



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2014-0117644  
 (43) 공개일자 2014년10월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 31/506* (2006.01) *A61K 31/517* (2006.01)  
*C12Q 1/68* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2014-7023977  
 (22) 출원일자(국제) 2013년01월31일  
 심사청구일자 없음  
 (85) 번역문제출일자 2014년08월27일  
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2013/051865  
 (87) 국제공개번호 WO 2013/113796  
 국제공개일자 2013년08월08일  
 (30) 우선권주장  
 61/592,893 2012년01월31일 미국(US)  
 61/654,733 2012년06월01일 미국(US)

(71) 출원인  
 스미스클라인 비이참 (코르크) 리미티드  
 아일랜드 카운티 코르크 캐리갈린 커라비니  
 (72) 발명자  
 스프라그스, 콜린, 에프.  
 영국 에스취1 2엔와이 하트퍼드셔 스티브니지 거  
 늘즈 우드 로드 글락소스미스클라인  
 (74) 대리인  
 장수길, 김영

전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 **암을 치료하는 방법**

**(57) 요약**

암의 치료를 필요로 하는 환자가 VEGFA (rs3025039, VEGFA 936C>T), VEGFR (rs1870377, Q427H, VEGFR2 18487A>T, 1416A>T) 또는 IGF1R (rs2037448, 229741A>G 또는 rs7181022, 28322C>T)에서 적어도 하나 다형성을 갖는지의 여부를 결정하고; 상기 환자가 적어도 하나의 다형성을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

HER2 억제제의 투여를 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;

상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것

을 포함하는, HER2 억제제를 상기 환자에게 투여하는 방법.

### 청구항 2

HER2 억제제의 처방을 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;

상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 처방하는 것

을 포함하는, HER2 억제제를 상기 환자에게 처방하는 방법.

### 청구항 3

암의 치료를 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;

상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것

을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법.

### 청구항 4

암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여한 다음; 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결정이 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형에 대해 상기 환자를 시험하는 것을 포함하는 것인 방법.

### 청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결정이 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형과 상호관련된 적어도 하나의 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 유전자형에 대해 상기 환자를 시험하는 것을 포함하는 것인 방법.

### 청구항 7

이전에 VEGFA에서의 rs3025039 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 것으로서 유전자형 결정된, 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법.

### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 유방암인 방법.

### 청구항 9

제8항에 있어서, 상기 유방암이 전이성 유방암인 방법.

**청구항 10**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 결장암, 유방암, 전이성 유방암, 신세포 암종, 흑색종, 비-소세포 폐암 및 선암종을 포함하는 폐암, 위암, 결장직장암, 신경내분비암, 갑상선암, 두경부암, 뇌암, 자궁경부암, 방광암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 중피종, 간-간담도암, 다발성 골수종, 백혈병, 휘르틀레(Hurthle) 세포를 포함하는 갑상선암, 근육 육종 (평활근육종) 및 골 육종 (연골육종)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

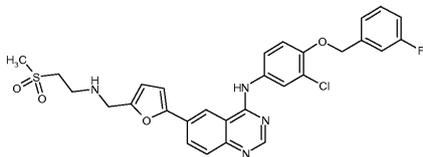
**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HER2 억제제가 이중 HER2/EGFR 억제제인 방법.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HER2 억제제가 하기 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 용매화물인 방법.

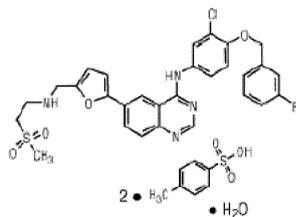
<화학식 I>



**청구항 13**

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HER2 억제제가 하기 화학식 I'의 화합물인 방법.

<화학식 I'>



**청구항 14**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, HER2 억제제가 모노클로날 항체인 방법.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 모노클로날 항체가 트라스투주맙 또는 페르투주맙인 방법.

**청구항 16**

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HER2 억제제가 단독요법으로서 부여되는 것인 방법.

**청구항 17**

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자가 다형성 VEGFR2 18487A>T를 갖는지의 여부를 검출하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 상기 환자가 VEGFR2 18487A>T와 상호관련된 적어도 하나의 단일 뉴클레오티드 다형성을 갖는

경우에, 상기 환자를 라파티닙 및 트라스투주맙으로 치료하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 19**

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 HER2 억제제가 카페시타빈 및/또는 레트로졸과 조합하여 투여되는 것인 방법.

**청구항 20**

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 HER2 억제제가 카페시타빈 및/또는 레트로졸 및/또는 트라스투주맙과 조합하여 투여되는 것인 방법.

**청구항 21**

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 추가의 신생물제를 상기 환자에게 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 22**

암의 치료를 필요로 하는 환자가 VEGFR2 18487A>T에서의 다형성을 갖는지의 여부를 결정하고;  
상기 환자가 다형성 VEGFR2 18487A>T를 갖는 경우에, 상기 환자에게 라파티닙 및 트라스투주맙을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법.

**청구항 23**

환자가 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 적어도 하나의 다형성을 갖는지의 여부를 결정하고;  
상기 환자가 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 다형성을 갖지 않는 경우에, 상기 환자에게 라파티닙 및 트라스투주맙을 투여하는 것을 포함하는, 암에 대해 상기 환자를 치료하는 방법.

**청구항 24**

암의 치료를 필요로 하는 환자가 VEGFR2 18487A>T 및 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형으로부터 선택된 적어도 하나의 다형성을 갖는지의 여부를 결정하고;  
상기 환자가 VEGFR2 18487A>T 및 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형으로부터 선택된 적어도 하나의 다형성을 갖는 경우에, 상기 환자에게 티로신 키나제 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 라파티닙으로 암을 치료하는 방법, 이러한 치료에 유용한 유전자 마커, 및 이러한 유전자 마커를 검출하기 위한 방법 및 시약에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 라파티닙은 HER2+ 전이성 유방암 (MBC)을 앓고 있는 환자를 위한 카페시타빈 또는 레트로졸과의 조합에서 승인된 이중 HER2/EGFR 티로신 키나제 억제제 (TKI)이다. HER2/EGFR 및 다른 TKI 요법과 일치하게, 환자 반응은 가변적이고 감수성 및 내성의 추가의 결정인자를 시사한다. 이 탐색적 약리유전학 연구는 HER2+ MBC 환자에서의 라파티닙 치료 결과와 연관된 숙주 배선 유전자 변이체를 확인하고자 하는 것이었다.

[0003] 환자가 제약 화합물로의 치료에 반응할 가능성을 보다 높게 만드는 약리유전학 프로파일을 갖는 환자를 치료하는 방법이 임상 의학에서 필요하다.

**발명의 내용**

- [0004] 발명의 개요
- [0005] 한 실시양태에서,
- [0006] HER2 억제제의 투여를 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0007] 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것
- [0008] 을 포함하는, HER2 억제제를 상기 환자에게 투여하는 방법이 제공된다.
- [0009] 한 실시양태에서,
- [0010] HER2 억제제의 처방을 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0011] 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 처방하는 것
- [0012] 을 포함하는, HER2 억제제를 상기 환자에게 처방하는 방법이 제공된다.
- [0013] 한 실시양태에서,
- [0014] 암의 치료를 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0015] 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것
- [0016] 을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.

**도면의 간단한 설명**

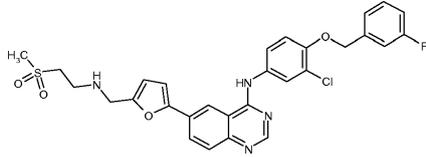
- [0017] 도 1: 시험 I에서의 VEGFA 936C>T 및 OS.
- 도 2: 시험 II (시험 I 아님)에서의 VEGFR2 18487A>T (Q472H) 및 OS.
- 도 3: 시험 II에서의 IGF1 rs2037448 & rs7181022 (기능성이 아닌 태그 SNP) 및 OS.
- 도 4A: 메타-분석에서의 NR1I3 (rs2307420) 및 PFS
- 도 4B: 메타-분석에서의 VEGFA (936C>T, rs3025039) 및 OS
- 도 4C: 메타-분석에서의 KDR/VEGFR2 (18487T>A, Q472H, rs1870377)
- 도 5: PFS 및 OS에서의 NR1I3
- 도 6: PFS 및 OS에서의 VEGFA (936C>T, rs3025039)
- 도 7: PFS 및 OS에서의 KDR/VEGFR2 (18487T>A, Q472H, rs1870377)

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0018] 라파티닙은 HER2/EGFR 티로신 키나제 억제제이다. 티로신 키나제는 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 및 인간 EGFR 유형 2 (Her2/neu)인 적어도 2개의 종양유전자와 연관된다. HER2/neu의 과다발현은 여성에서의 특정 유형의 고위험 유방암의 원인이 될 수 있거나 또는 이와 상호관련될 수 있다. 다른 활성 중에서도, 라파티닙은 종양을 야기하는 유방암 줄기 세포를 감소시킨다. 라파티닙의 작용 메커니즘의 한 측면은 그것이 EGFR/HER2 단백질 키나제 도메인의 ATP-결합 포켓에 결합하여 자가-인산화 및 신호 메커니즘의 후속적 활성화를 방지함으로써 수용체 신호 과정을 억제한다는 것이다.
- [0019] 라파티닙은 소분자이고, 키나제 억제제의 4-아닐리노퀴나졸린 부류의 구성원이다. 현재 시판되는 그의 형태에서, 라파티닙은 화학 명칭이 N-(3-클로로-4-((3-플루오로페닐)메틸)옥시)페닐)-6-[5-((2-(메틸술포닐)에틸)아

미노}메틸]-2-푸라닐]-4-퀴나졸린아민 비스(4 메틸벤젠설포네이트) 1수화물인 디토실레이트 염의 1수화물로서 존재한다. 분자식은  $C_{29}H_{26}ClFN_4O_4S$  ( $C_7H_8O_3S$ )<sub>2</sub> H<sub>2</sub>O이고, 분자량은 943.5 달톤이다. 라파티닙 화학식 I은 하기 화학 구조를 갖는다.

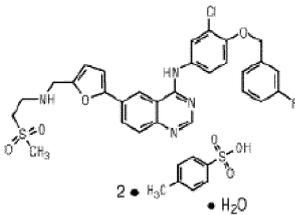
[0020] <화학식 I>



[0021]

[0022] 라파티닙 디토실레이트 1수화물 화학식 I'는 하기 화학 구조를 갖는다.

[0023] <화학식 I'>



[0024]

[0025] 라파티닙, 그의 제약상 허용되는 염 또는 조성물, 및 라파티닙을 포함하는 조성물 및 용도는, 예를 들어 미국 특허 번호 6,391,874, 6,828,320, 6,727,256, 6,713,485 및 7,157,466에 개시되어 있다.

[0026] 라파티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 조성물을 대상체에게 투여하는 것 (또는 대상체를 라파티닙으로 "치료하는 것")은 당업계에 공지된 바와 같은 투여 방법 및 경로를 포함한다. 라파티닙, 및 그의 제약상 허용되는 염 또는 조성물의 권장되는 치료 요법 (투여량 및 투여 스케줄, 혈장 농도)은 당업계에 공지되어 있다. 본원에 사용된 바와 같은, 라파티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 조성물의 투여는 유방암의 치료에 제한되지 않고, 라파티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 조성물로의 치료가 가능한 다른 상태를 위한 그의 의학적 용도를 포함한다.

[0027] 본원에서 사용된 바와 같이, 제약 키나제 억제제를 대상체에게 투여하는 것은 유효량의 제약 작용제를 그를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 제약 작용제의 용량은 제약 업계에서 공지 및 허용되는 방법에 따라 결정될 수 있고, 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0028] 본원에 사용된 바와 같이, 유전자(들)의 다형성 대립유전자에 대해 대상체 (또는 DNA 또는 다른 생물학적 샘플)를 "유전자형 결정"하는 것은 대립유전자 또는 다형성 형태(들)의 유전자(들) 또는 유전자 발현 산물 (예를 들어, hnRNA, mRNA 또는 단백질)이 대상체 (또는 샘플) 내에 존재하는지 또는 부재하는지를 검출하는 것을 의미한다. 이러한 유전자로부터 발현된 관련 RNA 또는 단백질은 또한 다형성 변이를 검출하는데 사용될 수 있다. 당업계에 널리 공지된 바와 같이, 개체는 특정한 대립유전자에 대해 이형접합 또는 동형접합일 수 있다. 2개 초과 대립유전자 형태가 존재할 수 있고, 따라서 3개 초과 가능한 유전자형이 존재할 수 있다. 본 발명의 목적을 위해, "유전자형 결정"은 당업계에 공지된 바와 같은 적합한 기술을 사용하는 배선 대립유전자의 결정을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 대립유전자는 다른 가능한 대립유전자 변이체가 배제된 경우에 '검출'될 수 있으며; 예를 들어, 명시된 핵산 위치가 아데닌 (A), 티민 (T) 또는 시토신 (C)이 아닌 것으로 밝혀진 경우에, 그 위치에는 구아닌 (G)이 존재하는 것으로 결론지을 수 있다 (즉, 대상체에서 G가 '검출'되거나 또는 '진단'됨). 서열 변이는 직접적으로 (예를 들어, 서열분석에 의해) 또는 간접적으로 (예를 들어, 제한 단편 길이 다형성 분석, 또는 공지된 서열의 프로브의 혼성화의 검출, 또는 참조 가닥 입체형태 다형성에 의해), 또는 다른 공지된 방법을 사용함으로써 검출될 수 있다.

[0029] 본원에 사용된 바와 같은, 집단의 "유전적 하위세트"는 특정한 유전자형을 갖는 집단의 구성원으로 이루어진다. 이중대립유전자 다형성의 경우에, 집단은 잠재적으로 3개의 하위세트: 대립유전자 1에 대한 동형접합 (1,1), 이형접합 (1,2), 및 대립유전자 2에 대한 동형접합 (2,2)으로 분류될 수 있다. 대상체의 '집단'은 다양한 기준, 예를 들어 라파티닙으로 치료할 개체 또는 암을 앓고 있는 개체를 이용하여 정의될 수 있다.

