(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년03월27일
(11) 등록번호 10-2652347
(24) 등록일자 2024년03월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/574 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/57488 (2013.01)
G01N 33/57419 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-7024277
(22) 출원일자(국제) 2017년01월24일
심사청구일자 2022년01월19일
(85) 번역문제출일자 2018년08월23일
(65) 공개번호 10-2018-0103152
(43) 공개일자 2018년09월18일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2017/051363
(87) 국제공개번호 WO 2017/129537
국제공개일자 2017년08월03일
(30) 우선권주장
16305065.1 2016년01월25일
유럽특허청(EPO)(EP)
(56) 선행기술조사문헌
US06749853 B1
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 10 항

(73) 특허권자
사노피
프랑스 75017 파리 아브뉘 드 라 그랑 아르메 46
(72) 발명자
쉬롱-블론델, 마리엘
프랑스 75008 파리 뤼 라 보에티에 54 페이턴트 디파트먼트 사노피
드레이만, 제니퍼
프랑스 75008 파리 뤼 라 보에티에 54 페이턴트 디파트먼트 사노피
파카르, 캐롤라인
프랑스 75008 파리 뤼 라 보에티에 54 페이턴트 디파트먼트 사노피
(74) 대리인
양영준, 임근실

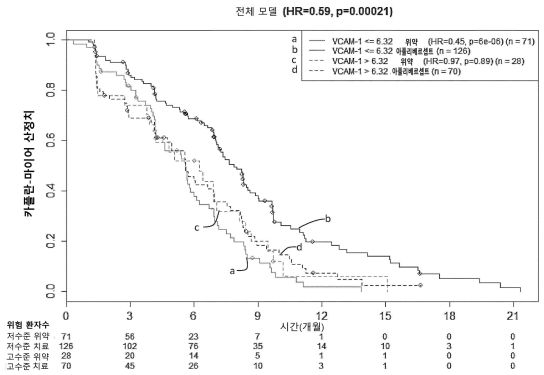
심사관 : 이수진

(54) 발명의 명칭 **혈장 바이오마커 수준의 측정에 의해 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자의 아플리베르셉트로의 치료 결과를 예측하는 방법**

(57) 요 약

본 발명은 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자를 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트로 치료한 결과를 예측하기 위한 바이오마커로서의 VCAM-1, ICAM-1 및/또는 PIGF의 용도에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
G01N 2333/475 (2013.01)
G01N 2333/49 (2013.01)
G01N 2333/70525 (2013.01)
G01N 2333/70542 (2013.01)
G01N 2800/52 (2021.08)

(56) 선행기술조사문헌
WO2016008975 A1
Diether Lambrechts et al, British Journal of Cancer (2015.09.), vol 113, no 7, pp 1027-1034.
J Baar et al, Clinical Cancer Research (2009.05.), vol 15, no 10, pp 3583-3590.
Markus Wehland et al, International Journal of Molecular Sciences 2012 MDPI AG CHE (2013.01.), vol 14, no 5, pp 9338-9364.
J F Groot et al, Clinical Cancer Research (2011.06.), vol 17, no 14, pp 4872-4881.
M Chiron et al, Molecular Cancer Therapeutics (2014.05.), vol 13, no 6, pp 1636-1644.
Claus Zehetner et al, Investigative Opthalmology & Visual Science (2015.05.), vol 56, no 5, pp 3279-3286, XP55367860.
G J Byrne et al, The international Journal of Biological Markers (2000.), vol 15, no 4, pp 334-339.

명 세 서

청구범위

청구항 1

결장암, 결장직장암 또는 직장암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자의 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트로의 치료 결과를 예측하기 위해, 바이오마커로서 PlGF를 사용하는 방법.

청구항 2

혈액, 혈청 및 혈장으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 환자의 생물학적 시료를 적어도 하나의 검정법으로 처리하여 베이스라인에서 PlGF의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 결장암, 결장직장암 또는 직장암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자가 상기 암에 대한 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 치료법에 대한 후보인지 결정하는 생체외(*ex vivo*) 방법으로서, 생물학적 시료의 PlGF 수준이 PlGF의 참조 발현 수준에 비해 낮은 경우, 환자는 결장암, 결장직장암 또는 직장암 치료법에 대한 후보인 것으로 확인되는 것인 생체외 방법.

청구항 3

혈액, 혈청 및 혈장으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 환자의 생물학적 시료를 적어도 하나의 검정법으로 처리하여 베이스라인에서 PlGF의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 결장암, 결장직장암 또는 직장암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자가 상기 암에 대한 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 치료법에 대한 후보인지 결정하는 생체외 방법으로서, 생물학적 시료의 PlGF 수준이 PlGF의 참조 발현 수준에 비해 높은 경우, 환자는 결장암, 결장직장암 또는 직장암 치료법에 대한 후보가 아닌 것으로 확인되는 것인 생체외 방법.

청구항 4

아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트의 치료적 유효량을 포함하는, 결장암, 결장직장암 또는 직장암 환자를 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트로 치료하기 위한 약학적 조성물로서, 혈액, 혈청 및 혈장으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 환자의 생물학적 시료에서 PlGF의 수준이 PlGF의 참조 발현 수준보다 낮은 것인 약학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, PlGF의 참조 발현 수준이 12 pg/㎖ 내지 19 pg/㎖인 약학적 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, PlGF의 참조 발현 수준이 17 pg/㎖인 약학적 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서, 결장직장암이 전이성 결장직장암인 약학적 조성물.

청구항 8

제4항에 있어서, 결정되는 PlGF 수준이 순환 수준(circulating level)인 약학적 조성물.

청구항 9

제4항에 있어서, 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트, 폴린산, 5-플루오로우라실(5-FU) 및 이리노세탄(irinocetan)의 치료적 유효량이 상기 환자에게 투여되는 것인 약학적 조성물.

청구항 10

아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트를 포함하는, 결장암, 결장직장암 또는 직장암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자를 치료하기 위한 약학적 조성물로서, 환자는 혈액, 혈청 및 혈장으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 생물학적 시료에서 PlGF의 수준이 PlGF의 참조 발현 수준에 비해 더 낮은 것으로 확인된 것인 약학적 조성

물.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자의 아플리베르셉트(aflibercept) 또는 지브-아플리베르셉트(ziv-aflibercept)로의 치료 결과를 예측하기 위한 바이오마커로서의 VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] VEGFR1R2-Fc.DELTA.C1 Flt1D2.Flk1D3.Fc.DELTA.C1 또는 AVE0005로도 지칭되는 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트는 동종 이량체 단백질이며, 각각의 이량체는 2개의 동일한 단량체를 포함하며, 이들은 각각 IgG1의 Fc 도메인에 융합된 VEGFR2 수용체의 D3 Ig 도메인에 융합된 VEGFR1 수용체의 D2 Ig 도메인에 융합된 VEGFR1의 신호 서열을 포함하는 융합 단백질이다.

[0003] 단백질 사슬은 탄수화물 구조에 기여하는 N-아세틸-글루코사민, 푸코스, 갈락토스, 만노스 및 시알산으로 글리코실화된다. N-연결 올리고당류는 주로 0개, 1개 또는 2개의 말단 시알산을 갖는 바이안테너리(bi-antennary) 구조로 이루어진다. 단량체는 아미노산 서열 SEQ ID N° 1을 가진다.

[0004] 미국 식품 의약품국(FDA)은 이미 아플리베르셉트를 신생혈관(웨트(wet)) 연령-관련 황반 변성(AMD) 환자의 치료를 위해 상표명 EYLEA® 하에 승인하였다. 특히, EYLEA®는 유리체내 주사를 위해 생성, 가공 및 제형화된 아플

리베르셉트의 상표명이다.

[0005] 암 적응증에 대한 아플리베르셉트(ZALTRAP®)의 등록 시 및 AMD 치료에 있어서 아플리베르셉트의 승인된 용도의 측면에서, FDA는, 이러한 화합물이 암 치료에 사용되는 경우 상이한 명칭(지브-아플리베르셉트)이 주어져야 한다고 요청하였다. 따라서, 지브-아플리베르셉트는 정맥내 주입을 통한 주사를 위해 생성, 가공 및 제형화된 아플리베르셉트를 포함하는 약학적 조성물을 지정하기 위해, FDA에 의해 승인된 미국에서 채택된 명칭(United States Adopted Name; USAN)이다. 지브-아플리베르셉트는 전이성 결장직장암(mCRC)의 치료를 위해 상표명 ZALTRAP® 하에서의 판매를 위해 FDA로부터 승인을 받았다.

[0006] 유럽 의약청(EMA)도 ZALTRAP®을 승인하였으나, 화합물에 대해 별개의 명칭을 요청하지는 않았다. 따라서, 유럽 연합에서는 적응증에 상관없이 명칭 "아플리베르셉트"가 사용된다.

[0007] ZALTRAP® 및 EYLEA®는 약간 상이한 공정들에 의해 수득된다. 이들은 둘 다 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트를 포함하지만, 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트의 응집물(aggregate)의 비율이 ZALTRAP® 및 EYLEA®에서 약간 상이하다.

[0008] ZALTRAP® 승인은 VELOUR 시험 - 다기관, 무작위화, 위약-대조 III상 시험으로부터 수득된 데이터에 기반하였으며, 이는 옥살리플라틴(oxaliplatin)-함유 요법으로 이미 치료를 받은 mCRC 환자에 대해 FOLFIRI 요법과 조합된, 아플리베르셉트 *대(versus)* 플라시보의 효능을 비교하였다.

