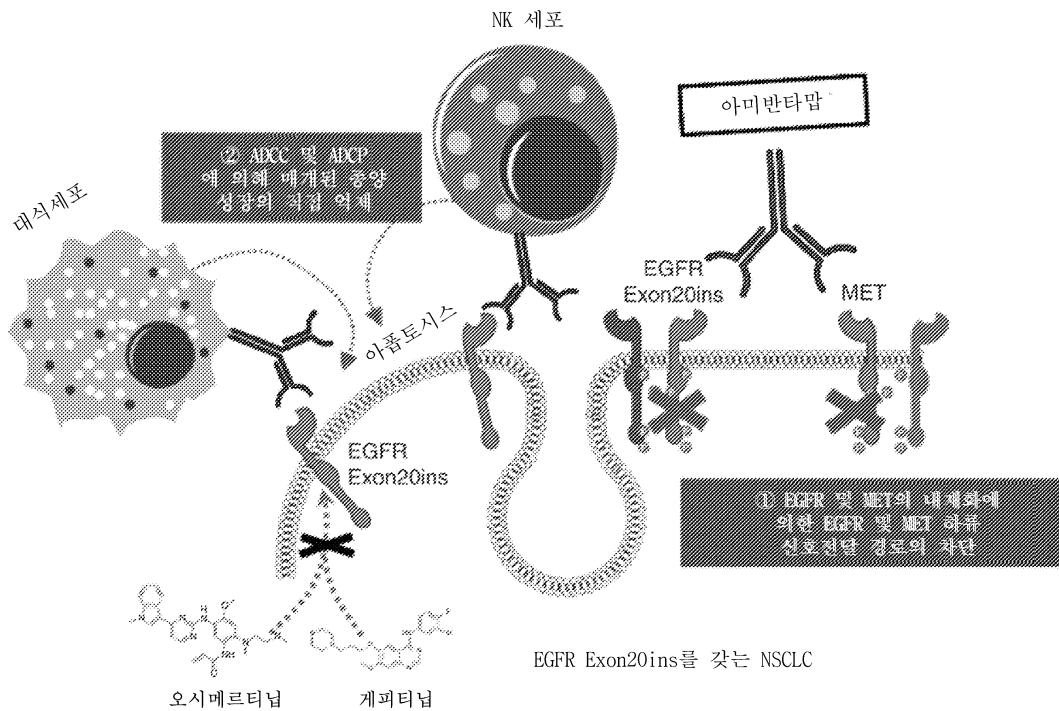


도면12b

사례 #2



도면12c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Janssen Biotech, Inc.

Knoblauch, Roland

Moore, Sheri

<120> TREATMENT OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER WITH EGFR MUTATIONS

<130> JBI6371WOPCT1

<140> To Be Assigned

<141> 2021-08-25

<150> 63/069,748

<151> 2020-08-25

<160> 20

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR1, EGFR binding arm

<400> 1

Thr Tyr Gly Met His

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR2, EGFR binding arm

<400> 2

Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR3, EGFR binding arm

<400> 3

Asp Gly Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR1, EGFR binding arm

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Ala Leu Val

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR2, EGFR binding arm

<400> 5

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR3, EGFR binding arm

<400> 6

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR1, c-Met binding arm

<400> 7

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR2, c-Met binding arm

<400> 8

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HCDR3, c-Met binding arm

<400> 9

Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR1, c-Met binding arm

<400> 10

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR2, c-Met binding arm

<400> 11

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> LCDR3, c-Met binding arm

<400> 12

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr

1 5

<210> 13

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH, EGFR binding arm

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Gly 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 Asp Gly Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL, EGFR binding arm

<400> 14

Ala Ile Gln Leu 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 Ile Ser Ser Ala

20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 15

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH, c-Met binding arm

<400> 15

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

1
5
10
15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL, c-Met binding arm

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu 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 Ala Asn Ser Phe Pro Ile

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 17

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain 1

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Gly 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 Asp Gly Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe

100 105 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

115 120 125
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser

130 135 140
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu

145 150 155 160
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

165 170 175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

180 185 190
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys

195 200 205
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu

210 215 220
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

225 230 235 240
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

245 250 255
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

260 265 270
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

275 280 285
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

290 295 300
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

305 310 315 320
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
355 360 365
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
405 410 415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455
<210> 18
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Light chain 1
<400> 18
Ala Ile Gln Leu 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 Ile Ser Ser Ala
20 25 30
Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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> 19

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain 2

<400> 19

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn 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 Arg 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 Arg 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> 20

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain 2

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu 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 Ala Asn Ser Phe Pro Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu 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