- [0030] 본원에 사용된 바와 같은, 유전자형 결정에 기초한 특정한 표현형 반응에 대한 "소인이 있는" 또는 그의 "증가된 위험이 있는" 대상체는 표적 다형성 유전자좌 (또는 유전자좌들)에서 상이한 유전자형을 갖는 개체보다 이러한 표현형을 나타낼 가능성이 더 높을 것이다. 표현형 반응이 다중-대립유전자 다형성 또는 1개 초과 유전자의 유전자형 결정에 기초하는 경우에, 상대적 위험은 가능한 다중 유전자형 중에서 상이할 수 있다.
- [0031] 당업계에서 이해되는 바와 같은 용어 "야생형"은 유전자 변형이 없는 천연 집단에서 발생하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 또한 당업계에서 이해되는 바와 같은 "변이체"는 각각 야생형 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드에서 발견되는 상응하는 아미노산 또는 핵산과 비교하여 아미노산 또는 핵산에 대해 적어도 하나의 변형을 갖는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 용어 변이체는 가장 일반적으로 발견되는 (야생형) 핵산 가닥과 비교하여 단일 염기 쌍 차이가 핵산 가닥의 서열에 존재하는 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같은 "유전자 변형" 또는 "유전자 변형된"은 DNA 서열(들)로의 하나 이상의 염기의 임의의 역제, 치환, 결실 및/또는 삽입을 지칭하지만, 이에 제한되지는 않는다. 또한, 본원에 사용된 바와 같은 "유전자 변형된"은 각각 핵산 또는 아미노산의 적어도 하나의 결실, 치환 또는 역제를 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 유전자 또는 폴리펩티드를 지칭할 수 있다.
- [0032] 유전자 변이체 및/또는 SNP는 공지된 방법에 의해 확인될 수 있다. 예를 들어, 야생형 또는 SNP는 DNA 증폭 및 서열분석 기술, 각각 노던 및 서던 블롯을 포함하지만 이에 제한되지 않는 DNA 및 RNA 검출 기술, 및/또는 다양한 바이오칩 및 어레이 기술에 의해 확인될 수 있다. WT 및 돌연변이체 폴리펩티드는 면역진단 기술, 예컨대 ELISA 및 웨스턴 블롯을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 기술에 의해 검출될 수 있다.
- [0033] 당업자는 서열에 나타난 [C/T] 다형성과 유사한 다형성, 즉 [C/G] 및 [C/A]가 또한 존재할 수 있다는 것을 인지할 것이다. rs3025039가 본원에 사용된 경우에, 이는 [C/T], [C/G] 및 [C/A] 다형성을 포함하도록 의도된다.
- [0034] rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성은 일루미나 휴먼 1M-듀오 분석 비드칩(Illumina Human 1M-Duo analysis BeadChip) 검정 ([http://www.illumina.com/products/human1m\\_duo\\_dna\\_analysis\\_beadchip\\_kits.ilmn](http://www.illumina.com/products/human1m_duo_dna_analysis_beadchip_kits.ilmn))을 사용한 마이크로어레이에 의해 검정되었다. 또한, 그의 서열이 공지되어 있는 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성은 당업자에 의해 이해되는 바와 같이 다양한 올리고뉴클레오티드를 사용하여 검출될 수 있다.
- [0035] 본원에 사용된 바와 같은 "VEGF"는 혈관 내피 성장 인자를 의미한다. 본원에 사용된 바와 같은 "VEGFR"은 혈관 내피 성장 인자 수용체를 의미한다. VEGFR에 대한 유니진(UniGene) 단백질 서열 참조는 KDR (VEGFR2) NP\_002244이다.
- [0036] 본원에 사용된 바와 같은 "IGFR1"은 인슐린-유사 성장 인자 수용체 1을 의미한다. IGFR1에 대한 유니진 단백질 서열은 IGF1R NP\_000866.1이다.
- [0037] 본원에 사용된 바와 같은 "VEGFA"는 혈관 내피 성장 인자 A를 의미한다 (유니진 데이터베이스는 단백질 서열 ID를 NP\_001020537.2로 명시함).
- [0038] 본원에 사용된 바와 같은 "EGFR"은 표피 성장 인자 수용체를 의미한다. 본원에 사용된 바와 같은 "HER2"는 Neu, ErbB-2, CD340 (분화 클러스터 340) 또는 p185로도 공지된 HER2 (인간 표피 성장 인자 수용체 2)를 의미하고, 이는 표피 성장 인자 수용체 (EGFR/ErbB) 패밀리의 구성원이다. ERBB2 (HER2)에 대한 유니진 단백질 서열은 NP\_004439.2이다.
- [0039] 대립유전자는 세포, 샘플, 개체 또는 집단 내의 유전자 서열 (예컨대, 유전자)의 하나의 특정한 형태를 지칭하고, 상기 특정한 형태는 동일한 유전자의 다른 형태와 유전자 서열 내의 적어도 1개, 빈번하게는 1개를 초과하는 변이체 부위의 서열에서 상이하다. 상이한 대립유전자들 사이에서 상이한 이들 변이체 부위에서의 서열은 "변이체", "다형성" 또는 "돌연변이"로 명명된다. 일반적으로, 다형성은 집단 내에서 적어도 1%의 빈도를 갖는 변이체를 지칭하는데 사용되는 반면, 용어 돌연변이는 집단 내에서 1% 미만의 빈도로 발생하는 변이체에 대해 일반적으로 사용된다. 이배체 유기체, 예컨대 인간에서, 개체는 각각의 상염색체의 특정한 염색체 위치 또는 "유전자좌"에서 한 부모로부터 유전된 제1 대립유전자 및 다른 부모로부터 유전된 제2 대립유전자, 예를 들어 어머니로부터의 1개 및 아버지로부터의 1개인 2개의 대립유전자를 보유한다. 유전자좌에서 2개의 상이한 대립유전자를 갖는 경우에 개체는 상기 유전자좌에서 "이형접합"이다. 유전자좌에서 2개의 동일한 대립유전자를 갖는 경우에 개체는 상기 유전자좌에서 "동형접합"이다.
- [0040] 다형성은 하나 이상의 염기 변화, 삽입, 반복, 또는 결실을 포함할 수 있다. 다형성 유전자좌는 염기쌍 1개만 큰 작을 수 있다. 다형성 마커는 제한 단편 길이 다형성, 가변 개수의 탠덤 반복부 (VNTR), 초가변 영역, 미소

부수체, 디뉴클레오티드 반복부, 트리뉴클레오티드 반복부, 테트라뉴클레오티드 반복부, 단순 서열 반복부, 및 삽입 요소, 예컨대 Alu를 포함한다. 최초로 확인된 대립유전자 형태는 참조 형태로 임의로 지정되고, 다른 대립유전자 형태는 대안적 또는 변이체 대립유전자로 지정된다. 선택된 집단에서 가장 빈번하게 발생하는 대립유전자 형태는 때때로 야생형 형태로 지칭된다. 가장 빈번한 대립유전자는 주 대립유전자로, 덜 빈번한 대립유전자는 부 대립유전자로 지칭될 수도 있다. 이배체 유기체는 대립유전자 형태에 대해 동형접합 또는 이형접합일 수 있다. 2-대립유전자 다형성은 2개의 형태를 갖는다. 3-대립유전자 다형성은 3개의 형태를 갖는다. 2개의 핵산 사이의 다형성은 자연 발생할 수 있거나, 또는 화학물질, 효소 또는 다른 작용제에 대한 노출 또는 이와 유사한 접촉, 또는 핵산에 대한 손상을 야기하는 작용제, 예를 들어 자외 방사선, 돌연변이원 또는 발암물질에 대한 노출에 의해 야기될 수 있다.

[0041] 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)은 2개의 대안적 염기가 인간 집단에서 상당한 빈도 (>1%)로 발생하는 위치이고, 인간 유전자 변이의 가장 통상적인 유형이다. 인간 게놈에서의 모든 다형성의 대략 90%는 SNP이다. SNP는 상이한 대립유전자 또는 대안적 뉴클레오티드 집단에 존재하는, DNA에서의 단일 염기 위치이다. 개체는 각각의 SNP 위치에서 대립유전자에 대해 동형접합 또는 이형접합일 수 있다. 일부 경우에, SNP를 함유하는 뉴클레오티드 서열이 아미노산 코딩 서열이라는 것을 나타내기 위해 SNP가 "cSNP"로 지칭될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은, SNP 및 SNP 유전자형에 대한 언급은 개별적인 SNP, 및/또는 일반적으로 함께 유전되는 SNP의 군인 반수체형을 포함한다. 반수체형은 개별적인 SNP와 비교하여 질환 또는 다른 표현형 효과와 더 강한 상관관계를 가질 수 있고, 따라서 일부 경우에 증가된 진단 정확성을 제공할 수 있다 (문헌 [Stephens et al. Science 293, 489-493, 20 Jul. 2001]).

[0042] 원인성 SNP는 유전자 발현에서 또는 유전자 산물의 발현, 구조 및/또는 기능에서 변경을 일으키는 SNP이고, 따라서 가능한 임상 표현형에 대해 가장 예측적이다. 이러한 하나의 부류는 폴리펩티드 산물을 코딩하는 유전자의 영역 내에 속하는 SNP, 즉 cSNP를 포함한다. 이들 SNP는 폴리펩티드 산물의 아미노산 서열에서의 변경 (즉, 비-동의성 코돈 변화)을 생성할 수 있고, 결손성 또는 다른 변이체 단백질의 발현을 일으킬 수 있다. 또한, 무의미 돌연변이의 경우에, SNP는 폴리펩티드 산물의 조기 종결을 유발할 수 있다. 원인성 SNP가 반드시 코딩 영역에서 발생해야 하는 것은 아니며; 원인성 SNP는, 예를 들어 핵산에 의해 코딩되는 단백질의 발현, 구조 및/또는 활성에 궁극적으로 영향을 미칠 수 있는 임의의 유전자 영역에서 발생할 수 있다. 이러한 유전자 영역은, 예를 들어 전사와 관련된 영역, 예컨대 전사 인자 결합 도메인에서의 SNP, 프로모터 영역에서의 SNP, 전사체 프로세싱과 관련된 구역에서의 SNP, 예컨대 결손성 스플라이싱을 야기할 수 있는 인트론-엑손 경계에서의 SNP, 또는 mRNA 프로세싱 신호 서열, 예컨대 폴리아데닐화 신호 영역에서의 SNP를 포함한다. 그렇지만, 원인성 SNP가 아닌 일부 SNP도 질환-야기 서열과 밀접하게 연관되고, 따라서 이러한 서열과 함께 분리된다. 상기 상황에서, SNP의 존재는 질환의 존재, 또는 질환에 대한 소인, 또는 질환 발병에서의 증가된 위험과 상호관련된다. 이들 SNP는 원인성은 아니지만, 그럼에도 불구하고 또한 진단, 질환 소인 스크리닝 및 다른 용도에 유용하다.

[0043] SNP와 특정한 장애 또는 안전성 사건에 대한 소인 또는 치료 결과의 연관성 연구는 관심이 있는 장애 또는 안전성 사건에 대한 소인이 있는 개체로부터의 생물학적 샘플 내의 SNP 대립유전자의 존재 또는 빈도를 결정하고, 상기 정보를 대조군 (즉, 장애가 없거나 또는 동일한 안전성 사건 또는 치료 결과를 경험하지 않은 개체)의 정보와 비교하는 것을 포함한다.

[0044] 개체로부터 획득한 질환 조직 샘플 또는 임의의 생물학적 샘플에서 SNP를 스크리닝할 수 있고, 대조 샘플과 비교할 수 있으며, 특정한 병리학적 상태에서의 그의 증가된 (또는 감소된) 발생에 대해 선택할 수 있다. 일단 하나 이상의 SNP(들)와 관심이 있는 병리학적 상태 (또는 다른 표현형) 사이의 통계적으로 유의한 연관성이 확립되면, 임의로 SNP 주위의 영역을 철저하게 스크리닝하여, 병리학적 상태 또는 표현형에 영향을 미치는 원인성 유전자좌/유전자 서열(들) (예를 들어, 원인성 SNP/돌연변이, 유전자, 조절 영역 등)을 확인할 수 있다.

[0045] 제약으로의 치료에 대한 환자 반응은 종종 이질적이라는 것이 임상 시험에서 나타났다. 제약 작용제 설계 및 요법을 개선하는 것이 계속 필요하다. 이와 관련하여, SNP가 특정 제약 작용제에 의한 요법에 가장 잘 맞는 환자를 확인하는데 사용될 수 있다 (이는 종종 "약리유전체학"으로 명명됨). 유사하게, 환자의 독성 부작용 발생의 증가된 가능성 또는 환자의 치료에 반응하지 않을 가능성으로 인해 특정 치료로부터 환자를 배제하는데 SNP가 사용될 수 있다. 약리유전체학은 또한 제약 연구에서 약물 개발 및 선택 과정을 보조하기 위해 사용될 수 있다 (문헌 [Linder et al. (1997), Clinical Chemistry, 43, 254; Marshall (1997), Nature Biotechnology, 15, 1249; International Patent Application WO 97/40462, Spectra Biomedical; 및 Schafer et al. (1998), Nature Biotechnology, 16, 3]).

- [0046] 돌연변이의 검출을 위한 여러 기술은 혼성화 분석의 원리에 기초하여 발달해왔다. 예를 들어, 프라이머 연장 검정에서는, 관심 뉴클레오티드에 걸쳐있는 DNA 영역을 PCR 또는 임의의 다른 적합한 증폭 기술에 의해 증폭시킨다. 증폭 후, 프라이머를 표적 핵산 서열에 혼성화시키고, 여기서 프라이머의 3' 단부의 마지막 뉴클레오티드는 분석되는 표적 서열 상의 뉴클레오티드 위치에 대한 5'에 즉시 어닐링된다. 어닐링된 프라이머를 단일 표지된 뉴클레오티드 트리포스페이트에 의해 연장시킨다. 이어서, 혼입된 뉴클레오티드를 검출한다.
- [0047] 유전자 또는 PCR 생성물 또는 그의 단편 또는 일부를 포함하는 임의의 핵산의 서열은 당업계에 공지된 임의의 방법 (예를 들어, 화학적 서열분석 또는 효소적 서열분석)에 의해 서열분석될 수 있다. DNA의 "화학적 서열분석"은 맥삼(Maxam) 및 길버트(Gilbert) (1977) (문헌 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:560])의 것과 같은 방법을 나타낼 수 있고, 여기서 DNA는 개별 염기-특이적 반응을 이용하여 무작위로 절단된다. DNA의 "효소적 서열분석"은 생거(Sanger) (문헌 [Sanger, et al., (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:5463])의 것과 같은 방법을 나타낼 수 있다.
- [0048] 통상의 분자 생물학, 미생물학, 및 서열분석 기술을 비롯한 재조합 DNA 기술은 당업자 사이에서 익히 공지되어 있다. 이러한 기술은 문헌에 완전히 설명되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook, Fritsch & Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (본원에서 "Sambrook, et al., 1989"); DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II (D. N. Glover ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed. 1984); Nucleic Acid Hybridization (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)); Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed. (1986)); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, (1986)); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); F. M. Ausubel, et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (1994)]을 참조한다.
- [0049] 펩티드 핵산 (PNA) 친화도 검정은 전통적인 혼성화 검정으로부터 유도된 것이다 (문헌 [Nielsen et al., Science 254:1497-1500 (1991); Egholm et al., J. Am. Chem. Soc. 114:1895-1897 (1992); James et al., Protein Science 3:1347-1350 (1994)]). PNA는 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기 쌍형성 규칙을 따르는 구조적 DNA 모방체이고, 표준 DNA 혼성화 검정에서 사용된다. PNA/DNA 미스매치가 DNA/DNA 미스매치보다 불안정하고, 상보적 PNA/DNA 가닥이 상보적 DNA/DNA 가닥보다 강한 결합을 형성하기 때문에, PNA는 혼성화 검정에서 보다 큰 특이성을 나타낸다.
- [0050] DNA 마이크로어레이는 유전자 변이 및 다형성을 검출하기 위해 개발되었다 (문헌 [Taton et al., Science 289:1757-60, 2000; Lockhart et al., Nature 405:827-836 (2000); Gerhold et al., Trends in Biochemical Sciences 24:168-73 (1999); Wallace, R. W., Molecular Medicine Today 3:384-89 (1997); Blanchard and Hood, Nature Biotechnology 149:1649 (1996)]). DNA 마이크로어레이는 유리 또는 나일론 기판 상에 고속 로봇공학에 의해 제작되며, 정체가 알려진 DNA 단편 ("프로브")을 함유한다. 마이크로어레이는 전통적인 염기-쌍형성 규칙에 기초하여 기지의 DNA 단편과 미지의 DNA 단편 ("표적")을 매칭시키는데 사용된다.
- [0051] 단백질 절단 시험 (PTT)이 유전자 다형성을 검출하는데 또한 통상적으로 사용된다 (문헌 [Roest et al., Human Molecular Genetics 2:1719-1721, (1993); Van Der Luit et al., Genomics 20:1-4 (1994); Hogervorst et al., Nature Genetics 10: 208-212 (1995)]). 전형적으로, PTT에서는, 관심 유전자를 PCR 증폭시키고, 시험관 내 전사/번역에 적용시키고, 정제하고, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 분석한다.
- [0052] 본원에 사용된 바와 같은 "유전자 검사" (유전자 스크리닝으로도 지칭됨)는 대상체로부터의 생물학적 샘플을 시험하여 대상체의 유전자형을 결정하는 것을 지칭하며; 대상체의 유전자형이 특정한 표현형을 야기하거나 또는 이에 대한 감수성을 증가시키는 (또는 그 표현형을 야기하거나 또는 이에 대한 감수성을 증가시키는 대립유전자(들)와 연관 불평형에 있는) 대립유전자를 포함하는지를 결정하는데 이용될 수 있다.
- [0053] "연관 불평형"은 상이한 게놈 위치에서의 특정한 대립유전자가 우연히 예상되는 것보다 빈번하게 함께 발생하는 경향을 지칭한다. 주어진 유전자좌에서의 대립유전자는 임의의 특정 세트의 대립유전자 (또는 반수체형)의 빈도가 이들의 개별적인 집단 빈도의 산물인 경우에 완전한 평형 상태이다. 통상적으로 사용되는 연관 불평형의 측정치는 r이다.

$$r = \frac{\hat{\Delta}_{AB}}{\sqrt{(\tilde{\pi}_A + \hat{D}_A)(\tilde{\pi}_B + \hat{D}_B)}}$$

여기서

$$\tilde{\pi}_A = \tilde{p}_A(1-\tilde{p}_A), \tilde{\pi}_B = \tilde{p}_B(1-\tilde{p}_B), \hat{D}_A = \tilde{p}_{AA} - \tilde{p}_A^2, \hat{D}_B = \tilde{p}_{BB} - \tilde{p}_B^2$$

$$\hat{\Delta}_{AB} = \frac{1}{n}n_{AB} - 2\tilde{p}_A\tilde{p}_B$$

[0054]

[0055]  $nr^2$ 은 이중대립유전자 마커에 대한 자유도가 1인 대략적인 카이 제곱 분포를 갖는다.  $nr^2$ 이 0.05 수준에서의 유의한 카이-제곱 통계치에 상응하는 3.84를 초과하게 하는 r을 나타내는 유전자좌가 연관 불평형에 있는 것으로 간주된다 (문헌 [BS Weir 1996 Genetic Data Analysis II Sinauer Associates, Sunderland, MD]).