[0009] 아플리베르셉트에 의한 암 치료의 효능 및 안전성에도 불구하고, 어떤 환자가 이러한 치료로부터 보다 많은 이득을 얻게 될지 더 잘 확인하려는 목표가 남아 있다. 실제로 아플리베르셉트로 이익을 얻을 전이성 결장직장암(mCRC) 환자를 확인하는 능력은 이 약물의 임상적 유용성을 추가로 개선할 것이다.

[0010] 현재까지, 아플리베르셉트에 대한 치료 결과와 연관되는 검증된 예측 혈청 또는 혈장 바이오마커는 확인되지 않았다.

[0011] 임상 시험에 관여된 환자로부터 유래되는 종양 및 혈장 시료의 프로필 분석 및 이의 게놈/프로테옴 및 임상 데이터의 후속 분석은 예측 바이오마커의 발견 및 잠재적 검증을 허용할 수 있다.

[0012] 현재 베이스라인에서 높은 수준의 VCAM-1, ICAM-1 및/또는 PlGF이 더 짧은 생존 시간과 연관되는 것으로 발견되었다.

[0013] CD106으로도 알려져 있는 혈관 세포 접착 분자-1(VCAM-1)은 서열 SEQ ID N° 1(NCBI 참조 서열: NP_001069.1)을 갖는다. 용어 "VCAM-1"은 그 상동체 및 이소형 그리고 이의 변이체뿐만 아니라 서열 단편을 포괄하며, 단 변이체 단백질(이소형 포함), 상동성 단백질 및/또는 단편은 하나 이상의 VCAM-1 특이적 항체에 의해 인식된다.

[0014] CD54로도 알려져 있는 세포내 접착 분자 1(ICAM-1)은 서열 SEQ ID N° 2(NCBI 참조 서열: NP_000192.2)를 갖는다. 용어 "ICAM-1"은 그 상동체 및 이소형 그리고 이의 변이체뿐만 아니라 서열 단편을 포괄하며, 단 변이체 단백질(이소형 포함), 상동성 단백질 및/또는 단편은 하나 이상의 ICAM-1 특이적 항체에 의해 인식된다.

[0015] "태반 성장 인자" 또는 "PlGF"는 각각 서열 SEQ ID N° 3(NCBI 참조 서열: NP_002623.2) 및 SEQ ID N° 4(NCBI 참조 서열: NP_001193941.1)을 갖는 2개의 이소형 PlGF1 및 PlGF2를 포함한다. 용어 "PlGF"는 PlGF1 및 PlGF2, 이의 상동체 및 이소형 그리고 이의 변이체뿐만 아니라 서열 단편을 포괄하며, 단 변이체 단백질(이소형 포함), 상동성 단백질 및/또는 단편은 하나 이상의 PlGF 특이적 항체에 의해 인식된다.

[0016] ICAM-1과 환자 결과의 연관성은 환자가 베바시주맙으로 치료받는 임상 시험에서 평가되었다.

[0017] ICAM-1과 환자 결과의 연관성은 폐암 환자가 베바시주맙, 시스플라틴 및 에토포시드로 치료받는 시험에서 확인되었다(Horn et al, J Clin Oncol 2009; 27:6006-6011). 저자들은 "높은 ICAM 수준을 가진 환자가 낮은 수준을 가진 환자에 비해 개선된 OS를 향한 유의미하지 않은 경향성을 가지는" 반면, 또 다른 연구(Dowlati et al, 2008, Clin Cancer Res 14(5), 1407)에서는 "낮은 베이스라인 ICAM을 갖는 환자가 높은 ICAM을 갖는 환자에 비해 더 높은 반응을 가짐"을 확인하였다.

[0018] 그러나 ICAM-1과 환자 결과의 연관성은 베바시주맙, 카페시타빈 및 옥살리플라틴으로 치료받는 결장직장암 환자에서는 확인되지 않았다(Liu et al; Cancer Medicine 2013; 2(2): 234-242).

[0019] 이들 논문은 동일한 생물학적 제제, 즉 베바시주맙을 이용한 다양한 바이오마커 연구 간 예측불가능성 수준을 나타낸다.

[0020] 또한 베바시주맙은 항-VEGF-A 항체이다. 아플리베르셉트는 항체가 아닌 키메라 단백질이다. 이는 인간 IgG1 Fc 부분에 융합된 인간 VEGF 수용체 1 및 2의 세포외 도메인 부분으로 이루어진다. 아플리베르셉트는 VEGF-A뿐만 아니라 VEGF-B 및 태반 성장 인자(PlGF)에 결합한다.

[0021] 따라서 베바시주맙 및 아플리베르셉트는 매우 상이한 구조 및 기능을 가지며, 당업자는 베바시주맙으로 수득된 결과를 아플리베르셉트로 직접 옮기지 않을 것이다.

[0022] VCAM-1과 환자 결과의 연관성은 상기 언급된 두 임상 시험에서 확인되었다(Liu et al; Cancer Medicine 2013; 2(2): 234-242 및 Horn et al, J Clin Oncol 2009; 27:6006-6011). 그러나 이들 두 연구에서는 효과가 예측성인지 예후성인지를 알려주는 위약군이 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0023] 본 발명은 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자의 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트로의 치료 결과를 예측하기 위한 바이오마커로서의 VCAM-1, ICAM-1 및/또는 PlGF의 용도에 관한 것이다.

[0024] 일 양태에서, 본 발명은, 환자의 생물학적 시료를 적어도 하나의 검정법으로 처리하여 베이스라인에서 VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자가 상기 암에 대한 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 치료법에 대한 후보인지 결정하는 방법을 제공하며, 여기서, 생물학적 시료의 바이오마커 수준이 바이오마커의 참조 발현 수준에 비해 낮은 경우, 환자는 암 치료법에 대한 후보인 것으로 확인된다.

[0025] 또 다른 양태에서, 본 발명은, 환자의 생물학적 시료를 적어도 하나의 검정법으로 처리하여 베이스라인에서 VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 수준을 측정하는 단계를 포함하는, 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자가 상기 암에 대한 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 치료법에 대한 후보인지 결정하는 방법을 제공하며, 여기서, 생물학적 시료의 바이오마커 수준이 바이오마커의 참조 발현 수준 또는 역치와 비교하여 높은 경우, 환자는 암 치료법에 대한 후보가 아닌 것으로 확인된다. 바이오마커의 역치 또는 참조 발현 수준은 감수성 및 비-감수성 집단을 정의할 수 있도록 한다.

[0026] 일 구현예에서, VCAM-1의 참조 발현 수준은 약 406 ng/㎖ 내지 약 577 ng/㎖에 포함된다. 또 다른 구현예에서, VCAM-1의 참조 발현 수준은 약 553 ng/㎖이다.

[0027] 또 다른 일 구현예에서, ICAM-1의 참조 발현 수준은 약 92 ng/㎖ 내지 약 145 ng/㎖에 포함된다. 또 다른 구현예에서, ICAM-1의 참조 발현 수준은 약 144 ng/㎖이다.

[0028] 또 다른 구현예에서, PlGF의 참조 발현 수준은 약 12 ng/㎖ 내지 약 19 ng/㎖에 포함된다. 또 다른 구현예에서, PlGF의 참조 발현 수준은 약 17 ng/㎖이다.

[0029] 본 발명은 또한 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 암 환자를 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트로 치료하는 방법에 관한 것으로, 여기서, 환자의 생물학적 시료에서 VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 수준은 바이오마커의 참조 발현 수준보다 낮다.

[0030] 또 다른 양태에서, 본 발명은 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트의 치료적 유효량을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 암 환자의 무진행 생존(PFS) 및/또는 전체 생존(OS)을 개선하는 방법에 관한 것으로, 여기서, 환자의 생물학적 시료에서 VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 수준은 바이오마커의 참조 발현 수준보다 낮다.

[0031] 상기 기술된 방법들 중 하나의 일 구현예에서, 생물학적 시료는 혈액, 혈청 및 혈장으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.

[0032] 상기 기술된 방법들 중 하나의 일 구현예에서, 암은 결장암, 결장직장암 또는 직장암이다.

[0033] 하나의 추가의 구현예에서, 결장직장암 중 하나는 전이성 결장직장암이다.

[0034] 본 발명의 또 다른 구현예에서, 대상체는 아플리베르셉트를 이용한 치료를 받으며, 추가로 옥살리플라틴, 5-플루오로우라실(5-FU) 및 폴린산(folinic acid)을 이용한 화학요법 치료(즉, FOLFOX 치료), 폴린산, 5-플루오로우라실 및 이리노세탄(irinocetan)을 이용한 치료(즉, FOLFIRI 치료), 또는 5-플루오로우라실 및 폴린산을 이용한 치료(즉, FUFOL 치료 또는 LV5FU2 치료)를 받는다.

[0035] 화학요법 치료는 적어도 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개의 작용제 또는 최대 10개, 9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개의 작용제를 조합할 수 있으며, 예컨대, 옥살리플라틴, 5-플루오로우라실(5-FU) 및 폴린산의 조합(즉, 하기 실시예에 기술된 바와 같은 FOLFOX 치료 또는 변형된 FOLFOX6 치료), 폴린산, 5-플루오로우라실 및 이리노세탄의 조합(즉, FOLFIRI 치료), 또는 5-플루오로우라실과 폴린산의 조합(즉, FUFOL 치료 또는 LV5FU2 치료)일 수 있다.

[0036] 이러한 측면에서, 출원 WO2012146610은 FOLFIRI와 조합된 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트에 의한 mCRC의 치료 방법에 관한 것이다. 이러한 출원의 내용은 참조로 포함된다.