[0056] 대안적으로, 연관 불평형의 표준화된 측정치는 하기와 같이 정의될 수 있다.

$$D'_{AB} = \begin{cases} \frac{D_{AB}}{\min(p_A p_B, p_a p_b)}, & D_{AB} < 0 \\ \frac{D_{AB}}{\min(p_A p_b, p_a p_B)}, & D_{AB} > 0 \end{cases}$$

[0057]

[0058] D' 값은 -1.0 내지 1.0 범위를 갖는다. 2개의 마커에 대한 통계적으로 유의한 절대적인 D' 값이 0.3 이상이면, 이들은 연관 불평형에 있는 것으로 간주된다.

[0059] 본원에 사용된 바와 같은 단어 "반수체형"은 함께 유전되는 경향이 있는, 하나의 염색체 상에 존재하는 밀접하게 연결된 대립유전자의 세트를 지칭한다. VEGFA 대립유전자의 존재를 검출함으로써, 또는 VEGFA 대립유전자와 연관 불평형에 있는 것으로 공지된 유전자 마커를 검출함으로써 VEGFA 유전자형을 확인할 수 있다. 유전자형은 단일 유전자 내의 정의된 위치, 예를 들어 1,1 1,2 2,2에서의 변이를 지칭한다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같은, '다중유전자좌' 유전자형 (반수체형으로도 공지됨)의 결정은 1개 초과 유전자좌에 존재하는 대립유전자의 개체 내에서의 검출을 지칭한다.

[0061] 본원에 사용된 바와 같은, 대립유전자 또는 다형성을 검출하는 방법은 유전적 방법을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 검출된 대립유전자 또는 다형성은 개체의 표현형에 영향을 미치는데 기능적으로 관련될 수 있거나, 또는 이것은 기능적 다형성/대립유전자와 연관 불평형에 있는 대립유전자 또는 다형성일 수 있다. 다형성/대립유전자는 대상체의 게놈 DNA에서 입증되지만, 당업자에게 명백할 것인 바와 같이, 상기 영역으로부터 전사 또는 번역된 RNA, cDNA 또는 단백질 서열로부터도 검출가능할 수 있다.

[0062] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 라파티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 조성물은 상기 인간에게 단독 요법으로서 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 라파티닙, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 조성물은 적어도 하나의 다른 항신생물제와 함께 투여된다. 하나의 다른 항신생물제는 트라스투주맙, 페르투주맙, 카페시타빈, 파클리탁셀, 카르보플라틴, 파조파닙 및 레트로졸의 군으로부터 선택될 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0063] 본 발명의 방법은 EGFR, HER2/erbB-2, VEGF, VEGFR, 및 PI3K, Akt 및 mTOR을 포함하지만 이에 제한되지 않는 세포내 전달 단백질의 억제에 감수성인 암, 뿐만 아니라 원발성 및 전이성 형태 둘 다의 두경부암, 유방암, 폐암, 결장암, 난소암 및 전립선암을 포함하지만 이에 제한되지 않는 임의의 암으로 진단되거나 또는 이를 앓고 있는 인간 대상체와 함께 사용될 수 있다. 상기 방법은 또한 라파티닙으로 치료할 임의의 인간 대상체에 대해 사용될 수 있다.

[0064] 당업계에 공지된 바와 같은 임의의 적합한 기술을 사용하여, DNA 폴리뉴클레오티드 서열을 결정함으로써, 또는 다형성 유전자로부터의 RNA 전사체 내의 상응하는 서열을 검출함으로써, 또는 핵산 다형성이 코딩되는 단백질에서의 변화를 생성하는 경우 코딩되는 단백질에서의 이러한 아미노산 서열 변화를 검출함으로써, 다형성 대립유전자를 검출할 수 있다. 유형결정에 이용되는 폴리뉴클레오티드는 전형적으로 게놈 DNA, 또는 게놈 폴리뉴클레오티드 서열로부터 유도된 폴리뉴클레오티드 단편, 예컨대 개체로부터의 게놈 물질을 사용하여 제조된 라이브러리 (예를 들어, cDNA 라이브러리) 내의 폴리뉴클레오티드 단편이다. 개체로부터의 폴리뉴클레오티드 또는 단백질 샘플을 다형성에 대한 특이적 결합제와 접촉시키고, 상기 결합제가 폴리뉴클레오티드 또는 단백질과 결합하는지의 여부를 결정하는 것을 포함하며, 여기서 결합은 다형성이 존재한다는 것을 나타내는 것인 방법에서 다형

성을 검출할 수 있다. 결합체는 또한 다형성의 한쪽 또는 양쪽 측면 상의 플랭킹 뉴클레오티드 및 아미노산, 예를 들어 전체적으로 또는 각각의 측면 상의 적어도 2, 5, 10, 15개 또는 그 초과 플랭킹 뉴클레오티드 또는 아미노산에 결합할 수 있다. 다형성의 존재가 폴리뉴클레오티드에서 결정되는 경우에, 이는 이중 가닥 형태에서 검출될 수 있지만, 전형적으로는 단일 가닥 형태에서 검출된다.

[0065] 결합체는 전형적으로 적어도 10개 뉴클레오티드, 예를 들어 적어도 15, 20, 30개, 또는 그 초과 뉴클레오티드 길이인 폴리뉴클레오티드 (단일 또는 이중 가닥)일 수 있다. 상기 방법에서 사용되는 폴리뉴클레오티드 작용제는 일반적으로 관심 다형성 및 플랭킹 서열에 서열 특이적 방식으로 결합할 것이고 (예를 들어, 왓슨-크릭 염기 쌍형성에 따라 혼성화됨), 따라서 전형적으로 다형성 및 플랭킹 영역의 서열에 완전히 또는 부분적으로 상보적인 서열을 갖는다. 결합체는 왓슨-크릭 염기 쌍형성에 참여할 수 있는 단위 (예컨대, 퓨린 또는 피리미딘 유사체, 펩티드 핵산, 또는 RNA 유도체, 예컨대 잠금 핵산 (LNA))를 포함하는, 폴리뉴클레오티드와 구조적으로 유사한 분자일 수 있다. 결합체는 전형적으로 적어도 10개 아미노산, 예컨대 적어도 20, 30, 50, 또는 100개 또는 그 초과 아미노산 길이인 단백질일 수 있다. 결합체는 항체 (다형성에 결합할 수 있는 이러한 항체의 단편 포함)일 수 있다.

[0066] 본 방법의 한 실시양태에서, 결합체는 프로브로서 사용된다. 프로브는 표지될 수 있거나, 또는 간접적으로 표지될 수 있다. 표지 검출을 사용하여 개체의 폴리뉴클레오티드 또는 단백질 상의 (이에 결합된) 프로브의 존재를 검출할 수 있다. 폴리뉴클레오티드 또는 단백질에 대한 프로브의 결합을 사용하여 프로브 또는 폴리뉴클레오티드 또는 단백질을 고정할 수 있다 (따라서 이를 하나의 조성물 또는 용액으로부터 분리할 수 있음).

[0067] 본 발명의 또 다른 실시양태에서는, 개체의 폴리뉴클레오티드 또는 단백질을 고체 지지체 상에 고정시킨 다음, 프로브와 접촉시킨다. 이어서, (다형성에 대한 프로브의 결합을 통해) 고체 지지체에 고정된 프로브의 존재를 프로브 상의 표지를 검출함으로써 직접적으로 또는 프로브를 프로브에 결합하는 모이어터와 접촉시킴으로써 간접적으로 검출한다. 폴리뉴클레오티드 다형성을 검출하는 경우에, 고체 지지체는 일반적으로 니트로셀룰로스 또는 나일론으로 제조된다. 단백질 다형성의 경우에, 방법은 ELISA 시스템을 기반으로 할 수 있다.

[0068] 본 방법은 2개의 올리고뉴클레오티드 프로브가 사용되는 올리고뉴클레오티드 라이게이션 검정을 기반으로 할 수 있다. 이들 프로브를 다형성을 함유하는 폴리뉴클레오티드 상의 인접 구역에 결합시켜, (결합 후) 2개의 프로브가 적절한 리가제 효소에 의해 함께 라이게이션되도록 한다. 그러나, 2개의 프로브는 다형성을 함유하는 폴리뉴클레오티드에만 (라이게이션을 허용하는 방식으로) 결합할 것이므로, 라이게이션된 생성물의 검출은 다형성의 존재를 결정하는데 사용될 수 있다.

[0069] 한 실시양태에서, 헤테로듀플렉스 분석 기반 시스템에서 프로브를 사용하여 다형성을 검출한다. 이러한 시스템에서, 프로브가 다형성을 함유하는 폴리뉴클레오티드 서열에 결합한 경우에, 이는 다형성이 발생하는 부위에서 헤테로듀플렉스를 형성한다 (즉, 이중 가닥 구조를 형성하지 않음). 이러한 헤테로듀플렉스 구조는 단일 또는 이중 가닥 특이적인 효소를 사용함으로써 검출될 수 있다. 전형적으로, 프로브는 RNA 프로브이고, 사용되는 효소는 헤테로듀플렉스 영역을 절단하는 RNase H이므로, 절단 생성물의 검출에 의해 다형성이 검출되도록 한다.

[0070] 상기 방법은, 예를 들어 문헌 [PCR Methods and Applications 3:268-71 (1994) 및 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:4397-4401 (1998)]에 기재되어 있는 형광 화학적 절단 미스매치 분석을 기반으로 할 수 있다.

[0071] 한 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 작용제는 다형성을 함유하는 폴리뉴클레오티드에 결합하는 경우에만 PCR 반응을 위한 프라이머로서 작용할 수 있다 (즉, 서열- 또는 대립유전자-특이적 PCR 시스템). 따라서, PCR 생성물은 다형성이 개체의 폴리뉴클레오티드 내에 존재하는 경우에만 생성될 것이고, PCR 생성물의 검출에 의해 다형성의 존재가 결정된다. 바람직하게는, 다형성에 상보적인 프라이머의 영역은 프라이머의 3' 단부에 또는 그 근처에 있다. 상기 시스템의 한 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 작용제는 야생형 서열에 결합할 것이지만, PCR 반응을 위한 프라이머로서 작용하지는 않을 것이다.

[0072] 상기 방법은 제한 단편 길이 다형성 (RFLP) 기반 시스템일 수 있다. 이는 폴리뉴클레오티드 내의 다형성의 존재가 제한 효소가 인식하는 제한 부위를 생성시키거나 또는 파괴하는 경우에 사용될 수 있다. 따라서, 이러한 다형성을 갖는 폴리뉴클레오티드의 처리는 상응하는 야생형 서열과 비교하여 상이한 생성물을 유발할 것이다. 따라서, 특정 제한 소화 생성물의 존재의 검출을 사용하여 다형성의 존재를 결정할 수 있다.

[0073] 겔 전기영동 동안 폴리뉴클레오티드 또는 단백질의 이동성에 대해 다형성의 존재가 일으키는 변화를 기반으로 하여 다형성의 존재를 결정할 수도 있다. 폴리뉴클레오티드의 경우에, 단일-가닥 입체형태 다형성 (SSCP) 분석이 사용될 수 있다. 이는 상응하는 야생형 폴리뉴클레오티드와 비교한 변성 겔 상에서의 단일 가닥 폴리뉴클레

오티드의 이동성을 측정하고, 이동성에서의 차이의 검출은 다형성의 존재를 나타낸다. 변성 구배 겔 전기영동 (DGGE)은 변성 구배를 갖는 겔을 통해 폴리뉴클레오티드를 전기영동하고, 상응하는 야생형 폴리뉴클레오티드와 비교한 이동성에서의 차이는 다형성의 존재를 나타내는 것인 유사한 시스템이다.

- [0074] 형광 염료 및 켄칭제-기반 PCR 검정, 예컨대 택맨(TAQMAN)<sup>TM</sup> PCR 검출 시스템을 사용하여 다형성의 존재를 결정할 수도 있다. 다형성을 검출하는 또 다른 방법에서는, 다형성 영역을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 다형성을 함유하는 영역에 걸쳐 서열분석하여, 다형성의 존재를 결정한다.
- [0075] 본 방법에서 사용하기에 적합한 다양한 다른 검출 기술은 다형성을 검출, 확인 및/또는 구별하는 방법에 친숙한 이들에게 명백할 것이다. 이러한 검출 기술은 직접 서열분석, "분자 비콘(molecular beacon)" (실시간 형광 PCR에 유용한, 혼성화 시 형광을 나타내는 올리고뉴클레오티드 프로브; 예를 들어, 문헌 [Marras et al., Genet Anal 14:151 (1999)] 참조)의 사용; 전기화학적 검출 (DNA 염기 또는 당의 환원 또는 산화; 토프(Thorp) 등의 미국 특허 번호 5,871,918 참조); 롤링 썬클(rolling circle) 증폭 (예를 들어, 문헌 [Gusev et al., Am J Pathol 159:63 (2001)] 참조); 써드 웨이브 테크놀로지스(Third Wave Technologies) (위스콘신주 매디슨)의 인베이더(INVADER)<sup>®</sup> 비-PCR 기반 검출 방법 (예를 들어, 문헌 [Lieder, Advance for Laboratory Managers, 70 (2000)] 참조)을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0076] 따라서, 당업계에 공지된 바와 같은 임의의 적합한 검출 기술이 본 방법에서 사용될 수 있다.
- [0077] 본원에 사용된 바와 같은, 대상체의 유전자형을 "결정하는 것"은, 대상체가 이전에 유전자형 결정되었고, 이전의 유전자 검사 결과가 이용가능한 경우에는 유전자형 결정 기술을 수행하는 것을 필요로 하지 않으므로; 대상체의 유전자형을 결정하는 것은 이전에 완료된 유전자 분석을 지칭하는 것을 포함한다.
- [0078] 본 발명은 또한 예측 (환자 관리) 시험 또는 시험 키트를 제공한다. 이러한 시험은 유전자형과 치료 화합물에 대한 표현형 반응 사이의 예정된 연관성에 기초하여 티로신 키나제 억제제, 예컨대 라파티닙을 포함하는 제약 화합물의 치료 용도를 보조할 것이다. 이러한 시험은 하기를 포함하는 상이한 포맷을 취할 수 있다:
- [0079] (a) 예정된 대립유전자 및/또는 다형성의 존재에 대해 DNA 또는 RNA를 분석하는 시험. 적절한 시험 키트는 하기의 시약 또는 기구 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 폴리뉴클레오티드 상에 작용할 수 있는 효소 (전형적으로 폴리머라제 또는 제한 효소), 효소 시약에 적합한 완충제, 다형성에 플랭킹된 영역에 결합하는 PCR 프라이머, 양성 또는 음성 대조군 (또는 둘 다), 및 겔 전기영동 장치. 생성물은 기술 현황에 기재된 바와 같은 칩 기술 중 하나를 이용할 수 있다. 시험 키트는 특정한 유전자형의 존재와 특정한 제약 화합물로 치료된 대상체가 과민 반응을 경험할 가능성 사이의 상관관계를 기재한 인쇄되거나 또는 기계에서 판독가능한 지침서를 포함할 것이다;
- [0080] (b) 예정된 다형성 또는 대립유전자의 존재를 나타내는 대상체의 신체로부터 유도된 물질, 예컨대 단백질 또는 대사물을 분석하는 시험. 적절한 시험 키트는 예정된 다형성 영역 (또는 다형성에 플랭킹된 특정한 영역)에 특이적으로 결합하는 분자, 압타머, 펩티드 또는 항체 (항체 단편 포함)를 포함할 수 있다. 키트는 하나 이상의 추가의 시약 또는 기구 (당업계에 공지된 바와 같은 것)를 추가로 포함할 수 있다. 시험 키트는 또한 특정한 다형성 또는 유전자형의 존재와 특정한 합성 뉴클레오티드 유사체로 치료된 대상체가 정의된 표현형, 반응 또는 임상 결과를 경험할 가능성 사이의 상관관계를 기재한 인쇄되거나 또는 기계에서 판독가능한 지침서를 포함할 것이다.
- [0081] 시험하기에 적합한 생물학적 시편은 세포 및 DNA를 포함하는 것이고, 혈액 또는 혈액 성분, 건조 혈반, 요, 협측 면봉채취물 및 타액을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 유전자 검사 및 펩티드/단백질 검사에 적합한 샘플은 당업계에 익히 공지되어 있다.
- [0082] 전형적으로, 치료할 감수성 종양에 대한 활성을 갖는 임의의 항신생물제를 본 발명에서의 암의 치료에서 공투어할 수 있다. 이러한 작용제의 예는 문헌 [Cancer Principles and Practice of Oncology by V.T. Devita and S. Hellman (editors), 6<sup>th</sup> edition (February 15, 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers]에서 찾아볼 수 있다. 당업자는 작용제의 조합물이 약물 및 관련된 암의 특정한 특징에 기반하여 유용할 것인지를 인지할 수 있을 것이다. 본 발명에 유용한 전형적 항신생물제는 항미세관제, 예컨대 디테르페노이드 및 빈카 알칼로이드; 백금 배위 착물; 알킬화제, 예컨대 질소 머스타드, 옥사자포스포린, 알킬술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠; 항생제, 예컨대 안트라시클린, 악티노마이신 및 블레오마이신; 토포이소머라제 II 억제제, 예컨대 에피도도필로톡신; 항대사물, 예컨대 퓨린 및 피리미딘 유사체 및 항플레이트 화합물; 토포이소머라제 I 억제제, 예컨대 캄프토테신; 호르몬 및 호르몬 유사체; 신호 전달 경로 억제제; 비-수용체 티로신 키나제 혈관

신생 억제제; 면역요법제; 아포토시스 촉진제; 및 세포 주기 신호전달 억제제를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

- [0083] 항미세관제 또는 항유사분열제는 세포 주기의 M기 또는 유사분열기 동안 종양 세포의 미세관에 대해 활성인 단계 특이적 작용제이다. 항미세관제의 예는 디테르페노이드 및 빈카 알칼로이드를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0084] 천연 공급원으로부터 유도된 디테르페노이드는 세포 주기의 G<sub>2</sub>/M기에서 작동하는 단계 특이적 항암제이다. 디테르페노이드는 미세관과 결합하여 그 단백질의 β-튜블린 서브유닛을 안정화시키는 것으로 여겨진다. 이어서, 상기 단백질의 해체가 억제되어 유사분열이 정지되고 세포 사멸이 이어지는 것으로 보인다. 디테르페노이드의 예는 파클리탁셀 및 그의 유사체 도세탁셀을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0085] 파클리탁셀, (2R,3S)-N-벤조일-3-페닐이소세린과의 5β,20-에폭시-1,2α,4,7β,10β,13α-헥사-히드록시탁스-11-엔-9-온 4,10-디아세이트 2-벤조에이트 13-에스테르는 태평양 주목 탁수스 브레비폴리아(Taxus brevifolia)로부터 단리된 천연 디테르펜 생성물이고, 주사액 탁솔(TAXOL)®로서 상업적으로 입수가능하다. 이는 테르펜의 탁산 패밀리의 구성원이다. 이는 1971년에 와니(Wani) 등 (문헌 [J. Am. Chem. Soc., 93:2325, 1971])에 의해 최초로 단리되었으며, 이들은 화학적 방법 및 X선 결정학적 방법에 의해 그의 구조를 특성화하였다. 그의 활성에 대한 하나의 메카니즘은 튜블린에 결합함으로써 암 세포 성장을 억제하는 파클리탁셀의 능력에 관한 것이다 (문헌 [Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277:665-667 (1979); Kumar, J. Biol. Chem, 256: 10435-10441 (1981)]). 일부 파클리탁셀 유도체의 합성 및 항암 활성의 검토에 대해서는 문헌 [D. G. I. Kingston et al., Studies in Organic Chemistry vol. 26, entitled "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Amsterdam, 1986) pp 219-235]을 참조한다.
- [0086] 파클리탁셀은 미국에서 불응성 난소암의 치료에서의 임상 용도 (문헌 [Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire et al., Ann. Intem. Med., 111:273,1989]) 및 유방암의 치료 (문헌 [Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83:1797,1991])에 대해 승인되었다. 이는 피부에서의 신생물 (문헌 [Einzig et. al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46]) 및 두경부 암종 (문헌 [Forastire et. al., Sem. Oncol., 20:56, 1990])의 치료에 대한 잠재적 후보이다. 상기 화합물은 또한 다낭성 신장 질환 (문헌 [Woo et. al., Nature, 368:750, 1994]), 폐암 및 말라리아의 치료에 대한 잠재력을 나타낸다. 파클리탁셀에 의한 환자의 치료는 역치 농도 (50nM)를 초과하는 투여의 지속기간과 관련된 골수 억제 (다중 세포 계통, 문헌 [Ignoff, R.J. et. al., Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998])를 유발한다 (문헌 [Kearns, C.M. et. al., Seminars in Oncology, 3(6) p.16-23, 1995]).
- [0087] 도세탁셀, (2R,3S)-N-카르복시-3-페닐이소세린, N-tert-부틸 에스테르, 5β-20-에폭시-1,2α,4,7β,10β,13α-헥사히드록시탁스-11-엔-9-온 4-아세이트 2-벤조에이트와의 13-에스테르, 3수화물은 탁소테레(TAXOTERE)®로서의 주사액으로서 상업적으로 입수가능하다. 도세탁셀은 유방암의 치료에 대해 지시된다. 도세탁셀은 유럽 주목의 침엽으로부터 추출된 천연 전구체, 10-데아세틸-바카틴 III를 사용하여 제조된, 파클리탁셀 q.v.의 반합성 유도체이다. 도세탁셀의 용량 제한 독성은 호중구감소증이다.
- [0088] 빈카 알칼로이드는 페리윙클 식물로부터 유도된 단계 특이적 항신생물제이다. 빈카 알칼로이드는 튜블린에 특이적으로 결합함으로써 세포 주기의 M기 (유사분열)에서 작용한다. 결과적으로, 결합된 튜블린 분자는 미세관으로 중합될 수 없다. 유사분열이 중기에서 정지되어 세포 사멸이 이어지는 것으로 여겨진다. 빈카 알칼로이드의 예는 빈블라스틴, 빈크리스틴 및 비노렐빈을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0089] 빈블라스틴, 빈카류코블라스틴 술페이트는 주사액으로서의 벨반(VELBAN)®으로서 상업적으로 입수가능하다. 이는 다양한 고품 종양의 2차 요법으로서 지시되는 것이 가능하지만, 주로 고환암 및 다양한 림프종, 예컨대 호지킨병; 및 림프구성 및 조직구성 림프종의 치료에서 지시된다. 골수억제가 빈블라스틴의 용량 제한 부작용이다.
- [0090] 빈크리스틴, 빈카류코블라스틴, 22-옥소-, 술페이트는 주사액으로서의 온코빈(ONCOVIN)®으로서 상업적으로 입수가능하다. 빈크리스틴은 급성 백혈병의 치료에 대해 지시되며, 또한 호지킨 및 비-호지킨 악성 림프종을 위한 치료 요법에서의 용도가 발견되었다. 탈모증 및 신경학적 효과가 빈크리스틴의 가장 흔한 부작용이며, 그보다 덜한 정도로 골수억제 및 위장 점막염 효과가 발생한다.
- [0091] 비노렐빈 타르트레이트 (나벨빈(NAVELBINE)®)의 주사액으로서 상업적으로 입수가능한 비노렐빈, 3',4'-디데히

드로-4'-데옥시-C'-노르빈카리코블라스틴 [R-(R',R'')-2,3-디히드록시부탄디오에이트 (1:2)(염)]은 반합성 빈카알칼로이드이다. 비노렐빈은 다양한 고형 종양, 특히 비-소세포 폐암, 진행성 유방암 및 호르몬 불응성 전립선암의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제, 예컨대 시스플라틴과 조합하여 지시된다. 골수억제가 비노렐빈의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.

- [0092] 백금 배위 착물은 DNA와 상호작용하는 비-단계 특이적 항암제이다. 백금 착물은 종양 세포에 진입하고, 수화를 겪고, DNA와 가닥내 및 가닥간 가교를 형성하여 종양에 유해한 생물학적 작용을 야기한다. 백금 배위 착물의 예는 시스플라틴 및 카르보플라틴을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0093] 시스플라틴, 시스-디아민디클로로백금은 주사액으로서의 플라티놀(PLATINOL)®로서 상업적으로 입수가능하다. 시스플라틴은 주로 전이성 고환암 및 난소암 및 진행성 방광암의 치료에서 지시된다. 시스플라틴의 주요 용량 제한 부작용은 수화 및 이뇨에 의해 제어될 수 있는 신독성, 및 이독성이다.
- [0094] 카르보플라틴, 백금, 디암민 [1,1-시클로부탄-디카르복실레이트(2-)-0,0']은 주사액으로서의 파라플라틴(PARAPLATIN)®으로서 상업적으로 입수가능하다. 카르보플라틴은 주로 진행성 난소 암종의 1차 및 2차 치료에서 지시된다. 골수 억제가 카르보플라틴의 용량 제한 독성이다.
- [0095] 알킬화제는 비-단계 특이적 항암제 및 강력한 친전자체이다. 전형적으로, 알킬화제는 DNA 분자의 친핵성 모이머티, 예컨대 포스페이트, 아미노, 술프히드릴, 히드록실, 카르복실, 및 이미다졸 기를 통한 DNA에 대한 공유 연결을 알킬화에 의해 형성한다. 이러한 알킬화는 핵산 기능을 파괴하여 세포 사멸을 유발한다. 알킬화제의 예는 질소 머스타드, 예컨대 시클로포스파미드, 멜팔란 및 클로람부실; 알킬 술포네이트, 예컨대 부술판; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴; 및 트리아젠, 예컨대 다카르바진을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0096] 시클로포스파미드, 2-[비스(2-클로로에틸)아미노]테트라히드로-2H-1,3,2-옥사자포스포린 2-옥시드 1수화물은 시톡산(CYTOXAN)®으로서의 주사액 또는 정제로서 상업적으로 입수가능하다. 시클로포스파미드는 악성 림프종, 다발성 골수종 및 백혈병의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된다. 탈모증, 오심, 구토 및 백혈구감소증이 시클로포스파미드의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0097] 멜팔란, 4-[비스(2-클로로에틸)아미노]-L-페닐알라닌은 알케란(ALKERAN)®으로서의 주사액 또는 정제로서 상업적으로 입수가능하다. 멜팔란은 다발성 골수종, 및 난소의 비-절제가능한 상피 암종의 완화적 치료에 대해 지시된다. 골수 억제가 멜팔란의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0098] 클로람부실, 4-[비스(2-클로로에틸)아미노]벤젠부탄산은 류케란(LEUKERAN)® 정제로서 상업적으로 입수가능하다. 클로람부실은 만성 림프 백혈병, 및 악성 림프종, 예컨대 림프육종, 거대 여포성 림프종, 및 호지킨병의 완화적 치료에 대해 지시된다. 골수 억제가 클로람부실의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0099] 부술판, 1,4-부탄디올 디메탄술포네이트는 밀레란(MYLERAN)® 정제로서 상업적으로 입수가능하다. 부술판은 만성 골수 백혈병의 완화적 치료에 대해 지시된다. 골수 억제가 부술판의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0100] 카르무스틴, 1,3-[비스(2-클로로에틸)-1-니트로소우레아는 BiCNU®로서의 동결건조된 물질의 단일 바이알로서 상업적으로 입수가능하다. 카르무스틴은 뇌 종양, 다발성 골수종, 호지킨병 및 비-호지킨 림프종을 위해 단일 작용제로서 또는 다른 작용제와 조합하여 완화적 치료에 대해 지시된다. 지연된 골수억제가 카르무스틴의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0101] 다카르바진, 5-(3,3-디메틸-1-트리아제노)-이미다졸-4-카르복사미드는 DTIC-Dome®로서의 물질의 단일 바이알로서 상업적으로 입수가능하다. 다카르바진은 전이성 악성 흑색종의 치료에 대해 및 호지킨병의 2차 치료에 대해 다른 작용제와 조합하여 지시된다. 오심, 구토 및 식욕부진이 다카르바진의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0102] 항생 항신생물제는 DNA와 결합하거나 또는 그에 삽입되는 비-단계 특이적 작용제이다. 전형적으로, 이러한 작용은 안정한 DNA 복합체 또는 가닥 파괴를 생성하여, 핵산의 통상적인 기능을 파괴함으로써 세포 사멸을 유발한다. 항생 항신생물제의 예는 악티노마이신, 예컨대 닥티노마이신, 안트로시클린, 예컨대 다우노루비신 및 독소루비신; 및 블레오마이신을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0103] 악티노마이신 D로도 공지되어 있는 닥티노마이신은 코스메겐(COSMEGEN)®으로서의 주사가 가능한 형태로서 상업적으로 입수가능하다. 닥티노마이신은 윌름스 종양 및 횡문근육종의 치료에 대해 지시된다. 오심, 구토 및 식욕부진이 닥티노마이신의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.