[0037] 상기 기술된 방법들 중 하나의 일 구현예에서, 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트, 옥살리플라틴, 5-플루오로우라실(5-FU) 및 폴린산의 치료적 유효량이 상기 환자에게 투여된다.

[0038] 상기 기술된 방법들 중 하나의 일 구현예에서, 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트, 폴린산, 5-플루오로우라실(5-FU) 및 이리노세탄의 치료적 유효량이 상기 환자에게 투여된다.

[0039] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 약 200 ㎎/㎡ 내지 약 600 ㎎/㎡로 포함된 투여량의 폴린산, 약 2000 ㎎/㎡ 내지 약 4000 ㎎/㎡로 포함된 투여량의 5-플루오로우라실(5-FU), 약 100 ㎎/㎡ 내지 약 300 ㎎/㎡로 포함된 투여량의 이리노세탄 및 약 1 ㎎/㎏ 내지 약 10 ㎎/㎏로 포함된 투여량의 아플리베르셉트가 환자에게 투여된다.

[0040] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 약 400 ㎎/㎡의 투여량의 폴린산, 약 2800 ㎎/㎡의 투여량의 5-플루오로우라실(5-FU), 약 180 ㎎/㎡의 투여량의 이리노세탄 및 약 4 ㎎/㎏의 투여량의 아플리베르셉트가 환자에게 투여된다.

[0041] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 폴린산은 약 400 ㎎/㎡의 투여량으로 정맥내로 투여되며, 5-플루오로우라실(5-FU)은 약 2800 ㎎/㎡의 투여량으로 정맥내로 투여되며, 이리노세탄은 약 180 ㎎/㎡의 투여량으로 정맥내로 투여되고, 아플리베르셉트는 약 4 ㎎/㎏의 투여량으로 정맥내로 투여되고, 여기서, 조합은 2주마다 투여된다.

[0042] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 폴린산, 5-플루오로우라실(5-FU), 이리노세탄 및 아플리베르셉트는 9주 내지 18주에 포함되는 기간 동안 2주마다 정맥내로 투여된다.

[0043] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 폴린산은 아플리베르셉트의 투여 직후 정맥내로 투여된다. 폴린산은 또한, 아플리베르셉트의 투여 직후 약 2시간의 기간 동안 정맥내로 투여될 수 있다.

[0044] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 이리노세탄은 아플리베르셉트의 투여 직후 정맥내로 투여된다. 이리노세탄은 또한, 아플리베르셉트의 투여 직후 약 90분의 기간 동안 정맥내로 투여될 수 있다.

[0045] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 5-플루오로우라실(5-FU)은 아플리베르셉트의 투여 직후 투여된다.

[0046] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 제1 양의 5-플루오로우라실(5-FU)이 아플리베르셉트의 투여 직후 정맥내로 투여되고, 제2 양의 5-FU가 제1 양 이후에 연속 주입으로 정맥내로 투여된다.

[0047] 상기 기술된 방법들 중 하나의 추가의 구현예에서, 약 400 ㎎/㎡의 5-플루오로우라실(5-FU)이 아플리베르셉트 투여 후 2분 내지 4분의 기간 동안 정맥내로 투여되고, 여기서, 2400 ㎎/㎡의 5-FU는 400 ㎎/㎡의 투여 후 약 46시간 동안 연속 주입으로 정맥내로 투여된다.

[0048] 일 구현예에서, 상기 환자는 이미, 옥살리플라틴 또는 베바시주맙에 기반하는 치료법으로 치료를 받은 적이 있다.

[0049] 또 다른 구현예에서, 상기 환자에서 화학치료법, 방사선치료법 또는 수술이 실패하였다.

[0050] 본 발명은 또한 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자의 치료에서 사용하기 위한 아플리베르셉트, 또는 지브-아플리베르셉트에 관한 것으로, 여기서, 환자는 바이오마커의 참조 발현 수준에 비해 생물학적 시료에서 VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 더 낮은 수준을 갖는 것으로 확인되었다.

[0051] 나아가, 본 발명은, 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자가 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 치료법에 대한 후보인지 예측하기 위한 키트에 관한 것이며, 이러한 키트는 다음을 포함한다:

[0052] a) VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 수준을 측정하는 수단; 및

[0053] b) 선택적으로, 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자가 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 치료법에 대한 후보인지 예측하는 데 있어서 상기 키트의 사용 지침을 제공하는 라벨.

[0054] 나아가, 본 발명의 또 다른 양태는 다음을 포함하는 제조 물품에 관한 것이다:

[0055] a) 포장 재료;

[0056] b) VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 수준을 측정하는 수단; 및

[0057] c) 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 환자가 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 치료법에 대한 후보인지 예측하는 데 있어서 상기 키트의 사용 지침을 제공하는 라벨.

[0058] 본 발명의 상기 방법 및 용도는 예를 들어, 시험관내 또는 생체외 방법 및 용도일 수 있다.

[0059] VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF 단백질의 발현 수준을 측정하는 수단은 당업계에 잘 알려져 있으며, ELISA 검정법과 같은 면역검정법을 포함한다. 예를 들어, VCAM-1을 측정하는 수단은 VCAM-1에 특이적으로 결합하는 항체를 포함한다.

[0060] VCAM-1 단백질의 수준은 예를 들어, ELISA 검정법과 같은 면역학적 검출 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 이러한 방법은 VCAM-1 단백질에 결합하는 항체, 예를 들어 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체, 항체 변이체 또는 단편, 예컨대 단일 사슬 항체, 다이아바디(diabody), 미니바디(minibody), 단일 사슬 Fv 단편(sc(Fv)), Sc(Fv)2 항체, Fab 단편 또는 F(ab')2 단편, 또는 단일 도메인 항체를 수반한다. 이러한 항체는 당업계에 잘 알려져 있으며, 상업적으로 입수 가능하다. 이들 항체는 특히, 동물(예, 토끼, 래트 또는 마우스)을 VCAM-1 단백질로 면역화함으로써도 수득될 수 있다. 항체를 사용하여, 웨스턴 블로팅, 면역조직화학/면역형광(즉, 고정된 세포 또는 조직 상에서의 단백질 검출), 방사성면역검정법, 예컨대 RIA(방사성-연관 면역검정법), ELISA(효소 연관 면역흡착 검정법), "샌드위치" 면역검정법, 면역침전 검정법, 면역확산 검정법, 응집 검정법, 보체-고정 검정법, 면역방사측정(immunoradiometric) 검정법, 형광 면역검정법, 예를 들어 FIA(형광-연관 면역검정법), 화학발광 면역검정법, ECLIA(전기화학발광 면역검정법) 및 단백질 A 면역검정법과 같은 기술들을 사용하는 경쟁적 검정법 시스템 및 비-경쟁적 검정법 시스템을 포함한 다양한 면역학적 검정법들에서 단백질 발현을 결정할 수 있다. 이러한 검정법들은 일상적이며, 당업자에게 잘 알려져 있다(Ausubel *et al* (1994) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., New York).

[0061] VCAM-1의 단백질 발현은 질량 분광 검정법(LC-MS 또는 LC-MS/MS)과 같은 단백질체학(proteomic) 방법에 의해 결정될 수 있다. 정성적 및 정량적 질량 분광측정 기법은 당분야에 공지되어 있고 사용되고 있다. 이 목적에 대해, 마커 단백질에 특이적인 표적 펩타이드는 안정한 동위원소로 표지된 합성 펩타이드로 구축된 교정 곡선에 기반하여 선택되고 정량화된다. 동위원소로 표지된 표적 펩타이드의 한정된 양으로 스파이킹된(spiked) 효소적 분해물이 질량 분광분석법과 커플링된 액체 크로마토그래피에 의해 분석된다. 표지된 표적 펩타이드와 비-표지된 표적 펩타이드 사이의 비율을 측정하여, 표적 펩타이드 농도를 평가하고, 이에 따라 단백질 마커 농도를 평가한다.

[0062] VCAM-1의 발현 수준을 측정하는 수단은 또한, 시약, 예컨대 반응 완충액 및/또는 세척 완충액을 포함할 수 있다. 이러한 수단은 예를 들어, 바이얼 또는 마이크로타이터 플레이트에 존재할 수 있거나, 프라이머 및 프로브의 경우에서와 같이 마이크로어레이와 같은 고체 지지체에 부착될 수 있다.

[0063] ICAM-1 및 PlGF를 검출하기 위한 유사한 수단은 당업자의 재량에 따른다.

[0064] 일 구현예에서, VCAM-1, ICAM-1 및 PlGF 단백질은 비드-기반 멀티플렉스 검정, Luminex™ 기술로 측정될 수 있다.

[0065] 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트는 치료받을 환자에게 유해하지 않은 제형으로 제공된다.

[0066] 일 구현예에서, 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트는, 최종 pH로 조정된, 수크로스 및 폴리소르베이트 20(안정화제), 소듐 클로라이드, 시트레이트 완충액 및 소듐 포스페이트 완충액을 포함하는 *제형으로 제공된다.*

[0067] 또 다른 구현예에서, 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트는 2개의 완제 의약품 제시물(drug product presentation)로 공급된다:

[0068] - 100 ㎎ 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 / 4.0 ㎖(공칭 농도(nominal concentration))의 제시물.

[0069] - 200 ㎎ 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트 / 8.0 ㎖(공칭 농도)의 제2 제시물.

[0070] 2개의 제시물 모두는 25 ㎎/㎖의 아플리베르셉트 또는 지브-아플리베르셉트로 동일한 벌크 멸균 용액으로부터 제조된다.