- [0104] 다우노루비신, (8S-시스-)-8-아세틸-10-[(3-아미노-2,3,6-트리데옥시- $\alpha$ -L-리ixo-헥소피라노실)옥시]-7,8,9,10-테트라히드로-6,8,11-트리히드록시-1-메톡시-5,12 나프타센디온 히드로클로라이드는 다우녹숨(DAUNOXOME)®으로서의 리포솜 주사가 가능한 형태로서 또는 세루비딘(CERUBIDINE)®으로서의 주사가 가능한 형태로서 상업적으로 입수가능하다. 다우노루비신은 급성 비립프모구성 백혈병 및 진행성 HIV 연관 카포시 육종의 치료에 서 완화 유도에 대해 지시된다. 골수억제가 다우노루비신의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0105] 독소루비신, (8S, 10S)-10-[(3-아미노-2,3,6-트리데옥시- $\alpha$ -L-리ixo-헥소피라노실)옥시]-8-글리콜로일, 7,8,9,10-테트라히드로-6,8,11-트리히드록시-1-메톡시-5,12 나프타센디온 히드로클로라이드는 루벡스(RUBEX)® 또는 아드리아마이신 RDF(ADRIAMYCIN RDF)®로서의 주사가 가능한 형태로서 상업적으로 입수가능하다. 독소루비신 은 주로 급성 림프모구성 백혈병 및 급성 골수모구성 백혈병의 치료에 대해 지시되지만, 일부 고형 종양 및 림 프종의 치료에도 유용한 성분이다. 골수억제가 독소루비신의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0106] 스트렙토미세스 베르티실루스(*Streptomyces verticillus*)의 균주로부터 단리된 세포독성 당펩티드 항생제의 혼 합물인 블레오마이신은 블레녹산(BLENOXANE)®으로서 상업적으로 입수가능하다. 블레오마이신은 편평 세포 암 종, 림프종 및 고환 암종의 완화적 치료로서 단일 작용제로서 또는 다른 작용제와 조합하여 지시된다. 폐 및 피부 독성이 블레오마이신의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0107] 토포이소머라제 II 억제제는 에피포도필로톡신을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0108] 에피포도필로톡신은 맨드레이크 식물로부터 유도된 단계 특이적 항신생물제이다. 에피포도필로톡신은 전형적으 로 토포이소머라제 II 및 DNA와 함께 3원 복합체를 형성하여 DNA 가닥 파괴를 야기함으로써 세포 주기의 S 및 G<sub>2</sub>기에 있는 세포에 영향을 미친다. 가닥 파괴가 축적되어 세포 사멸이 이어진다. 에피포도필로톡신의 예는 에 토포시드 및 테니포시드를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0109] 에토포시드, 4'-데메틸-에피포도필로톡신 9[4,6-O-(R)-에틸리덴- $\beta$ -D-글루코피라노시드]는 베페시드(VePESID)® 로서의 주사액 또는 캡슐로서 상업적으로 입수가능하고, 통상적으로 VP-16으로서 공지되어 있다. 에토포시드는 고환암 및 비-소세포 폐암의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된다. 골수억제 가 에토포시드의 가장 흔한 부작용이다. 백혈구감소증의 발생률이 혈소판감소증보다 심각한 경향이 있다.
- [0110] 테니포시드, 4'-데메틸-에피포도필로톡신 9[4,6-O-(R)-테닐리덴- $\beta$ -D-글루코피라노시드]는 부몬(VUMON)®으로서 의 주사액으로서 상업적으로 입수가능하고, 통상적으로 VM-26으로서 공지되어 있다. 테니포시드는 소아에서의 급성 백혈병의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된다. 골수억제가 테니포시드 의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다. 테니포시드는 백혈구감소증 및 혈소판감소증 둘 다를 유발할 수 있다.
- [0111] 항대사물 신생물제는 DNA 합성을 억제하거나, 또는 퓨린 또는 피리미딘 염기 합성을 억제하여 DNA 합성을 제한 함으로써 세포 주기의 S기 (DNA 합성)에서 작용하는 단계 특이적 항신생물제이다. 결과적으로, S기는 진행되지 않고, 세포 사멸이 이어진다. 항대사물 항신생물제의 예는 플루오로우라실, 메토티렉세이트, 시타라빈, 메르캅 토포린, 티오구아닌 및 겐시타빈을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0112] 5-플루오로우라실, 5-플루오로-2,4-(1H,3H)피리미딘디온은 플루오로우라실로서 상업적으로 입수가능하다. 5-플 루오로우라실의 투여는 티미딜레이트 합성의 억제를 유발하고, 또한 RNA 및 DNA 둘 다로 혼입된다. 그 결과는 전형적으로 세포 사멸이다. 5-플루오로우라실은 유방, 결장, 직장, 위 및 췌장 암종의 치료에서 단일 작용제로 서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된다. 골수억제 및 점막염이 5-플루오로우라실의 용량 제한 부작용이 다. 다른 플루오로피리미딘 유사체는 5-플루오로 테옥시우리딘 (플록수리딘) 및 5-플루오로데옥시우리딘 모노 포스페이트를 포함한다.
- [0113] 시타라빈, 4-아미노-1- $\beta$ -D-아라비노푸라노실-2(1H)-피리미디논은 시토사르-U(CYTOSAR-U)®로서 상업적으로 입 수가능하며, 통상적으로 Ara-C로서 공지되어 있다. 시타라빈은 성장하는 DNA 채 내로의 시타라빈의 말단 혼입 에 의해 DNA 채 신장을 억제함으로써 S-기에서 세포 단계 특이성을 나타낸다고 여겨진다. 시타라빈은 급성 백 혈병의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된다. 다른 시티딘 유사체는 5-아자시 티딘 및 2',2'-디플루오로데옥시시티딘 (겐시타빈)을 포함한다. 시타라빈은 백혈구감소증, 혈소판감소증 및 점 막염을 유발한다.
- [0114] 메르캅토포린, 1,7-디히드로-6H-퓨린-6-티온 1수화물은 퓨린톨(PURINETHOL)®로서 상업적으로 입수가능하다. 메르캅토포린은 아직까지 상세불명인 메카니즘에 의해 DNA 합성을 억제함으로써 S-기에서 세포 단계 특이성을 나타낸다. 메르캅토포린은 급성 백혈병의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된

다. 골수억제 및 위장 점막염이 고용량에서의 메르캅토피린의 예상되는 부작용이다. 유용한 메르캅토피린 유사체는 아자티오프린이다.

- [0115] 티오구아닌, 2'-아미노-1,7-디히드로-6H-퓨린-6-티온은 타블로이드(TABLOID)®로서 상업적으로 입수가 가능하다. 티오구아닌은 아직까지 상세불명인 메카니즘에 의해 DNA 합성을 억제함으로써 S-기에서 세포 단계 특이성을 나타낸다. 티오구아닌은 급성 백혈병의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된다. 백혈구감소증, 혈소판감소증 및 빈혈을 비롯한 골수억제가 티오구아닌 투여의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다. 그러나, 위장 부작용이 발생하며, 용량 제한적일 수 있다. 다른 퓨린 유사체는 펜토스타틴, 에리트로히드록시노닐아데닌, 플루다라빈 포스페이트 및 클라드리빈을 포함한다.
- [0116] 겐시타빈, 2'-데옥시-2',2'-디플루오로시티딘 모노히드로클로라이드 ( $\beta$ -이성질체)는 겐자르(GEMZAR)®로서 상업적으로 입수가 가능하다. 겐시타빈은 S-기에서 및 G1/S 경계를 통한 세포 진행의 차단에 의해 세포 단계 특이성을 나타낸다. 겐시타빈은 국소 진행성 비-소세포 폐암의 치료에서 시스플라틴과 조합하여 지시되고, 국소 진행성 췌장암의 치료에서 단독으로 지시된다. 백혈구감소증, 혈소판감소증 및 빈혈을 비롯한 골수억제가 겐시타빈 투여의 가장 흔한 용량 제한 부작용이다.
- [0117] 메토티렉세이트, N-[4[[[(2,4-디아미노-6-프테리디닐)메틸]메틸아미노]벤조일]-L-글루탐산은 메토티렉세이트 나트륨으로서 상업적으로 입수가 가능하다. 메토티렉세이트는 퓨린 뉴클레오티드 및 티미딜레이트의 합성에 필요한 디히드로폴산 리덕타제의 억제를 통해 DNA 합성, 복구 및/또는 복제를 억제함으로써 S-기에서 특이적으로 세포 단계 효과를 나타낸다. 메토티렉세이트는 용모막암증, 수막 백혈병, 비-호지킨 림프종, 및 유방, 두부, 경부, 난소 및 방광 암종의 치료에서 단일 작용제로서 또는 다른 화학요법제와 조합하여 지시된다. 골수억제 (백혈구감소증, 혈소판감소증 및 빈혈) 및 점막염이 메토티렉세이트 투여의 예상되는 부작용이다.
- [0118] 캄프토테신 및 캄프토테신 유도체를 비롯한 캄프토테신은 토포이소머라제 I 억제제로서 이용가능하거나 또는 개발 중에 있다. 캄프토테신 세포독성 활성은 그의 토포이소머라제 I 억제 활성과 관련된 것으로 여겨진다. 캄프토테신의 예는 이리노테칸, 토포테칸, 및 하기 기재된 7-(4-메틸피페라지노-메틸렌)-10,11-에틸렌디옥시-20-캄프토테신의 다양한 광학 형태를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0119] 이리노테칸 HCl, (4S)-4,11-디에틸-4-히드록시-9-[(4-피페리디노피페리디노) 카르보닐옥시]-1H-피라노[3',4',6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14(4H,12H)-디온 히드로클로라이드는 주사액 캄프토사르(CAMPTOSAR)®로서 상업적으로 입수가 가능하다.
- [0120] 이리노테칸은 그의 활성 대사물 SN-38과 함께 토포이소머라제 I-DNA 복합체에 결합하는 캄프토테신의 유도체이다. 세포독성은 토포이소머라제 I:DNA:이리노테칸 또는 SN-38 3원 복합체와 복제 효소의 상호작용에 의해 야기되는 복구불가능한 이중 가닥 파괴의 결과로서 발생하는 것으로 여겨진다. 이리노테칸은 결장 또는 직장의 전이성 암의 치료에 대해 지시된다. 이리노테칸 HCl의 용량 제한 부작용은 호중구감소증을 비롯한 골수억제, 및 설사를 비롯한 GI 효과이다.
- [0121] 토포테칸 HCl, (S)-10-[(디메틸아미노)메틸]-4-에틸-4,9-디히드록시-1H-피라노[3',4',6,7]인돌리지노[1,2-b]퀴놀린-3,14-(4H,12H)-디온 모노히드로클로라이드는 주사액 하이캄틴(HYCANTIN)®으로서 상업적으로 입수가 가능하다. 토포테칸은, 토포이소머라제 I-DNA 복합체에 결합하고, DNA 분자의 비틀림 변형에 대한 반응으로 토포이소머라제 I에 의해 야기되는 단일 가닥 파괴가 다시 라이게이션되는 것을 방지하는 캄프토테신의 유도체이다. 토포테칸은 난소암 및 소세포 폐암의 전이성 암종의 2차 치료에 대해 지시된다. 토포테칸 HCl의 용량 제한 부작용은 골수억제, 주로 호중구감소증이다.
- [0122] 리투시맵은 리투산(RITUXAN)® 및 맵테라(MABTHERA)®로서 시판되는 키메라 모노클로날 항체이다. 리투시맵은 B 세포 상의 CD20에 결합하고, 세포 아포토시스를 야기한다. 리투시맵은 정맥내로 투여되고, 류마티스 관절염 및 B-세포 비-호지킨 림프종의 치료에 대해 승인되었다.
- [0123] 오파투무맵은 아르제라(ARZERRA)®로서 시판되는 완전 인간 모노클로날 항체이다. 오파투무맵은 B 세포 상의 CD20에 결합하고, 플루다라빈 (플루다라(Fludara)) 및 알렘투주맵 (캄파트(Campath))으로의 치료에 불응성인 성인에서 만성 림프구성 백혈병 (CLL; 백혈구의 암의 유형)을 치료하는데 사용된다.
- [0124] 트라스투주맵 (헤렙틴(HEREPTIN)®)은 HER2 수용체에 결합하는 인간화 모노클로날 항체이다. 그의 원래의 적응증은 HER2 양성 유방암이다.
- [0125] 세투시맵 (에르비투스(ERBITUX)®)은 표피 성장 인자 수용체 (EGFR)를 억제하는 키메라 마우스 인간 항체이다.

[0126] 페르투주맵 (2C4로도 지칭됨, 상표명 옴니타르그(Omnitarg))은 모노클로날 항체이다. 작용제 계열의 그의 부류 중 첫번째는 "HER 이량체화 억제제"로 지칭된다. 이는 HER2에 결합함으로써, 다른 HER 수용체와 HER2의 이량체화를 억제하며, 이는 둔화된 종양 성장을 유발하는 것으로 가정된다. 페르투주맵은 2001년 1월 4일에 공개된 WO01/00245에 기재되어 있다.

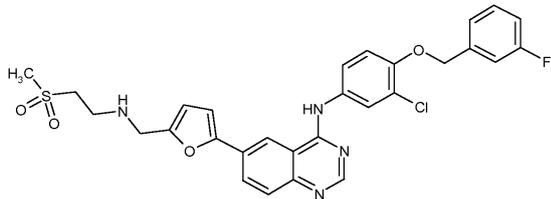
[0127] mTOR 억제제는 라파마이신 (FK506) 및 라파로그, RAD001 또는 에베롤리무스 (아피니토르(Afinitor)), CCI-779 또는 템시롤리무스, AP23573, AZD8055, WYE-354, WYE-600, WYE-687 및 Pp121을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0128] 벡사로텐은 탈그레틴(Targretin)®으로서 시판되고, 레티노이드 X 수용체 (RXR)를 선택적으로 활성화시키는 레티노이드의 하위부류의 구성원이다. 이들 레티노이드 수용체는 레티노산 수용체 (RAR)와 구별되는 생물학적 활성을 갖는다. 화학 명칭은 4-[1-(5,6,7,8-테트라히드로-3,5,5,8,8-펜타메틸-2-나프탈레닐)에테닐]벤조산이다. 벡사로텐은 질환이 적어도 하나의 다른 의약으로 성공적으로 치료할 수 없는 사람에서 피부 T-세포 림프종 (CTCL, 피부암의 유형)을 치료하는데 사용된다.

[0129] 넥사바르(Nexavar)®로 판매되는 소라페닙은 멀티키나제 억제제로 지칭되는 의약의 부류에 속한다. 그의 화학 명칭은 4-[4-[[4-클로로-3-(트리플루오로메틸)페닐]카르바모일아미노]페녹시]-N-메틸-피리딘-2-카르복스아미드이다. 소라페닙은 진행성 신세포 암종 (신장에서 시작되는 암의 유형)을 치료하는데 사용된다. 소라페닙은 또한 절제불가능한 간세포성 암종 (수술로 치료할 수 없는 간암의 유형)을 치료하는데 사용된다.

[0130] erbB 억제제의 예는 라파티닙, 에를로티닙 및 게피티닙을 포함한다. 라파티닙, N-(3-클로로-4-[(3-플루오로페닐)메틸]옥시)페닐)-6-[5-([2-(메틸술포닐)에틸]아미노)메틸]-2-푸라닐]-4-퀴나졸린아민 (하기 예시된 바와 같은 화학식 I에 의해 나타낸 것)은, HER2-양성 전이성 유방암의 치료에 대해 카페시타빈과의 조합에서 승인된, erbB-1 및 erbB-2 (EGFR 및 HER2) 티로신 키나제의 강력한 경구 소분자 이중 억제제이다.

[0131] <화학식 I>

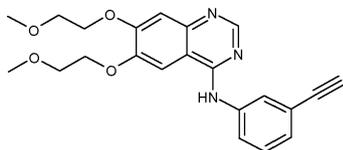


[0132]

[0133] 화학식 I의 화합물의 유리 염기, HCl 염 및 디토실레이트 염은 1999년 7월 15일에 공개된 WO 99/35146; 및 2002년 1월 10일에 공개된 WO 02/02552에 개시된 절차에 따라 제조될 수 있다.

[0134] 에를로티닙, N-(3-에틸닐페닐)-6,7-비스{[2-(메틸옥시)에틸]옥시}-4-퀴나졸린아민 (상표명 타르세바(Tarceva) 하에 상업적으로 입수가능함)은 하기 예시된 바와 같은 화학식 II에 의해 나타낸다.