[0071] 환자에의 주입 전, 농축액을 0.9% 소듐 클로라이드 용액 또는 5% 덱스트로스로 희석시킨다.

[0072] 상기 인용된 방법 또는 용도에 사용되는 항암제는 치료받을 환자에게 유해하지 않은 약학적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 희석제 중에 제공된다.

[0073] 본 발명의 조성물에서 사용될 수 있는 약학적으로 허용 가능한 담체 및 부형제로는, 이온 교환제, 알루미나, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 자가-유화 약물 전달 시스템(SEDDS), 예컨대 d-a-토코페롤 폴리에틸렌글리콜 1000 숙시네이트, 약학적 투여 형태에서 사용되는 계면활성제, 예컨대 Tween 또는 다른 유사한 중합체성 전달 매트릭스, 혈청 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 완충액 성분, 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산, 포타슘 소르베이트, 포화 식물성 지방산, 물, 염 또는 전해질의 부분 글리세라이드 혼합물, 예컨대 프로타민 설페이트, 다이소듐 하이드로겐 포스페이트, 포타슘 하이드로겐 포스페이트, 소듐 클로라이드, 아연 염, 콜로이드성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로스-기반 성분, 폴리에틸렌 글리콜, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 울 지방 등이 포함되나, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0074] 당업자가 이해하는 바와 같이, 조성물은 의도되는 투여 경로와 상용성이 되도록 적합하게 제형화된다. 적합한 투여 경로의 예로는, 예를 들어 근육내 경로, 피하 경로, 정맥내 경로, 복강내 경로 또는 국소 종양내 주사를 포함하는 비경구 경로가 있다. 경구 경로 또한 사용될 수 있으며, 단, 조성물은 경구 투여에 적합한 형태이며, 활성 성분을 위 효소 및 장 효소로부터 보호할 수 있다.

[0075] 용어 "유효량"은 포유류에서 질환 또는 장애를 치료하기 효과적인 단독의 또는 다른 약물 또는 치료 요법과 조합된 약물의 양을 지칭한다. 암의 경우, 약물의 치료적 유효량은 암 세포의 수를 감소시키고; 종양 크기를 감소시키고; 말초 기관 내로의 암 세포 침윤을 억제하고(즉, 어느 정도까지 늦추고 바람직하게는 중지시키고); 종양 전이를 억제하고(즉, 어느 정도까지 늦추고 바람직하게는 중지시키고); 종양 성장을 어느 정도까지 억제하고; 및/또는 장애와 연관된 하나 이상의 증상을 어느 정도까지 완화시킬 수 있다. 약물이 암 세포의 성장을 예방하고/하거나 사멸시킬 수 있는 정도까지, 이는 세포정지성 및/또는 세포독성일 수 있다. 암 치료법에 있어서, 생체내 유효성은, 예를 들어 생존 기간, 무진행 생존(PFS) 기간, 반응률(RR), 반응 기간, 및/또는 삶의 질을 평가함으로써 측정될 수 있다.

[0076] 용어 "치료법", "치료적", "치료" 및 "치료하는"은 본원에서, (1) 이러한 용어가 적용되는 질환 상태 또는 병태의 증상 진행, 심각화 또는 악화를 늦추거나 중지시키는 것; (2) 이러한 용어가 적용되는 질환 상태 또는 병태 증상을 경감시키거나 개량하는 것; 및/또는 (3) 이러한 용어가 적용되는 질환 상태 또는 병태를 역행시키거나 치유하는 것을 목적으로 하는 치료적 방법 또는 공정을 특성화하기 위해 사용된다.

[0077] 용어 "전체 생존(OS)"은 치료 동안 및 후에 환자가 생존하는 시간 길이를 지칭한다. 당업자가 이해할 바와 같이, 환자의 전체 생존은 환자가 또 다른 환자 하위군에 비해 통계적으로 유의미하게 더 긴 평균 생존 시간을 갖는 환자 하위군에 속하는 경우 개선되거나 증강된다.

[0078] 용어 "무진행 생존(PFS)"은 진료의 또는 연구자의 평가에 따라, 치료 동안 및 후에 환자의 질환이 악화되지 않는, 즉 진행하지 않는 동안의 시간 길이를 지칭한다. 당업자가 이해할 바와 같이, 환자의 무진행 생존은 환자가 유사한 상황의 환자 대조군의 평균(average 또는 mean) 무진행 생존 시간에 비해 질환이 진행하지 않는 더 긴 시간 길이를 갖는 환자 하위군에 속하는 경우 개선되거나 증강된다.

[0079] "대상체" 또는 "환자"는 인간, 또는 비-인간 포유류, 예컨대 원숭이, 개, 고양이, 기니피그, 햄스터, 토끼, 소, 말, 염소 및 양일 수 있다.

[0080] 본원에서 용어 "참조 수준"은 사전 결정된 값을 지칭한다. 당업자가 이해할 바와 같이, 참조 수준은, 예컨대 특이성 및/또는 감수성의 관점에서 요건에 부합하도록 사전 결정되고 설정된다. 이러한 요건은, 예컨대 규제처 별로 다를 수 있다. 예를 들어, 검정 감수성 또는 특이성은 각각 소정 한계, 예컨대 80%, 90% 또는 95%로 설정되어야 할 수 있다. 이러한 요건은 또한 양의 또는 음의 예측 값의 관점에서 정의될 수 있다. 그럼에도 불구하고, 본 발명에 주어진 교시에 기반하여, 항상 이러한 요건에 부합하는 참조 수준에 도달할 수 있을 것이다. 일 구현예에서, 참조 수준은 건강한 개인에서 결정된다. 일 구현예에서의 참조 값은 환자가 속하는 질환 단체에서 사전 결정되었다. 소정 구현예에서, 참조 수준은, 예컨대 연구되는 질환 단체에서 전체 분포값 25% 내지 75%의 임의의 백분율로 설정될 수 있다. 다른 구현예에서, 참조 수준은, 예컨대 연구되는 질환 단체에서 전체 분포값으로부터 결정되는 중앙값, 삼분위 또는 사분위로 설정될 수 있다. 일 구현예에서, 참조 수준은 연구되는 질환 단체에서 전체 분포값으로부터 결정되는 중앙값으로 설정된다.

도면의 간단한 설명

[0081] 도 1은 VCAM-1로 정의되는 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 PFS 종결점에 대한 카플란 마이어(Kaplan-Meier) 곡선을 나타낸다.

도 2는 VCAM-1로 정의되는 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 OS 종결점에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타낸다.

도 3은 ICAM-1로 정의되는 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 PFS 종결점에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타낸다.

도 4는 ICAM-1로 정의되는 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 OS 종결점에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타낸다.

도 5는 VCAM-1 및 ICAM-1로 정의되는 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 PFS 종결점에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타낸다.

도 6은 VCAM-1 및 ICAM-1로 정의되는 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 OS 종결점에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타낸다.

도 7은 PlGF로 정의되는 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 PFS 종결점에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0082] **실시예: AFLAME 연구에서 PFS에 대한 VCAM-1, ICAM-1 및/또는 PlGF의 예측 효과**

[0083] **연구 EFC11338(AFLAME)**

[0084] EFC11338은 옥살리플라틴 기반 요법의 실패 후 전이성 결장직장암(MCRC) 환자에서 이리노테칸/5-FU 조합(FOLFIRI)을 사용한 아플리베르셉트 대 위약의 다국가, 무작위화, 이중-맹검 연구로서 설계되었다.

[0085] **목적:**

[0086] 유효성 종결점(무진행 생존(PFS), 전체 생존(OS), 및 전체 반응률(ORR))에서 치료 반응에 대한 잠재적 예측 바이오마커를 확인하기 위함임.

[0087] 유효성 종결점(PFS, OS, 및 ORR)에 대한 잠재적 예후 바이오마커를 확인하기 위함임.

[0088] 바이오마커 및 다른 베이스라인 특징 간 잠재적 연관성을 확인하기 위함임.

[0089] 세로축 혈장 측정과 임상 종결점의 잠재적 연관성을 확인하기 위함임.

[0090] 비감독 방식으로 이의 분자 프로필에 기반하여 잠재적인 동종성 개인 군을 확인하고 임상 결과(PFS, OS 및 ORR)와의 연관성을 산정하기 위함임.

[0091] 예후/예측 바이오마커에 의해 확인되는 집단의 안전성 프로필을 평가하기 위함임.

[0092] 투여량 및 투여 일정

[0093] 환자에게 배정된 군에 따라 아플리베르셉트 또는 위약을 투여하였다. 그 직후, 환자는 이리노테칸, 5-FU 및 류코보린을 수여받았다(FOLFIRI 요법). 이 치료를 2주 마다 반복하였다.

[0094] 아플리베르셉트/위약

[0095] A군, 아플리베르셉트: 2주마다 제1일에 1시간에 걸쳐 4 mg/kg을 IV 투여하거나,

[0096] 또는

[0097] B군, 위약: 2주마다 제1일에 1시간에 걸쳐 4 mg/kg을 IV 투여하였다.

[0098] FOLFIRI 요법

[0099] 아플리베르셉트/위약 투여 직후, 모든 환자는 다음을 수여받았다:

[0100] - 동시에, Y-라인을 사용하여 백 내에, 500 ㎖ D5W 중 이리노테칸 180 mg/㎡을 90분에 걸쳐 IV 주입 및 dl 류코보린* 400 mg/㎡을 2시간에 걸쳐 IV 주입 후

[0101] - 5-FU 400 mg/㎡를 2 내지 4분에 걸쳐 IV 볼루스로 제공 후

[0102] - 500 ㎖ D5W 중 5-FU 2400 mg/㎡를 46시간에 걸쳐 연속 IV 주입(권장됨).

[0103] **치료 기간:**

[0104] 질환이 진행되거나, 허용 불가능한 독성이 나타나거나, 환자가 거부하기 전까지 환자를 치료하였다.

[0105] **관찰 기간:**

[0106] 사망 또는 OS에 대한 연구 컷-오프 날짜 중 빠른 날까지, 연구 치료 시 및 추적 기간 동안 환자를 관찰하였다. OS에 대한 컷-오프 날짜는 최종 환자 등록 후 1년이다.

[0107] **대상체의 수:**

[0108] 치료-의도(ITT) 집단: 332명(위약군에 109명 + 아플리베르셉트군에 223명)

[0109] 반응률에 대해 평가 가능한 집단: 295명(위약군에 96명 + 아플리베르셉트군에 199명)

[0110] 루미넥스(Luminex) 바이오마커 - 그룹 1 바이오마커에 대해 평가 가능: 295명(위약군에 99명 + 아플리베르셉트군에 196명)

[0111] 루미넥스(Luminex) 바이오마커 - 그룹 2 바이오마커에 대해 평가 가능: 108명(위약군에 37명 + 아플리베르셉트군에 71명)

[0112] ELISA 바이오마커에 대해 평가 가능: 329명(위약군에 107명 + 아플리베르셉트군에 222명)

[0113] 운영 오류로 인해, 아플리베르셉트군에 무작위화된 일부 환자가 1회 또는 수회 치료 사이클 동안 위약을 수여받았거나, 반대 상황이었다. 총 198명 환자가 적어도 1회 잘못 할당된 치료 키트를 수여받았다.

[0114] **평가 기준:**

[0115] 바이오마커:

[0116] 상이한 유형의 바이오마커 데이터를 AFLAME 연구에서의 현재 중개 연구 제안에서 조사하였다:

[0117] · Luminex® 기술로, 치료 동안 및 후에(사이클 1 주입 말기, 사이클 2 또는 3에서 아플리베르셉트/위약 48 h 후, 최종 아플리베르셉트/위약 투여 30일 후), 베이스라인에서 측정된 107개 혈장 혈관신생 인자 및 염증성 사이토카인

[0118] · ELISA(효소-연관 면역흡착 검정) 기술로, 베이스라인에서 혈장 시료 중 측정된 자유 VEGF-A 및 PlGF

[0119] **시료 제조 및 분석**

[0120] **혈장 바이오마커를** Luminex™ 기술(비드-기반 멀티플렉스 검정법) 또는 ELISA로 측정하였다.

[0121] Luminex™ 기술로 측정된 혈장 바이오마커

[0122] 혈장 혈관신생 인자 및 염증성 사이토카인을 사이클 1 전 베이스라인에서 측정하였다.

[0123] 모든 시료에서 측정된 30개 단백질을 그룹 1 바이오마커로서 정의하였고, 일부 시료에 대해서만 측정된 77개 단백질을 그룹 2 바이오마커로서 정의하였다. 그룹 1로부터의 바이오마커는 혈관신생/염증성 분자였으며, 아플리베르셉트 작용 기전(3개의 혈관신생 인자 및 이의 수용체를 억제함), 독립적인 아플리베르셉트 연구 또는 문헌/

전문가에서 확인된 핵심 후보 바이오마커에 기반하여 선택되었다.

[0124] **ELISA로 측정된 혈장 바이오마커**

[0125] Luminex™ 기술로 측정된 혈장 바이오마커에 부가하여, 베이스라인 혈장 시료의 자유 VEGF-A 및 자유 PlGF 농도를 ELISA 기술로 측정하였다.

[0126] **결과**

[0127] **단일변수 분석**

[0128] 바이오마커를 PFS에 대한 예측 및 예후 효과에 대해 평가하였다.

[0129] VCAM-1 및 ICAM-1은 수정된 Benjamini-Hochberg(BH) p-값이 0.2 이하로 잠재적으로 예측성인 것으로 확인되었다(295명 대상체).

[0130] 이어서 감수성 및 비-감수성 집단을 VCAM-1 및 ICAM-1을 사용하여 정의하였다(BH p-값 ≤ 0.2).

[0131] PlGF는 ELISA에 의해 잠재적으로 예측성인 것으로 확인되었다(조정되지 않은 p-값 = 0.075).

[0132] **VCAM-1을 이용한 감수성 및 비-감수성 집단의 확인**

[0133] 553 ng/㎖에 대응하는 역치 6.32가 각각 VCAM-1에 대해 낮은 값 및 VCAM-1에 대해 높은 값을 갖는 개인에 대응하는 감수성(197명의 개인) 및 비-감수성 집단(98명의 개인)을 정의하는 것으로 결정되었다.

[0134] 도 1 및 도 2는 감수성 및 비-감수성 집단에 있어서 PFS 및 OS 종결점에 대한 카플란-마이어 곡선을 나타내어, 높은 VCAM-1군 대비 낮은 VCAM-1군에 대해 더 우수한 치료 효과를 예시한다. OS에 있어서, 위약에 비해 더 우수한 치료 효과에 부가하여, 감수성 집단은 전반적으로 더 우수한 예후를 나타내었다(위약 및 아플리베르셉트군에서 낮은 VCAM-1군에 대해 증가된 OS).

[0135] 표 1은 치료군 별로 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 반응률을 나타낸다. 비-감수성 집단(10%)에 비해 감수성 집단(26%)에서 아플리베르셉트/folfiri 치료에 대해 반응률이 증가하였다.

표 1

[0136] PFS에 대해 VCAM-1로 정의된 비-감수성/감수성 집단에 대한 반응률 - 가공 전 데이터 - VCAM-1 및 RR 평가 가능한 집단

집단	위약/Folfiri	아플리베르셉트/Folfiri
감수성 VCAM-1 <= 6.32(N = 189)	3/68(4%)	31/121(26%)
비-감수성 VCAM-1 > 6.32(N = 94)	1/26(4%)	7/68(10%)
총	4/94(4%)	38/189(20%)

[0137] **ICAM-1을 이용한 감수성 및 비-감수성 집단의 확인**

[0138] 144 ng/㎖에 대응하는 역치 5.04가 각각 ICAM-1에 대해 낮은 값 및 ICAM-1에 대해 높은 값을 갖는 개인에 대응하는 감수성(205명의 개인) 및 비-감수성 집단(90명의 개인)을 정의하는 것으로 결정되었다.

[0139] 도 3 및 도 4는 감수성 및 비-감수성 집단에 있어서 PFS 및 OS 종결점에 대한 카플란-마이어 곡선을 나타내어, 높은 ICAM-1군 대비 낮은 ICAM-1군에 대해 더 우수한 치료 효과를 예시한다. OS에 있어서, 위약에 비해 더 우수한 치료 효과에 부가하여, 감수성 집단은 전반적으로 더 우수한 예후를 나타내었다(위약 및 아플리베르셉트군에서 낮은 ICAM-1군에 대해 증가된 OS).

[0140] 표 2는 치료군 별로 감수성 및 비-감수성 집단에 대한 반응률을 나타낸다. 비-감수성 집단(9%)에 비해 감수성 집단(25%)에서 아플리베르셉트/folfiri 치료에 대해 반응률이 증가하였다.

표 2

[0141] PFS에 대해 ICAM-1로 정의된 비-감수성/감수성 집단에 대한 반응률 - 가공 전 데이터 - ICAM-1 및 RR 평가 가능한 집단

집단	위약/Folfiri	아플리베르셉트/Folfiri
감수성 ICAM-1 <= 5.04(N = 197)	3/63(5%)	33/134(25%)
비-감수성 ICAM-1 > 5.04(N = 86)	1/31(3%)	5/55(9%)
총	4/94(4%)	38/189(20%)

[0142] **다중변수 분석**

[0143] 다중변수 예측 스코어 0.089 × ICAM-1 + 0.17 × VCAM-1은 역치로서 사분위 10% 내지 90%를 사용하여 양분되었다.

[0144] 감수성 집단은 위약에 비해 아플리베르셉트를 선호하며 PFS 및 OS에서 유의차를 나타내었고(PFS에 대해 HR=0.47 및 OS에 대해 HR=0.66), 이는 비-감수성 집단에 비해 증가되었다(PFS에 대해 HR=0.98 및 OS에 대해 HR=1.04).

[0145] 아플리베르셉트 및 위약 간 중앙값 PFS 차이는 감수성 집단에서 2.59개월이었으며, 비-감수성 집단(0.5개월)에 비해 더 크지만 중등도의 차이를 나타내었다.

[0146] 아플리베르셉트 및 위약 간 중앙값 OS 차이는 감수성 집단에서 3.75개월이었으며, 비-감수성 집단(-0.39개월)에 비해 더 큰 차이를 나타내었다. 비-감수성 집단에 있어서, 다른 집단에 비해 위약 및 치료군에 있어서 중앙값 OS가 감소하여(8.90개월 및 8.51개월), 예측 효과에 부가하여 다중변수 스코어의 잠재적인 예후 효과를 예시하였다.

[0147] 결론적으로, 감수성 집단은 중앙값의 관점에서 중등도 획득을 가지며, PFS 및 OS에 대해 비-감수성 집단에 비해 감소된 HR을 나타내었다.

[0148] 도 5 및 도 6은 감수성 및 비-감수성 집단에 있어서 PFS 및 OS 종결점에 대한 카플란-마이어 곡선을 나타내어, 높은 스코어군에 비해 낮은 스코어군의 더 우수한 치료 효과를 예시하였다. OS에 있어서, 위약에 비해 더 우수한 치료 효과에 부가하여, 감수성 집단은 전반적으로 더 우수한 예후를 나타내었다(위약 및 아플리베르셉트군에서 낮은 스코어군에 대해 증가된 OS).