[0135] <화학식 II>

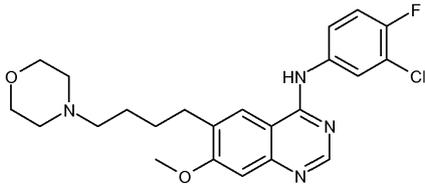


[0136]

[0137] 에를로티닙의 유리 염기 및 HCl 염은, 예를 들어 U.S. 5,747,498, 실시예 20에 따라 제조될 수 있다.

[0138] 게피티닙, 4-퀴나졸린아민, N-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-메톡시-6-[3-4-모르폴린]프로폭시]는 하기 예시된 바와 같은 화학식 III에 의해 나타낸다.

[0139] <화학식 III>

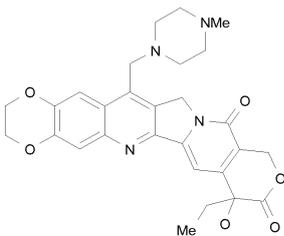


[0140]

[0141] 상표명 이레사(IRESSA)<sup>®</sup> (아스트라-제네카(Astra-Zeneca)) 하에 상업적으로 입수가 가능한 게피티닙은, 백금-기반 및 도세탁셀 화학요법 둘 다에서 실패한 후의, 국소 진행성 또는 전이성 비-소세포 폐암을 앓고 있는 환자의 치료에 대해 단독요법으로서 지시되는 erbB-1 억제제이다. 게피티닙의 유리 염기, HCl 염 및 diHCl 염은 1996년 4월 23일에 출원되고 1996년 10월 31일에 WO 96/33980으로서 공개된 국제 특허 출원 번호 PCT/GB96/00961의 절차에 따라 제조될 수 있다.

[0142] 또한 관심대상은 화학 명칭 "7-(4-메틸피페라지노-메틸렌)-10,11-에틸렌디옥시-20(R,S)-캄프토테신" (라세미 혼합물) 또는 "7-(4-메틸피페라지노-메틸렌)-10,11-에틸렌디옥시-20(R)-캄프토테신" (R 거울상이성질체) 또는 "7-(4-메틸피페라지노-메틸렌)-10,11-에틸렌디옥시-20(S)-캄프토테신" (S 거울상이성질체)으로 공지된, 라세미 혼합물 (R,S) 형태, 뿐만 아니라 R 및 S 거울상이성질체를 포함하는, 현재 개발 중인 하기 화학식 A의 캄프토테신 유도체이다.

[0143] <화학식 A>



[0144]

[0145] 이러한 화합물, 뿐만 아니라 관련 화합물은 제조 방법을 포함하여 미국 특허 번호 6,063,923; 5,342,947; 5,559,235; 5,491,237 및 1997년 11월 24일에 출원되어 계류 중인 미국 특허 출원 번호 08/977,217에 기재되어 있다.

[0146] 호르몬 및 호르몬 유사체는 호르몬(들)과 암의 성장 및/또는 성장 결여 사이에 관계가 존재하는 암을 치료하는데 유용한 화합물이다. 암 치료에 유용한 호르몬 및 호르몬 유사체의 예는 소아에서의 악성 림프종 및 급성 백혈병의 치료에 유용한 아드레노코르티코스테로이드, 예컨대 프레드니손 및 프레드니솔론; 부신피질 암종, 및 에스트로겐 수용체 함유 호르몬 의존성 유방 암종의 치료에 유용한 아미노글루테티미드 및 다른 아로마타제 억제제, 예컨대 아나스트로졸, 레트로졸, 보라졸 및 엑세메스탄; 호르몬 의존성 유방암 및 자궁내막 암종의 치료에 유용한 프로그에스트린, 예컨대 메게스트롤 아세테이트; 전립선 암종 및 양성 전립선 비대증의 치료에 유용한 에스트로겐, 안드로겐, 및 항안드로겐, 예컨대 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 시프로테론 아세테이트 및 5 $\alpha$ -리덕타제, 예컨대 피나스테리드 및 두타스테리드; 호르몬 의존성 유방 암종 및 다른 감수성 암의 치료에 유용한 항에스트로겐, 예컨대 타목시펜, 토레미펜, 알록시펜, 드롤록시펜, 아이오독시펜, 뿐만 아니라 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM), 예컨대 미국 특허 번호 5,681,835, 5,877,219 및 6,207,716에 기재된 것; 및 전립선 암종의 치료를 위한 황체형성 호르몬 (LH) 및/또는 여포 자극 호르몬 (FSH)의 방출을 자극하는 고티도트로핀-방출 호르몬 (GnRH) 및 그의 유사체, 예를 들어 LHRH 효능제 및 길항제, 예컨대 고세렐린 아세테이트 및 류프롤리드를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0147] 레트로졸 (상표명 페마라(Femara))은 수술 후 호르몬-반응성 유방암의 치료를 위한 경구 비-스테로이드성 아로마타제 억제제이다. 에스트로겐은 아로마타제 효소의 활성을 통한 안드로겐의 전환에 의해 생성된다. 이어서, 에스트로겐은 에스트로겐 수용체에 결합하여, 세포가 분열되도록 한다. 레트로졸은 아로마타제가 그의 시토크롬 P450 유닛의 헴에 대한 경쟁적 가역성 결합에 의해 에스트로겐을 생성하는 것을 방지한다. 상기 작용은 특이적이고, 레트로졸은 미네랄로- 또는 코르티코스테로이드의 생성을 감소시키지 않는다.

[0148] 신호 전달 경로 억제제는 세포내 변화를 일으키는 화학적 과정을 차단하거나 또는 억제하는 억제제이다. 본원

에 사용된 바와 같은 상기 변화는 세포 증식 또는 분화이다. 본 발명에 유용한 신호 전달 억제제는 수용체 티로신 키나제, 비-수용체 티로신 키나제, SH2/SH3 도메인 차단제, 세린/트레오닌 키나제, 포스포티딜 이노시톨-3 키나제, 미오-이노시톨 신호전달 및 Ras 종양유전자의 억제제를 포함한다.

- [0149] 몇몇 단백질 티로신 키나제는 세포 성장의 조절과 관련된 다양한 단백질 내의 특정한 티로실 잔기의 인산화에 촉매작용한다. 이러한 단백질 티로신 키나제는 수용체 또는 비-수용체 키나제로서 광범위하게 분류될 수 있다.
- [0150] 수용체 티로신 키나제는 세포의 리간드 결합 도메인, 막횡단 도메인 및 티로신 키나제 도메인을 갖는 막횡단 단백질이다. 수용체 티로신 키나제는 세포 성장의 조절과 관련되고, 일반적으로 성장 인자 수용체로 명명된다. 예를 들어, 과다발현 또는 돌연변이에 의한 다수의 이들 키나제의 부적절하거나 또는 탈제어된 활성화, 즉 비정상적인 키나제 성장 인자 수용체 활성화는 탈제어된 세포 성장을 유발하는 것으로 밝혀져 있다. 따라서, 이러한 키나제의 비정상적인 활성화는 악성 조직 성장과 연결되어 있다. 결과적으로, 이러한 키나제의 억제제는 암 치료 방법을 제공할 수 있다. 성장 인자 수용체는, 예를 들어 표피 성장 인자 수용체 (EGFr), 혈소판 유래 성장 인자 수용체 (PDGFr), erbB2, erbB4, 혈관 내피 성장 인자 수용체 (VEGFr), 이뮤노글로불린-유사 및 표피 성장 인자 상동성 도메인을 갖는 티로신 키나제 (TIE-2), 인슐린 성장 인자-I (IGFI) 수용체, 대식세포 콜로니 자극 인자 (cfms), BTK, ckit, cmet, 섬유모세포 성장 인자 (FGF) 수용체, Trk 수용체 (TrkA, TrkB 및 TrkC), 에프린 (eph) 수용체 및 RET 원종양유전자를 포함한다. 성장 수용체의 몇몇 억제제는 개발 중에 있고, 리간드 길항제, 항체, 티로신 키나제 억제제 및 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 성장 인자 수용체, 및 성장 인자 수용체 기능을 억제하는 작용제는, 예를 들어 문헌 [Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Vol 2, No. 2 February 1997; 및 Lofts, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC press 1994, London]에 기재되어 있다.
- [0151] 성장 인자 수용체 키나제가 아닌 티로신 키나제는 비-수용체 티로신 키나제로 명명된다. 항암 약물의 표적 또는 잠재적 표적인, 본 발명에 유용한 비-수용체 티로신 키나제는 cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (국소 부착 키나제), 브루톤 티로신 키나제 및 Bcr-Abl을 포함한다. 이러한 비-수용체 키나제, 및 비-수용체 티로신 키나제 기능을 억제하는 작용제는 문헌 [Sinh, S. and Corey, S.J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8 (5): 465-80; 및 Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual review of Immunology. 15: 371-404]에 기재되어 있다.
- [0152] SH2/SH3 도메인 차단제는, PI3-K p85 서브유닛, Src 패밀리 키나제, 어댑터 분자 (Shc, Crk, Nck, Grb2) 및 Ras-GAP를 비롯한 다양한 효소 또는 어댑터 단백질에서 SH2 또는 SH3 도메인 결합을 파괴하는 작용제이다. 항암 약물에 대한 표적으로서의 SH2/SH3 도메인은 문헌 [Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 34(3) 125-32]에 논의되어 있다.
- [0153] 세린/트레오닌 키나제의 억제제는 Raf 키나제 (rafk), 미토젠 또는 세포의 조절 키나제 (MEK) 및 세포의 조절 키나제 (ERK)의 차단제를 포함하는 MAP 키나제 캐스케이드 차단제; 및 PKC (알파, 베타, 감마, 엡실론, 뮤, 람다, 이오타, 제타)의 차단제를 비롯한 단백질 키나제 C 패밀리 구성원 차단제를 포함한다. Ikb 키나제 패밀리 (IKKa, IKKb), PKB 패밀리 키나제, AKT 키나제 패밀리 구성원 및 TGF 베타 수용체 키나제. 이러한 세린/트레오닌 키나제 및 그의 억제제는 문헌 [Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), Journal of Biochemistry. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., and Navab, R. (2000), Biochemical Pharmacology, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) Cancer Surveys. 27:41-64; Philip, P.A., and Harris, A.L. (1995), Cancer Treatment and Research. 78: 3-27, Lackey, K. et al Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226]; 미국 특허 번호 6,268,391; 및 문헌 [Martinez-Iacaci, L., et al, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52]에 기재되어 있다.
- [0154] PI3-키나제, ATM, DNA-PK 및 Ku의 차단제를 비롯한 포스포티딜 이노시톨-3 키나제 패밀리 구성원의 억제제 또한 본 발명에 유용하다. 이러한 키나제는 문헌 [Abraham, R.T. (1996), Current Opinion in Immunology. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), Oncogene 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 29 (7):935-8; 및 Zhong, H. et al, Cancer res, (2000) 60(6), 1541-1545]에 논의되어 있다.
- [0155] 또한, 미오-이노시톨 신호전달 억제제, 예컨대 포스포리파제 C 차단제 및 미오이노시톨 유사체가 본 발명에 유용하다. 이러한 신호 억제제는 문헌 [Powis, G., and Kozikowski A., (1994) New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy ed., Paul Workman and David Kerr, CRC press 1994, London]에 기재되어 있다.

- [0156] 신호 전달 경로 억제제의 또 다른 군은 Ras 종양유전자의 억제제이다. 이러한 억제제는 파르네실트랜스퍼라제, 게라닐-게라닐 트랜스퍼라제 및 CAAX 프로테아제의 억제제, 뿐만 아니라 안티센스 올리고뉴클레오티드, 리보자임 및 면역요법제를 포함한다. 이러한 억제제는 야생형 돌연변이체 ras를 함유하는 세포에서 ras 활성화를 차단함으로써 항증식제로서 작용하는 것으로 밝혀져 있다. Ras 종양유전자 억제제는 문헌 [Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9 (2) 99-102; 및 Bennett, C.F. and Cowser, L.M. Biochim. Biophys. Acta, (1999) 1489(1):19-30]에 논의되어 있다.
- [0157] 상기 언급된 바와 같은, 수용체 키나제 리간드 결합에 대한 항체 길항제는 또한 신호 전달 억제제로서 작용할 수 있다. 상기 신호 전달 경로 억제제의 군은 수용체 티로신 키나제의 세포의 리간드 결합 도메인에 대한 인간화 항체의 사용을 포함한다. 예를 들어, 임클론(Imclone) C225 EGFR 특이적 항체 (문헌 [Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286]) 참조); 헤르셉틴(Herceptin)® erbB2 항체 (문헌 [Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183] 참조); 및 2CB VEGFR2 특이적 항체 (문헌 [Brekken, R.A. et al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124] 참조)가 있다.
- [0158] 비-수용체 키나제 혈관신생 억제제 또한 본 발명에서 사용될 수 있다. 혈관신생 관련 VEGFR 및 TIE2의 억제제는 신호 전달 억제제와 관련하여 상기에 논의되어 있다 (둘 다의 수용체는 수용체 티로신 키나제임). erbB2 및 EGFR의 억제제는 혈관신생, 주로 VEGF 발현을 억제하는 것으로 밝혀져 있으므로, 혈관신생은 일반적으로 erbB2/EGFR 신호전달과 연결된다. 따라서, 혈관신생의 억제제와 erbB2/EGFR 억제제의 조합은 타당하다. 따라서, 비-수용체 티로신 키나제 억제제는 본 발명의 EGFR/erbB2 억제제와 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, VEGFR (수용체 티로신 키나제)을 인식하지 않지만, 리간드에는 결합하는 항-VEGF 항체; 혈관신생을 억제하는 인테그린 (알파<sub>v</sub> 베타<sub>3</sub>)의 소분자 억제제; 엔도스타틴 및 안지오스타틴 (비-RTK) 또한 개시된 erb 패밀리의 억제제와의 조합에 유용한 것으로 판명될 수 있다 (문헌 [Bruns CJ et al. (2000), Cancer Res., 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME, and Derynck R. (1986), Science, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), Oncogene 19: 3460-3469] 참조).
- [0159] 면역요법제 요법에 사용되는 작용제 또한 화학식 I의 화합물과의 조합에 유용할 수 있다. erbB2 또는 EGFR에 대한 면역 반응을 생성시키는 다수의 면역학적 전략이 존재한다. 이들 전략은 일반적으로 종양 백신접종의 영역에 속한다. 면역학적 접근법의 효능은 소분자 억제제를 사용한 erbB2/EGFR 신호전달 경로의 조합된 억제제를 통해 크게 향상될 수 있다. erbB2/EGFR에 대한 면역학적/종양 백신 접근법의 논의는 문헌 [Reilly RT et al. (2000), Cancer Res. 60: 3569-3576; 및 Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J, and Kipps TJ. (1998), Cancer Res. 58: 1965-1971]에서 찾아볼 수 있다.
- [0160] 아포토시스 촉진 요법에 사용되는 작용제 (예를 들어, bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드) 또한 본 발명의 조합물에 사용될 수 있다. 단백질의 Bcl-2 패밀리의 구성원은 아포토시스를 차단한다. 따라서, bcl-2의 상향조절은 내화학적과 연결된다. 연구는 표피 성장 인자 (EGF)가 bcl-2 패밀리의 항아포토시스 구성원 (즉, mcl-1)을 자극함을 밝혀냈다. 따라서, 종양에서 bcl-2의 발현을 하향조절하도록 설계된 전략은 임상적 이익이 입증되어, 현재 II상/III상 시험 중에 있으며, 즉 이는 겐타(Genta)의 G3139 bcl-2 안티센스 올리고뉴클레오티드이다. bcl-2에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드 전략을 사용하는 이러한 아포토시스 촉진 전략은 문헌 [Water JS et al. (2000), J. Clin. Oncol. 18: 1812-1823; 및 Kitada S et al. (1994), Antisense Res. Dev. 4: 71-79]에 논의되어 있다.
- [0161] 세포 주기 신호전달 억제제는 세포 주기의 제어와 관련된 분자를 억제한다. 시클린 의존성 키나제 (CDK)로 지칭되는 단백질 키나제 패밀리, 및 이들과 시클린으로 명명되는 단백질 패밀리의 상호작용은 진행 세포 주기를 통한 진행을 제어한다. 다양한 시클린/CDK 복합체의 조화된 활성화 및 불활성화는 세포 주기를 통한 정상적인 진행에 필요하다. 세포 주기 신호전달의 몇몇 억제제가 개발 중에 있다. 예를 들어, CDK2, CDK4 및 CDK6을 비롯한 시클린 의존성 키나제 및 이들에 대한 억제제의 예는, 예를 들어 문헌 [Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230]에 기재되어 있다.
- [0162] 한 실시양태에서,
- [0163] HER2 억제제의 투여를 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T