[0149] ***PlGF*를 이용한 감수성 및 비-감수성 집단의 확인**

[0150] 17 ng/㎖에 대응하는 역치 2.82가 각각 PlGF에 대해 낮은 값 및 PlGF에 대해 높은 값을 갖는 개인에 대응하는 감수성(230명의 개인) 및 비-감수성 집단(99명의 개인)을 정의하는 것으로 결정되었다.

[0151] PlGF로 정의된 감수성 및 비-감수성 집단에 있어서 PFS 종결점에 대한 카플란-마이어 곡선을 나타내는 도 7은 감수성 및 비-감수성 집단에 있어서 PlGF 컷오프의 결정을 예시한다.

[0152] **결론**

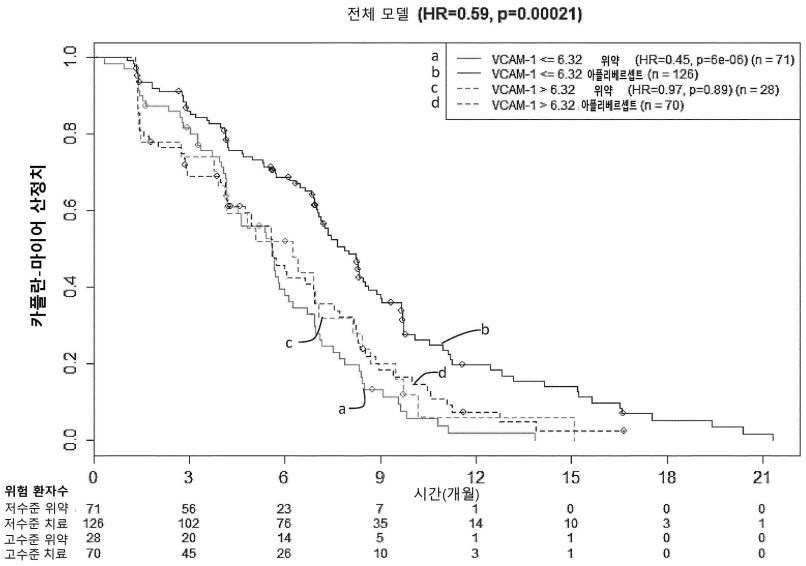
[0153] · VCAM-1 및 ICAM-1은 단일변수 프레임워크에서 PFS에 대해 잠재적으로 예측성인 바이오마커로서 확인되었다(VCAM-1에 대해 조정되지 않은 p-값은 0.00017이고 ICAM-1에 대해서는 0.0043임).

[0154] · 잠재적으로 예측성인 것으로 나타난 제3 바이오마커는 ELISA에 의해 측정되는 PlGF였다(조정되지 않은 p-값 = 0.075).

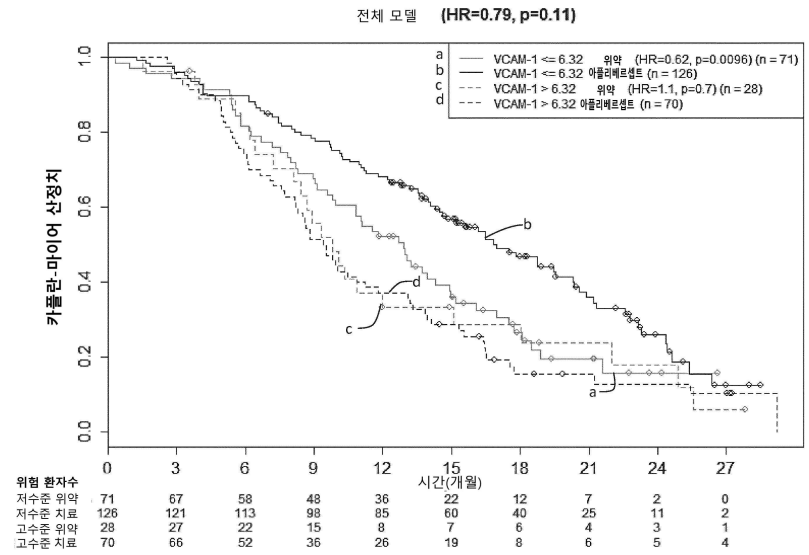
[0155] · VCAM-1 및 ICAM-1의 선형 조합은 PFS에 대해 잠재적으로 예측성으로서 확인되었다.

도면

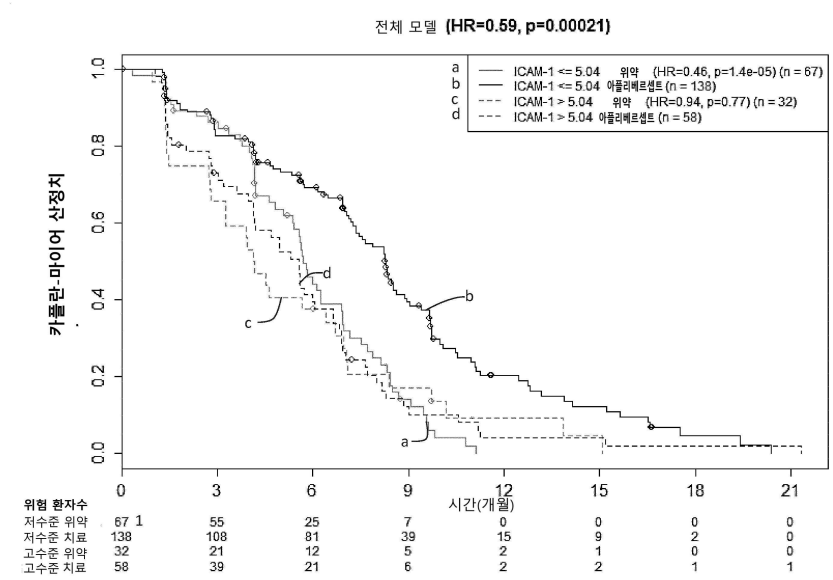
도면1


전체 모델 (HR=0.59, p=0.00021)
a VCAM-1 <= 6.32 위약 (HR=0.45, p=6e-06) (n = 71)
b VCAM-1 <= 6.32 아플리베르셉트 (n = 126)
c VCAM-1 > 6.32 위약 (HR=0.97, p=0.89) (n = 28)
d VCAM-1 > 6.32 아플리베르셉트 (n = 70)
카플란-마이어 산정치
시간(개월)
위험 환자수
저수준 위약 71 56 23 7 1 0 0 0
저수준 치료 126 102 76 35 14 10 3 1
고수준 위약 28 20 14 5 1 1 0 0
고수준 치료 70 45 26 10 3 1 0 0

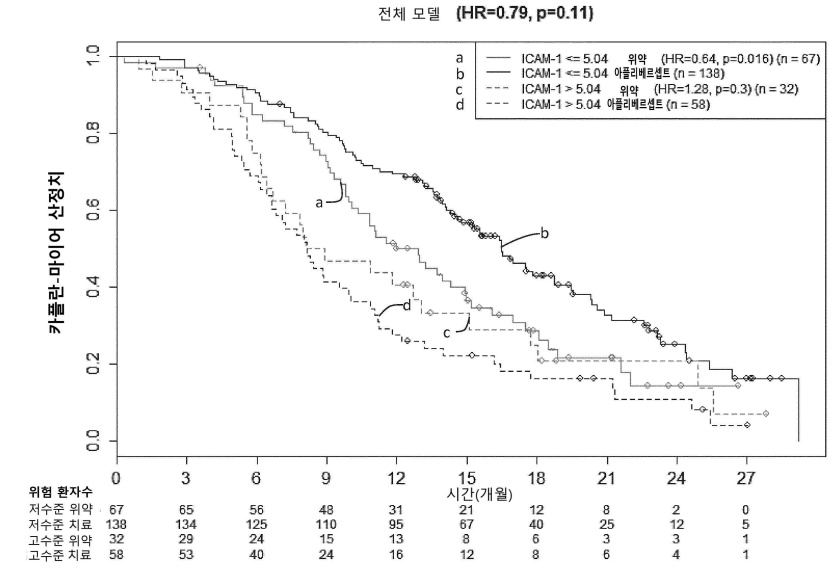
도면2


전체 모델 (HR=0.79, p=0.11)
a VCAM-1 <= 6.32 위약 (HR=0.62, p=0.0096) (n = 71)
b VCAM-1 <= 6.32 아플리베르셉트 (n = 126)
c VCAM-1 > 6.32 위약 (HR=1.1, p=0.7) (n = 28)
d VCAM-1 > 6.32 아플리베르셉트 (n = 70)
카플란-마이어 산정치
시간(개월)
위험 환자수
저수준 위약 71 67 58 48 36 22 12 7 2 0
저수준 치료 126 121 113 98 85 60 40 25 11 2
고수준 위약 28 27 22 15 8 7 6 4 3 1
고수준 치료 70 66 52 36 26 19 8 6 5 4

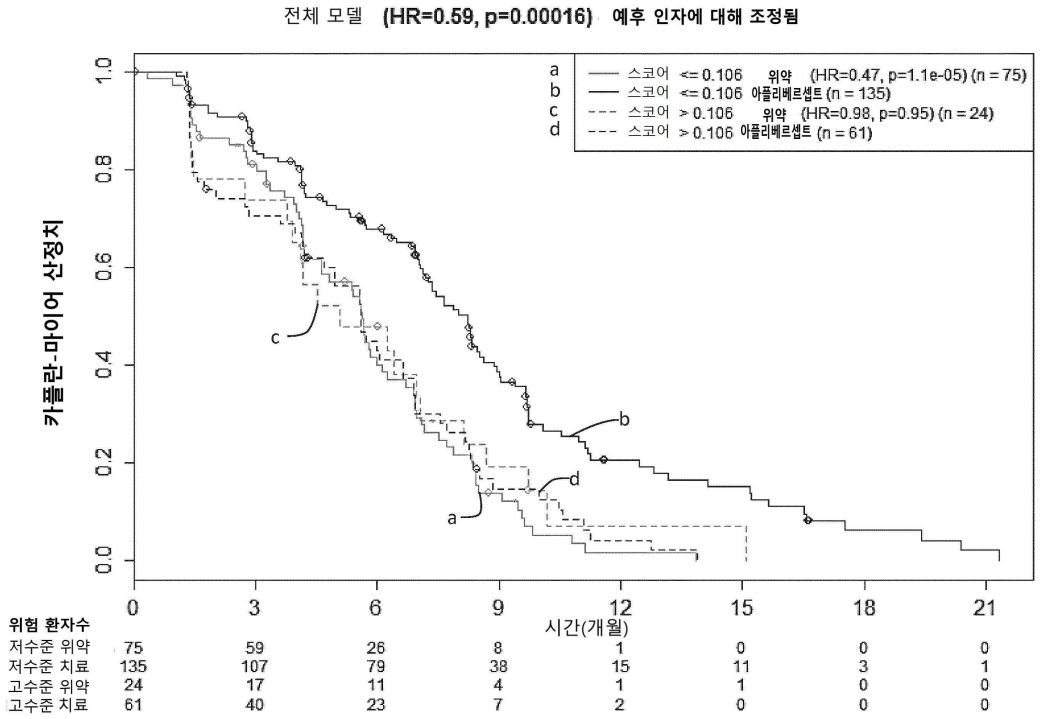
도면3


전체 모델 (HR=0.59, p=0.00021)
a ICAM-1 <= 5.04 위약 (HR=0.46, p=1.4e-05) (n = 67)
b ICAM-1 <= 5.04 아플리베르셉트 (n = 138)
c ICAM-1 > 5.04 위약 (HR=0.94, p=0.77) (n = 32)
d ICAM-1 > 5.04 아플리베르셉트 (n = 58)
카플란-마이어 산정치
시간(개월)
위험 환자수
저수준 위약 67 1 55 25 7 0 0 0 0
저수준 치료 138 108 81 39 15 9 2 0
고수준 위약 32 21 12 5 2 1 0 0
고수준 치료 58 39 21 6 2 2 1 1

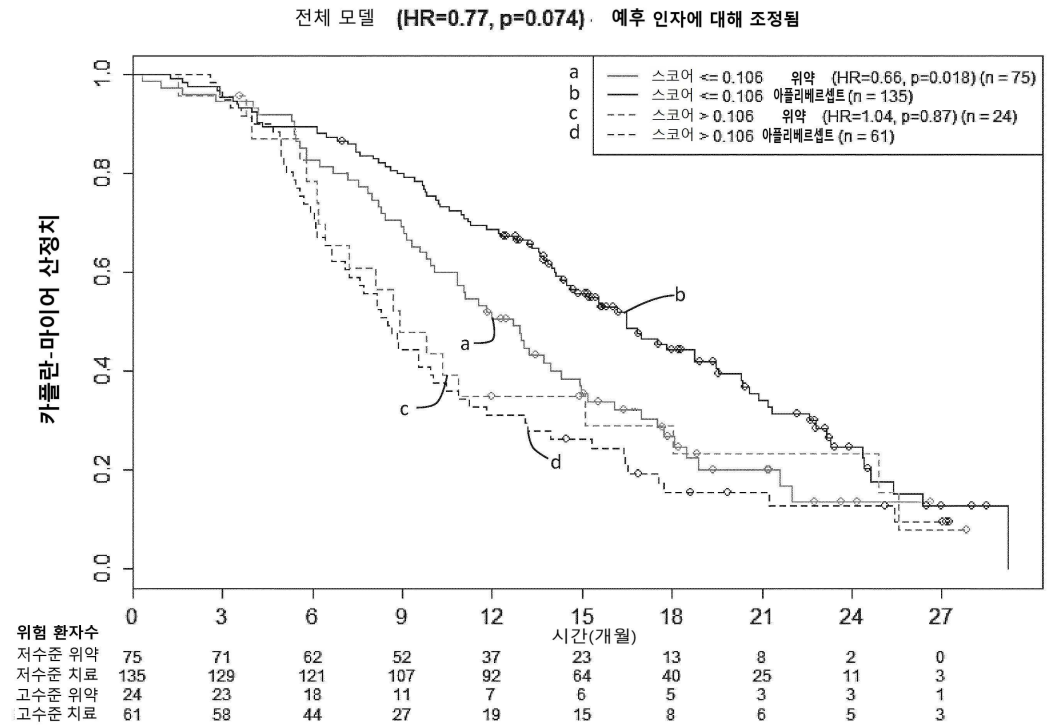
도면4


전체 모델 (HR=0.79, p=0.11)
a ICAM-1 <= 5.04 위약 (HR=0.64, p=0.016) (n = 67)
b ICAM-1 <= 5.04 아플리베르셉트 (n = 138)
c ICAM-1 > 5.04 위약 (HR=1.28, p=0.3) (n = 32)
d ICAM-1 > 5.04 아플리베르셉트 (n = 58)
카플란-마이어 산정치
시간(개월)
위험 환자수
저수준 위약 67 65 56 48 31 21 12 8 2 0
저수준 치료 138 134 125 110 95 67 40 25 12 5
고수준 위약 32 29 24 15 13 8 6 3 3 1
고수준 치료 58 53 40 24 16 12 8 6 4 1

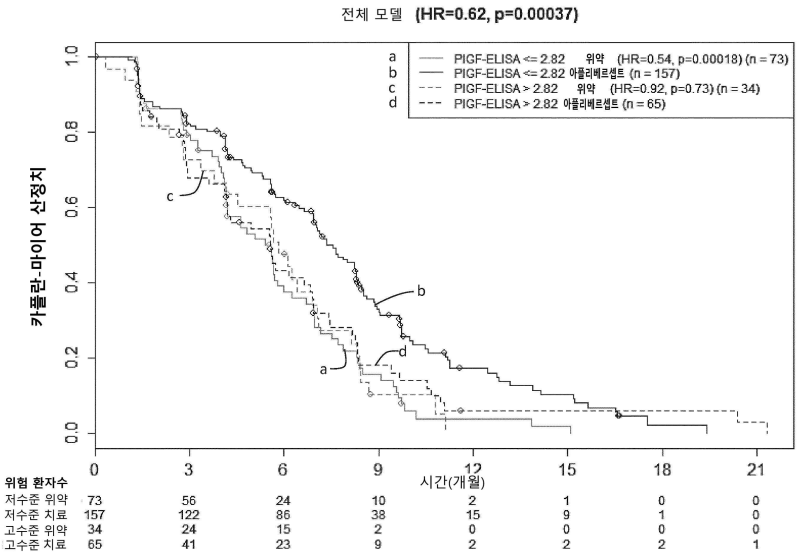
도면5


전체 모델 (HR=0.59, p=0.00016) 예후 인자에 대해 조정됨
a 스코어 <= 0.106 위약 (HR=0.47, p=1.1e-05) (n = 75)
b 스코어 <= 0.106 아플리베르셉트 (n = 135)
c 스코어 > 0.106 위약 (HR=0.98, p=0.95) (n = 24)
d 스코어 > 0.106 아플리베르셉트 (n = 61)
카플란-마이어 산정치
시간(개월)
위험 환자수
저수준 위약 75 59 26 8 1 0 0 0
저수준 치료 135 107 79 38 15 11 3 1
고수준 위약 24 17 11 4 1 1 0 0
고수준 치료 61 40 23 7 2 0 0 0

도면6


전체 모델 (HR=0.77, p=0.074) 예후 인자에 대해 조정됨
a 스코어 <= 0.106 위약 (HR=0.66, p=0.018) (n = 75)
b 스코어 <= 0.106 아플리베르셉트 (n = 135)
c 스코어 > 0.106 위약 (HR=1.04, p=0.87) (n = 24)
d 스코어 > 0.106 아플리베르셉트 (n = 61)
카플란-마이어 산정치
시간(개월)
위험 환자수
저수준 위약 75 71 62 52 37 23 13 8 2 0
저수준 치료 135 129 121 107 92 64 40 25 11 3
고수준 위약 24 23 18 11 7 6 5 3 3 1
고수준 치료 61 58 44 27 19 15 8 6 5 3

도면7



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> SANOFI

<120> METHOD FOR PREDICTING THE OUTCOME OF A TREATMENT WITH AFLIBERCEPT OF A PATIENT SUSPECTED TO SUFFER FROM A CANCER BY MEASURING THE LEVEL OF A PLASMA BIOMARKER

<130> FR2015-020

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 739

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Gly Lys Met Val Val Ile Leu Gly Ala Ser Asn Ile Leu Trp
1 5 10 15