유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;

- [0164] 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것
- [0165] 을 포함하는, HER2 억제제를 상기 환자에게 투여하는 방법이 제공된다.
- [0166] 한 실시양태에서,
- [0167] HER2 억제제의 처방을 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0168] 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 처방하는 것
- [0169] 을 포함하는, HER2 억제제를 상기 환자에게 처방하는 방법이 제공된다.
- [0170] 한 실시양태에서,
- [0171] 암의 치료를 필요로 하는 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0172] 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 경우에, 상기 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것
- [0173] 을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0174] 한 실시양태에서, 이전에 VEGFA에서의 rs3025039 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는 것으로서 유전자형 결정된, 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 추가 실시양태에서, 암은 전이성 유방암이다. 또한 추가 실시양태에서, 암은 HER2 억제제의 투여 또는 이것으로의 치료 후의 치료를 추가로 필요로 하는 환자에서의 전이성 유방암이다. 추가 실시양태에서, 추가로 필요한 치료는, 트라스투주맙을 포함하지만 이에 제한되지 않는 모노클로날 항체인 HER2 억제제의 투여 이후다.
- [0175] 또 다른 실시양태는 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여한 다음, 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이다. 추가 실시양태는 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 제1 HER2 억제제를 투여한 다음; 상기 환자가 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 936C>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고, 이어서 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 다형성에서 936C>T 유전자형이 발견된 경우에, 제2 HER2 억제제로 치료하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이다.
- [0176] 본 발명의 방법은 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형에 대해 환자를 시험하는 것을 포함한다. 방법은 또한 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형과 상호관련된 적어도 하나의 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 유전자형에 대해 환자를 시험하는 것을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0177] 한 실시양태는 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙이다. 또 다른 실시양태는 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙이다. 추가 실시양태에서, 암은 HER2 억제제의 투여 또는 이것으로의 치료 후의 치료를 추가로 필요로 하는 환자에서의 전이성 유방암이다. 추가 실시양태에서, 추가로 필요한 치료는, 트라스투주맙을 포함하지만 이에 제한되지 않는 모노클로날 항체인 HER2 억제제의 투여 이후다.
- [0178] 또 다른 실시양태는 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 라파티닙의 용도이다.
- [0179] 다른 실시양태는 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 것임을 특징

으로 하는 라파티닙의 용도이다.

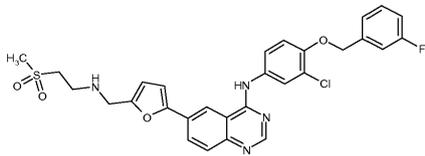
[0180] VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 결정하는 것을 포함하는 본원의 방법 또는 용도의 실시양태에서, 또는 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 갖는 것으로 결정된 환자 또는 인간에서의 본원의 방법 또는 용도에서, 방법은 라파티닙으로의 치료 또는 이의 투여 후에 전체 생존에서의 개선을 관찰 또는 결정 또는 모니터링하는 것을 추가로 포함한다.

[0181] 일부 측면에서, 암은 유방암이다. 암은, 예를 들어 라파티닙의 용도에 대한 본원 발명의 각각의 실시양태에서, 전이성 유방암일 수 있다. 암은 결장암, 유방암, 전이성 유방암, 신세포 암종, 흑색종, 비-소세포 폐암 및 선암종을 포함하는 폐암, 위암, 결장직장암, 신경내분비암, 갑상선암, 두경부암, 뇌암, 자궁경부암, 방광암, 식도암, 췌장암, 전립선암, 중피종, 간-간담도암, 다발성 골수종, 백혈병, 휘르틀레(Hurthle) 세포를 포함하는 갑상선암, 근육 육종 (평활근육종) 및 골 육종 (연골육종)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0182] 한 실시양태에서, HER2 억제제는 이중 표적 억제제 HER2/EGFR 억제제이다.

[0183] 한 측면에서, HER2 억제제는 하기 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용되는 염 또는 용매화물을 포함한다.

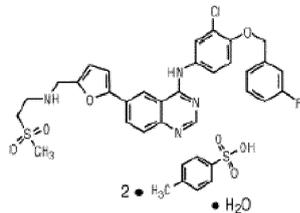
[0184] <화학식 I>



[0185]

[0186] 또 다른 측면에서, HER2 억제제는 하기 화학식 I'의 화합물이다.

[0187] <화학식 I'>



[0188]

[0189] 한 측면에서, HER2 억제제는 모노클로날 항체이다. 모노클로날 항체는 트라스투주맙, 페르투주맙 또는 둘 다의 조합물일 수 있다. 한 측면에서, HER2 억제제는 단독요법으로서 투여된다. 한 측면에서, HER2 억제제는 라파티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이고, 카페시타빈 및/또는 레트로졸과 조합하여 투여된다. 또 다른 측면에서, HER2 억제제는 라파티닙 또는 그의 제약상 허용되는 염이고, 카페시타빈 및/또는 레트로졸 및/또는 트라스투주맙과 조합하여 투여된다.

[0190] 또한, 암을 앓고 있는 환자가 VEGFR2 18487A>T에서의 다형성을 갖는지의 여부를 검출하는 것을 추가로 포함하는, 상기 환자를 치료하는 방법이 제공된다. 이 다형성은 글루타민 (Q)에서 히스티딘 (H)으로의 위치 472에서의 아미노산 변화를 코딩하는 비-동의성 Q472H이다. 한 측면에서, 방법은 상기 환자가 VEGFR2 18487A>T와 상호관련된 적어도 하나의 단일 뉴클레오티드 다형성을 갖는 경우에, 상기 환자를 라파티닙 및 트라스투주맙으로 치료하는 것을 포함한다.

[0191] 또한,

[0192] 암의 치료를 필요로 하는 환자가 다형성 VEGFR2 18487A>T를 갖는지의 여부를 결정하고;

[0193] 상기 환자가 다형성 VEGFR2 18487A>T를 갖는 경우에, 상기 환자에게 라파티닙 및 트라스투주맙을 투여하는 것

[0194] 을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.

[0195] 일부 실시양태에서, 이전에 VEGFR2에서의 rs1870377 단일 뉴클레오티드 다형성에서 18487A>T 유전자형을 갖는

것으로서 유전자형 결정된, 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 추가 실시양태에서, 암은 전이성 유방암이다. 또한 추가 실시양태에서, 암은 HER2 억제제의 투여 또는 이것으로의 치료 후의 치료를 추가로 필요로 하는 환자에서의 전이성 유방암이다. 추가 실시양태에서, 추가로 필요한 치료는, 트라스투주맵을 포함하지만 이에 제한되지 않는 모노클로날 항체인 HER2 억제제의 투여 이후다.

- [0196] 또 다른 실시양태는 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여한 다음; 상기 환자가 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 18487A>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이다. 추가 실시양태는 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 제1 HER2 억제제를 투여한 다음; 상기 환자가 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서 18487A>T 유전자형을 갖는지의 여부를 결정하고, 이어서 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 다형성에서 18487A>T 유전자형이 발견된 경우에, 적어도 하나의 추가의 HER2 억제제로 치료하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이다. 추가 실시양태에서, 제1 HER2 억제제는 트라스투주맵이다. 추가 실시양태에서, 적어도 하나의 추가의 HER2 억제제는 라파티닙이다. 추가 실시양태에서, 방법은 라파티닙인 적어도 하나의 추가의 HER2 억제제로 치료하는 것을 포함하고, 트라스투주맵으로 치료하는 것을 추가로 포함한다.
- [0197] 본 발명의 방법은 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 18487A>T 유전자형에 대해 환자를 시험하는 것을 포함한다. 방법은 또한 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 18487A>T 유전자형과 상호관련된 적어도 하나의 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 유전자형에 대해 환자를 시험하는 것을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0198] 한 실시양태는 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 18487A>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙이다. 또 다른 실시양태는 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 18487A>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙이다. 추가 실시양태에서, 암은 HER2 억제제의 투여 또는 이것으로의 치료 후의 치료를 추가로 필요로 하는 환자에서의 전이성 유방암이다. 추가 실시양태에서, 추가로 필요한 치료는, 트라스투주맵을 포함하지만 이에 제한되지 않는 모노클로날 항체인 HER2 억제제의 투여 이후다.
- [0199] 또 다른 실시양태는 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 18487A>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 라파티닙의 용도이다.
- [0200] 다른 실시양태는 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 18487A>T 유전자형의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 것임을 특징으로 하는 라파티닙의 용도이다.
- [0201] VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 결정하는 것을 포함하는 본원의 방법 또는 용도의 실시양태에서, 또는 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재를 갖는 것으로 결정된 환자 또는 인간에서의 본원의 방법 또는 용도에서, 방법은 라파티닙으로의 치료 또는 이의 투여 후 및/또는 라파티닙 및 트라스투주맵으로의 치료 또는 이의 투여 후에 전체 생존에서의 개선을 관찰 또는 결정 또는 모니터링하는 것을 추가로 포함한다.
- [0202] 18487A>T VEGFR2 유전자형 (또는 VEGFR2에서의 rs1870377 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 18487A>T 유전자형)을 결정 또는 검출하는 것을 포함하는 본 발명의 다른 실시양태에서, 18487A>T VEGFR2 유전자형은 VEGFR2 유전자의 유전자 산물에서 비동의성 돌연변이를 검출하는 방법을 사용하여 검출하고/거나 결정하는데, 즉 VEGFR2 단백질에서의 Q472H 돌연변이를 검출하고/거나 결정한다. 단백질을 사용한 이러한 검출 방법은 당업계에 익히 공지되어 있다.
- [0203] 또한,
- [0204] 암을 앓고 있는 환자가 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 적어도 하나의 다형성을 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0205] 상기 환자가 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 다형성을 갖지 않는 경우에, 상기 환자에게 라파티닙 및 트라스투주맵을 투여하는 것

- [0206] 을 포함하는, 상기 환자를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0207] 또 다른 실시양태는 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 다형성을 갖지 않는 반응자로서 분류된 인간, 예를 들어 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙이다. 추가 실시양태는 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 다형성을 갖지 않는 반응자로서 분류된 인간, 예를 들어 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙 뿐만 아니라 트라스투주맙의 용도이다. 또 다른 실시양태는 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 다형성을 갖지 않는 반응자로서 분류된 인간, 예를 들어 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조에 사용하기 위한 라파티닙 또는 라파티닙 및 트라스투주맙의 용도이다. 또 다른 실시양태는 라파티닙 또는 라파티닙 및 트라스투주맙이 IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 다형성을 갖지 않는 반응자로서 분류된 인간, 예를 들어 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 것임을 특징으로 하는, 상기 라파티닙 또는 상기 라파티닙 및 트라스투주맙의 용도이다. IGF1R (rs2037448) 229741A>G 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T로부터 선택된 다형성을 갖지 않는 인간 또는 환자에서의 라파티닙 또는 라파티닙 및 트라스투주맙으로의 치료 또는 이의 용도에 대한 추가 실시양태에서, 암은 전이성 유방암이다.
- [0208] 또 다른 실시양태에서,
- [0209] 암의 치료를 필요로 하는 환자가 VEGFR2 18487A>T 및 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형으로부터 선택된 적어도 하나의 다형성을 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0210] 상기 환자가 VEGFR2 18487A>T 및 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형으로부터 선택된 적어도 하나의 다형성을 갖는 경우에, 상기 환자에게 티로신 키나제 억제제를 투여하는 것
- [0211] 을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0212] 또한,
- [0213] 암의 치료를 필요로 하는 환자가 다형성 VEGFR2 18487A>T를 갖는지의 여부를 결정하고;
- [0214] 상기 환자가 다형성 VEGFR2 18487A>T를 갖는 경우에, 상기 환자에게 라파티닙 및 트라스투주맙을 투여하는 것
- [0215] 을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다.
- [0216] 일부 실시양태에서, 이전에 NR1I3에서 태그 SNP rs2307420을 갖는 것으로서 유전자형 결정된, 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이 제공된다. 추가 실시양태에서, 암은 전이성 유방암이다. 또한 추가 실시양태에서, 암은 HER2 억제제의 투여 또는 이것으로의 치료 후의 치료를 추가로 필요로 하는 환자에서의 전이성 유방암이다. 추가 실시양태에서, 추가로 필요한 치료는, 트라스투주맙을 포함하지만 이에 제한되지 않는 모노클로날 항체인 HER2 억제제의 투여 이후다.
- [0217] 또 다른 실시양태는 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 HER2 억제제를 투여한 다음; 상기 환자가 NR1I3 유전자에서 태그 SNP rs2307420을 갖는지의 여부를 결정하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이다. 추가 실시양태는 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 제1 HER2 억제제를 투여한 다음; 상기 환자가 NR1I3에서 태그 SNP rs2307420을 갖는지의 여부를 결정하고, 이어서 NR1I3에서 태그 SNP rs2307420이 발견된 경우에, 적어도 하나의 추가의 HER2 억제제로 치료하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 암을 치료하는 방법이다. 추가 실시양태에서, 제1 HER2 억제제는 트라스투주맙이다. 추가 실시양태에서, 적어도 하나의 추가의 HER2 억제제는 라파티닙이다. 추가 실시양태에서, 방법은 라파티닙인 적어도 하나의 추가의 HER2 억제제로 치료하는 것을 포함하고, 트라스투주맙으로 치료하는 것을 추가로 포함한다.
- [0218] 본 발명의 방법은 NR1I3에서의 태그 SNP rs2307420에 대해 환자를 시험하는 것을 포함한다. 방법은 또한 NR1I3에서의 태그 SNP rs2307420과 상호관련된 적어도 하나의 단일 뉴클레오티드 다형성을 갖는 유전자형에 대해 환자를 시험하는 것을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0219] 한 실시양태는 NR1I3에서의 태그 SNP rs2307420의 존재를 특징으로 하는 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙이다. 또 다른 실시양태는 NR1I3에서의 태그 SNP rs2307420의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료에 사용하기 위한 라파티닙이다. 추가 실시양태에서, 암은 HER2 억제제의 투여 또는 이것으로의 치료 후의 치료를 추가로 필요로 하는 환자에서의 전이성 유방

암이다. 추가 실시양태에서, 추가로 필요한 치료는, 트라스투주맙을 포함하지만 이에 제한되지 않는 모노클로날 항체인 HER2 억제제의 투여 이후다.