Ile Met Phe Ala Ala Ser Gln Ala Phe Lys Ile Glu Thr Thr Pro Glu
20 25 30

Ser Arg Tyr Leu Ala Gln Ile Gly Asp Ser Val Ser Leu Thr Cys Ser
35 40 45

```
Thr Thr Gly Cys Glu Ser Pro Phe Phe Ser Trp Arg Thr Gln Ile Asp
    50                  55                  60
Ser Pro Leu Asn Gly Lys Val Thr Asn Glu Gly Thr Thr Ser Thr Leu
65                  70                  75                  80
Thr Met Asn Pro Val Ser Phe Gly Asn Glu His Ser Tyr Leu Cys Thr

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

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

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

        275                 280                 285
Tyr Val Cys Glu Gly Val Asn Leu Ile Gly Lys Asn Arg Lys Glu Val
```

290 295 300

Glu Leu Ile Val Gln Glu Lys Pro Phe Thr Val Glu Ile Ser Pro Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

Val Met Gly Cys Glu Ser Pro Ser Phe Ser Trp Arg Thr Gln Ile Asp

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Val Thr Cys Gly His Lys Lys Leu Glu Lys Gly Ile Gln Val Glu Leu

385 390 395 400

Tyr Ser Phe Pro Arg Asp Pro Glu Ile Glu Met Ser Gly Gly Leu Val

405 410 415

Asn Gly Ser Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Val Pro Ser Val Tyr Pro

420 425 430

Leu Asp Arg Leu Glu Ile Glu Leu Leu Lys Gly Glu Thr Ile Leu Glu

435 440 445

Asn Ile Glu Phe Leu Glu Asp Thr Asp Met Lys Ser Leu Glu Asn Lys

450 455 460

Ser Leu Glu Met Thr Phe Ile Pro Thr Ile Glu Asp Thr Gly Lys Ala

465 470 475 480

Leu Val Cys Gln Ala Lys Leu His Ile Asp Asp Met Glu Phe Glu Pro

485 490 495

Lys Gln Arg Gln Ser Thr Gln Thr Leu Tyr Val Asn Val Ala Pro Arg

500 505 510

Asp Thr Thr Val Leu Val Ser Pro Ser Ser Ile Leu Glu Glu Gly Ser

515 520 525

Ser Val Asn Met Thr Cys Leu Ser Gln Gly Phe Pro Ala Pro Lys Ile

530 535 540

Leu Trp Ser Arg Gln Leu Pro Asn Gly Glu Leu Gln Pro Leu Ser Glu
545 550 555 560
Asn Ala Thr Leu Thr Leu Ile Ser Thr Lys Met Glu Asp Ser Gly Val
565 570 575
Tyr Leu Cys Glu Gly Ile Asn Gln Ala Gly Arg Ser Arg Lys Glu Val
580 585 590
Glu Leu Ile Ile Gln Val Thr Pro Lys Asp Ile Lys Leu Thr Ala Phe

595 600 605
Pro Ser Glu Ser Val Lys Glu Gly Asp Thr Val Ile Ile Ser Cys Thr
610 615 620
Cys Gly Asn Val Pro Glu Thr Trp Ile Ile Leu Lys Lys Lys Ala Glu
625 630 635 640
Thr Gly Asp Thr Val Leu Lys Ser Ile Asp Gly Ala Tyr Thr Ile Arg
645 650 655
Lys Ala Gln Leu Lys Asp Ala Gly Val Tyr Glu Cys Glu Ser Lys Asn

660 665 670
Lys Val Gly Ser Gln Leu Arg Ser Leu Thr Leu Asp Val Gln Gly Arg
675 680 685
Glu Asn Asn Lys Asp Tyr Phe Ser Pro Glu Leu Leu Val Leu Tyr Phe
690 695 700
Ala Ser Ser Leu Ile Ile Pro Ala Ile Gly Met Ile Ile Tyr Phe Ala
705 710 715 720
Arg Lys Ala Asn Met Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Val Glu Ala Gln Lys

725 730 735
Ser Lys Val

<210> 2
<211> 532
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2
Met Ala Pro Ser Ser Pro Arg Pro Ala Leu Pro Ala Leu Leu Val Leu

1 5 10 15

Leu Gly Ala Leu Phe Pro Gly Pro Gly Asn Ala Gln Thr Ser Val Ser

20 25 30

Pro Ser Lys Val Ile Leu Pro Arg Gly Gly Ser Val Leu Val Thr Cys

35 40 45

Ser Thr Ser Cys Asp Gln Pro Lys Leu Leu Gly Ile Glu Thr Pro Leu

50 55 60

Pro Lys Lys Glu Leu Leu Leu Pro Gly Asn Asn Arg Lys Val Tyr Glu

65 70 75 80

Leu Ser Asn Val Gln Glu Asp Ser Gln Pro Met Cys Tyr Ser Asn Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Lys Asn Leu Thr Leu Arg Cys Gln Val Glu Gly Gly Ala Pro Arg Ala

130 135 140

Asn Leu Thr Val Val Leu Leu Arg Gly Glu Lys Glu Leu Lys Arg Glu

145 150 155 160

Pro Ala Val Gly Glu Pro Ala Glu Val Thr Thr Thr Val Leu Val Arg

165 170 175

Arg Asp His His Gly Ala Asn Phe Ser Cys Arg Thr Glu Leu Asp Leu

180 185 190

Arg Pro Gln Gly Leu Glu Leu Phe Glu Asn Thr Ser Ala Pro Tyr Gln

195 200 205

Leu Gln Thr Phe Val Leu Pro Ala Thr Pro Pro Gln Leu Val Ser Pro

210 215 220

Arg Val Leu Glu Val Asp Thr Gln Gly Thr Val Val Cys Ser Leu Asp

225 230 235 240

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

245 250 255

Gln Arg Leu Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Asn Asp Ser Phe Ser Ala
260 265 270
Lys Ala Ser Val Ser Val Thr Ala Glu Asp Glu Gly Thr Gln Arg Leu
275 280 285
Thr Cys Ala Val Ile Leu Gly Asn Gln Ser Gln Glu Thr Leu Gln Thr
290 295 300

Val Thr Ile Tyr Ser Phe Pro Ala Pro Asn Val Ile Leu Thr Lys Pro
305 310 315 320
Glu Val Ser Glu Gly Thr Glu Val Thr Val Lys Cys Glu Ala His Pro
325 330 335
Arg Ala Lys Val Thr Leu Asn Gly Val Pro Ala Gln Pro Leu Gly Pro
340 345 350
Arg Ala Gln Leu Leu Leu Lys Ala Thr Pro Glu Asp Asn Gly Arg Ser
355 360 365

Phe Ser Cys Ser Ala Thr Leu Glu Val Ala Gly Gln Leu Ile His Lys
370 375 380
Asn Gln Thr Arg Glu Leu Arg Val Leu Tyr Gly Pro Arg Leu Asp Glu
385 390 395 400
Arg Asp Cys Pro Gly Asn Trp Thr Trp Pro Glu Asn Ser Gln Gln Thr
405 410 415
Pro Met Cys Gln Ala Trp Gly Asn Pro Leu Pro Glu Leu Lys Cys Leu
420 425 430

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

Gly Leu Ser Thr Tyr Leu Tyr Asn Arg Gln Arg Lys Ile Lys Lys Tyr

500 505 510

Arg Leu Gln Gln Ala Gln Lys Gly Thr Pro Met Lys Pro Asn Thr Gln

515 520 525

Ala Thr Pro Pro

530

<210> 3

<211> 170

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Pro Val Met Arg Leu Phe Pro Cys Phe Leu Gln Leu Leu Ala Gly

1 5 10 15

Leu Ala Leu Pro Ala Val Pro Pro Gln Gln Trp Ala Leu Ser Ala Gly

20 25 30

Asn Gly Ser Ser Glu Val Glu Val Val Pro Phe Gln Glu Val Trp Gly

35 40 45

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

50 55 60

Tyr Pro Ser Glu Val Glu His Met Phe Ser Pro Ser Cys Val Ser Leu

65 70 75 80

Leu Arg Cys Thr Gly Cys Cys Gly Asp Glu Asn Leu His Cys Val Pro

85 90 95

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

100 105 110

Asp Arg Pro Ser Tyr Val Glu Leu Thr Phe Ser Gln His Val Arg Cys

115 120 125

Glu Cys Arg Pro Leu Arg Glu Lys Met Lys Pro Glu Arg Arg Arg Pro

130 135 140

Lys Gly Arg Gly Lys Arg Arg Arg Glu Lys Gln Arg Pro Thr Asp Cys

145 150 155 160

His Leu Cys Gly Asp Ala Val Pro Arg Arg

165 170

<210> 4

<211> 149

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Pro Val Met Arg Leu Phe Pro Cys Phe Leu Gln Leu Leu Ala Gly
1 5 10 15

Leu Ala Leu Pro Ala Val Pro Pro Gln Gln Trp Ala Leu Ser Ala Gly
20 25 30

Asn Gly Ser Ser Glu Val Glu Val Val Pro Phe Gln Glu Val Trp Gly
35 40 45

Arg Ser Tyr Cys Arg Ala Leu Glu Arg Leu Val Asp Val Val Ser Glu
50 55 60

Tyr Pro Ser Glu Val Glu His Met Phe Ser Pro Ser Cys Val Ser Leu
65 70 75 80

Leu Arg Cys Thr Gly Cys Cys Gly Asp Glu Asn Leu His Cys Val Pro
85 90 95

Val Glu Thr Ala Asn Val Thr Met Gln Leu Leu Lys Ile Arg Ser Gly
100 105 110

Asp Arg Pro Ser Tyr Val Glu Leu Thr Phe Ser Gln His Val Arg Cys
115 120 125

Glu Cys Arg Pro Leu Arg Glu Lys Met Lys Pro Glu Arg Cys Gly Asp
130 135 140

Ala Val Pro Arg Arg
145