- [0220] 또 다른 실시양태는 NR1I3에서의 태그 SNP rs2307420의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 라파티닙의 용도이다.
- [0221] 다른 실시양태는 NR1I3에서의 태그 SNP rs2307420의 존재를 특징으로 하는, 라파티닙에 대한 반응자로서 분류된 인간에서의 암의 치료를 위한 의약의 제조를 위한 것임을 특징으로 하는 라파티닙의 용도이다.
- [0222] NR1I3에서 태그 SNP rs2307420을 검출 또는 결정하는 것을 포함하는 방법의 본원의 실시양태에서, 또는 NR1I3에서 태그 SNP rs2307420을 갖는 것으로 결정된 환자의 치료에서, 방법은 라파티닙으로의 치료 및/또는 라파타닙 및 트라스투주맙으로의 치료 후에 무진행 생존에서의 개선을 모니터링 또는 결정 또는 관찰하는 것을 추가로 포함한다.
- [0223] 또한, 암의 요법 또는 치료에 사용하기 위한 바이오마커가 제공된다. 한 실시양태에서, 암의 요법 또는 치료에 사용하기 위한 바이오마커는 VEGFA에서의 rs3025039 참조 단일 뉴클레오티드 다형성에서의 936C>T 유전자형의 존재, 다형성 VEGFR2 18487A>T의 존재, VEGFR2 단백질에서의 Q472H 돌연변이의 존재, NR1I3에서의 태그 SNP rs2307420의 존재, IGF1R (rs2037448) 229741A>G 다형성의 부재, 및 IGF1R (rs7181022) 28322 C>T 다형성의 부재로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 실시양태에서, 바이오마커는 전이성 유방암의 요법 또는 치료에 사용하기 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 바이오마커는 전이성 유방암의 라파타닙 요법 또는 라파티닙 치료에 사용하기 위한 것이다. 추가 실시양태에서, 바이오마커는 언급된 군의 다형성 중 2, 3, 4, 5개의 조합이다.
- [0224] 추가 실시양태에서, 본 발명의 방법은 적어도 하나의 추가의 신생물제를 상기 환자에게 투여하는 것을 추가로 포함한다.
- [0225] 본 발명은 하기 비제한적 실시예에 의해 추가로 기재된다.
- [0226] 실시예
- [0227] 실시예 1
- [0228] 라파티닙 조합물은 종양이 HER2를 과다발현하는 것인 전이성 유방암 (MBC)을 앓고 있는 환자를 치료하는데 효과적인 요법이다. HER2/EGFR 및 다른 티로신 키나제 억제제 (TKI) 요법과 일치하게, 환자 반응은 가변적이고 감수성 및 내성의 추가의 결정인자를 시사한다. 숙주 배선 유전자 변이는 다른 암을 치료하는데 사용된 TKI와 연관된다. 이 탐색적 약리유전학 연구는 HER2+ MBC 환자에서의 차등 라파티닙 치료 결과와 연관된 배선 유전자 변이체를 확인하고자 하는 것이었다.
- [0229] 실험 방법
- [0230] 목적: 하기 환자 집단에서 무진행 생존 (PFS) 및 전체 생존 (OS)의 일차 종점에 의해 측정된, HER2-양성 여성에서의 라파티닙 치료에 대한 차등 환자 반응을 예측하는 배선 유전자 변이체를 확인한다:
- [0231] · 임상 시험 I: 트라스투주맙 기반 전신 요법 및 두개 방사선요법 후의, 재발성 뇌 전이를 앓고 있는 HER2+ MBC 환자에서의 라파티닙 단독요법 (n=120) 연구.
- [0232] · 임상 시험 II: 트라스투주맙 기반 요법 후의, 질환 진행을 앓고 있는 HER2+ MBC 환자에서의 라파티닙 + 트라스투주맙 (n=92) 및 라파티닙 단독요법 (n=103) 연구.
- [0233] 24개 후보 유전자에서의 기능적 결과를 갖는 55개 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)을 평가하였다. 이들 SNP를 유전자형 결정하는데 사용된 검정 플랫폼은 일루미나 휴먼 1M-듀오 분석 비드칩이었다. 상기 실험에 대한 후보 유전자를 하기에 나열하였다.

유전자	카테고리	기능
ABCB1	ADME	(P-GP) 라파티닙이 기질임
ABCG2	ADME	(BCRP) 라파티닙이 기질임
AKT1	경로	항아포토시스 및 세포 증식 촉진과 관련됨
CXCL12	경로, 대안적 혈관신생	일명 SDF1, 혈관신생에서 내피 전구 세포를 조절함
CYP3A4	ADME	라파티닙이 기질 & 억제제임
CYP3A5	ADME	CYP3A4 '유사체'
EGF	경로	라파티닙 및 트라스투주맙 표적. ErbB2 와 이중이량체를 형성함.
EGFR	경로	라파티닙 및 트라스투주맙 표적. ErbB2 와 이중이량체를 형성함.
ErbB2	경로	라파티닙 및 트라스투주맙 표적. EGFR/ErbB1, ErbB3 및 IGF1R 과 이중이량체를 형성함
ErbB3	경로	(Her3) ErbB2 와 이중이량체를 형성함
FGF2	경로, 대안적 혈관신생	FGFR2 리간드
FGFR2	경로, 대안적 혈관신생	혈관신생의 조절제. BC 위험과의 다중 복제 연관성.
FLT4	혈관신생	(VEGFR3)
HIF1A	경로, 대안적 혈관신생	MEK 에 대한 리간드, 혈관신생의 조절제. mRCC 에서의 파조파넵 반응과 연관된 A588T 다형성.
IGF1	경로, 대안적 세포 신호전달	인슐린 항상성의 조절제. BC 위험과 연관됨. mCRC 에서의 세톡시맙 반응과 연관됨. TGF 에 의해 활성화된 IGFRI/EGFR 이중이량체. IGF1R 억제제는 트라스투주맙 세포주 반응을 개선함.
IGF1R	경로, 대안적 세포 신호전달	ErbB2 와 이중이량체를 형성함. EGFR 및 HER2 억제제 내성과 연관됨. mCRC 에서의 세톡시맙 반응과 연관됨.
IGFBP3	경로, 대안적 세포 신호전달	순환 IGF1 을 격리시킴. 높은 수준은 암을 보호하는 것으로 보임.
IL8	경로, 대안적 혈관신생	혈관신생의 시토키인 조절제. mRCC 에서의 불량한 VEGFR 억제제 반응과 연관된 높은 혈청 IL8
IL8RB	경로, 대안적 혈관신생	(CXCR2) IL8 에 대한 수용체
KDR	혈관신생	(VEGFR2) mRCC 에서의 파조파넵 반응과 연관된 다형성
NR1I2	ADME	(PXR) CYP3A4 발현을 조절함. mRCC 에서의 파조파넵 반응과 연관된 다형성
NR1I3	ADME	(RXR) CYP3A4 발현을 조절함. mRCC 에서의 수니티닙 반응과 연관된 다형성
TGFa	경로, 대안적 세포 신호전달	EGFR 리간드. 불량한 라파티닙, 게피티닙 및 트라스투주맙 반응과 연관된 높은 혈청 TGFa.
VEGFA	혈관신생	VEGFR2 리간드. mRCC 에서의 파조파넵 반응과 연관된 다형성

[0234]

[0235]

유전적 연관성의 통계적 분석을 부가 시험을 사용하여 평가하였다. 부가 시험으로부터 확인된 임의의 유의한 마커에 대해, 다양한 유전자형들 사이의 관심있는 특정한 차이를 탐구하여 위험 유전자형(들)을 결정할 것이다. 퍼스(Firth) 방법을 사용한 콕스(Cox) 비례 위험 모델. 다변량 콕스 모델에서의  $p \leq 0.05$ 에서 유의한 임의의 공변량을 포함시킬 것이다.

[0236]

결과:

[0237]

24개 후보 유전자에서의 기능적 결과를 갖는 55개 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP)을 2개의 임상 시험: 시험 I: 트라스투주맙 및 두개 방사선요법 후의, 재발성 뇌 전이를 앓고 있는 HER2+ MBC 환자에서의 라파티닙 단독요법 (n=120) 연구 및 시험 II: 트라스투주맙 후의, 질환 진행을 앓고 있는 HER2+ MBC 환자에서의 라파티닙 + 트라스투주맙 (n=92) 및 라파티닙 단독요법 (n=103) 연구에 참가한 MBC 환자의 하위세트에서 평가하였다. 라파티닙 치료 동안의 무진행 생존 (PFS) 및 전체 생존 (OS)과 SNP의 연관성에 대한 시험을, 공변량을 조정한 콕스 비례 위험 방법을 사용하여 수행하였다. 마커는  $p < 0.0003$ 의 미리 정의된 다중 시험 역치를 달성한 경우에 유의하게 연관된 것으로 간주되었다.

- [0238] 어느 연구에서도 무진행 생존 (PFS)과 통계적으로 유의하게 연관된 SNP는 존재하지 않았다.
- [0239] VEGFA에서의 SNP (rs3025039, 936C>T)는 시험 I에서 T 대립유전자 보유자에 대한 개선된 OS 및 0.21 (0.08-0.52)의 대립유전자 위험 비와 함께, 전체 생존 (OS)과 통계적으로 유의하게 연관되었지만 ( $p=0.0002$ ), 이 연관성은 시험 II에서는 나타나지 않았다. 상기 SNP는 3' UTR 유전자 영역에 위치하고, 혈청 VEGFA 수준을 조절하고, 유방암 위험과 연관된다 (문헌 [Krippel et al., 2003, Int J Cancer 106: 468; Kataoka et al., 2006, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 15:1148]).
- [0240] VEGFR2에서의 SNP (rs1870377, 18487A>T, Q472H, NP\_0022441)는 시험 II에서 전체 생존 (OS)과 통계적으로 유의하게 연관되었다 ( $p=0.0004$ ). 상기 SNP는 상기 분석에 사용된 고도의 보존적 본페로니(Bonferroni) 역치 ( $p<0.0003$ )를 달성하지 못했지만, 명목상 유의한 것으로 간주되었다. VEGFR2 (rs1870377, 18487A>T, Q472H)는 개선된 OS를 나타내는 T 대립유전자 보유자와 함께, 시험 II에서 0.47 (0.3-0.73)의 대립유전자 위험 비를 가졌지만, 이 연관성은 시험 I에서는 나타나지 않았다. VEGFR2 18487A>T는 비-동의성 (472Q>H)이고, 수용체 기능 (VEGF 결합 및 VEGFR2 수용체 인산화)을 증가시키는 T 대립유전자에 의해, VEGFR2에 대한 VEGF 결합을 조절하는 것으로 보고되어 있다.
- [0241] IGFR1에서의 2개의 SNP (rs2037448, 229741A>G 및 rs7181022, 28322C>T, NP\_000866.1)는 시험 I 및 II 둘 다에서 전체 생존 (OS)과 명목상 연관되었다 ( $p<0.05$ ). 이들 SNP는 서로에 대해 낮은 연관 불평형 상관관계를 갖고, rs2037448-T 또는 rs7181022-G에 대한 부 대립유전자에 대해 이형접합으로 분류된 환자를 이용한 분석을 위해 조합되었다. 명시된 어느 하나의 IGFR1 부 대립유전자의 보유는 시험 II에서 5.0 (2.2-10.0)의 대립유전자 위험 비와 함께, 야생형보다 불량한 전체 생존 (OS)과 통계적으로 유의하게 연관된 ( $p=0.00028$ ) 환자 군을 유발하였다. 연관성에 대한 유사한 경향이 시험 I에서 관찰되었지만, 이 시험은 유의한 연관성에 대한 본페로니 역치 ( $p=0.075$ )를 달성하지 않았다. 이들 SNP의 기능은 확인되지 않았다.
- [0242] 결론: VEGFA에서의 배선 변이체는 뇌 전이를 앓고 있는 MBC 환자에서의 라파티닙에 대한 생존 결과와 연관될 수 있다. 이것은 보다 높은 발현 유전자형을 보유하는 환자에서 HER2 억제를 극복하기 위한 VEGF 혈관신생 경로의 활성화를 나타낼 수 있다. OS와의 명목상 연관성은 VEGFR2에서의 SNP (rs1870377) 및 IGFR1에서의 2개의 SNP (rs2037448 및 rs7181022)에 대해 관찰되었다.
- [0243] 시험 I 및 시험 II의 추가의 분석
- [0244] 추가의 약리유전학 분석을, 후보 유전자 선택 및 전체 게놈 연관성 연구 (GWAS, 1M 전체-게놈 SNP (일루미나 휴먼 1M 듀오)) 둘 다를 사용하여, 시험 I 및 II (상기에 기재됨)에서의 환자를 사용하여 수행하였다. 유전자형 결정을 이전에 기재된 바와 같이 수행하였다 (문헌 [Spraggs et al, 2011, J Clin Oncol 29: 667]). 검사한 유전자를 하기와 같이 3개의 계층으로 나누었다:
- [0245] 계층 I: 이전에 TKI 치료 반응에서의 발현, 대안적 신호전달 또는 ADME, 또는 유방암 감수성과 연관되었던 7개의 SNP
- [0246] 계층 II: 하기 카테고리로부터 선택된 23개 후보 유전자로부터의 48개 기능적 변이체:
- [0247] · 라파티닙 ADME (ABCB1, ABCG2, CYP3A4, CYP3A5, NR1I2, NR1I3)
- [0248] · 라파티닙 경로 (EGFR, ERBB2, ERBB3, IGF1, IGF1R, IGFBP3, EGF, AKT1)
- [0249] · TKI 내성과 연관됨 (HIF1A, IL8, IL8RB, CXCL12, VEGFA, VEGFR2, VEGFR3)
- [0250] · 유방암 감수성 (FGF2, FGFR2)
- [0251] 계층 III: 상기에 나열된 23개 후보 유전자 + TGF  $\alpha$  (TGF  $\alpha$ 에 대해 확인된 공통의 기능적 변이체는 없음)에서의 1472개 태그 SNP
- [0252] 유의한 임상적 공변량 및 인종/민족 차이에 대해 조정된 다변량 콕스 비례 위험 모델을 사용한 부가 유전자 검사를 사용하여 연관성을 평가하였다. 후보 유전자 및 GWAS 각각에 대해 퍼스 및 게놈 제어 방법을 사용하여 가양성 결과를 제어하였다. 일차 종점은 무진행 생존 (PFS)이었으며, 여기서 이차 종점은 전체 생존 (OS)이었다.
- [0253] 각각의 특유의 연구-처리 아암 내의 시험에 더하여, 역 분산 방법에 의해 수행되는 메타-분석을 사용하여 결과를 조합하였다. 하기와 같이, 변이체를 상이한 연관 유의성 역치를 갖는 분석용 계층에 할당하였고 이들을 분석 전에 명시하여 SNP 시험의 수를 조정하였지만, 종점 및 군의 수에 대해서는 조정하지는 않았다:

[0254] 후보 유전자:

계층	SNP 수	알파 스펙트	유의성에 대한 역치
I	7	0.03	0.004
II	48	0.015	0.0003
III	1472	0.005	$3.40 \times 10^{-6}$
합계	1515	0.05	

[0255]

[0256] GWAS SNP: 유의성에 대한 본페로니 역치  $p = 0.05 / 1M = 5 \times 10^{-8}$

[0257] 결과

[0258] 메타-분석에서, NR1I3 (rs2307420) 마커는 PFS에 대해  $3.4 \times 10^{-6}$ 에서의 p값 역치를 통과하였다. NR1I3은 구성적 안드로단 수용체이고, CYP3A4 발현을 조절한다. 효과는 낮은 빈도의 G 대립유전자 ( $n \leq 5$ )의 보유에 의해 유도된다. rs2307420은 기능성이 아닌 태그 SNP이다.

[0259] 임상 시험 I (라파타닙 단독요법)에서, VEGFA (936C>T, rs3025039) 마커는 OS에 대해  $p < 0.0003$ 에서의 역치를 통과하였다. 효과는 임상 시험 I (단독요법 아암)로부터 분석된 결과에 의해 유도되었지만, 임상 시험 II (라파타닙 + 트라스투주맙 아암)에서는 반대의 효과가 나타났다. VEGFA 936C>T (rs3025039)는 3'UTR에 위치하고, VEGF 발현을 조절한다. CC는 CT/TT보다 높은 VEGF 발현을 갖는다 (문헌 [Formento et al, 2009, Pharmacogenomics, 10: 1277; Krippel et al, 2003, Int J Cancer 106: 468, Kataoka et al, 2006, Cancer Epidemiol Biomarker Prev, 15: 1148]). 결과는 도면에 나타났다.

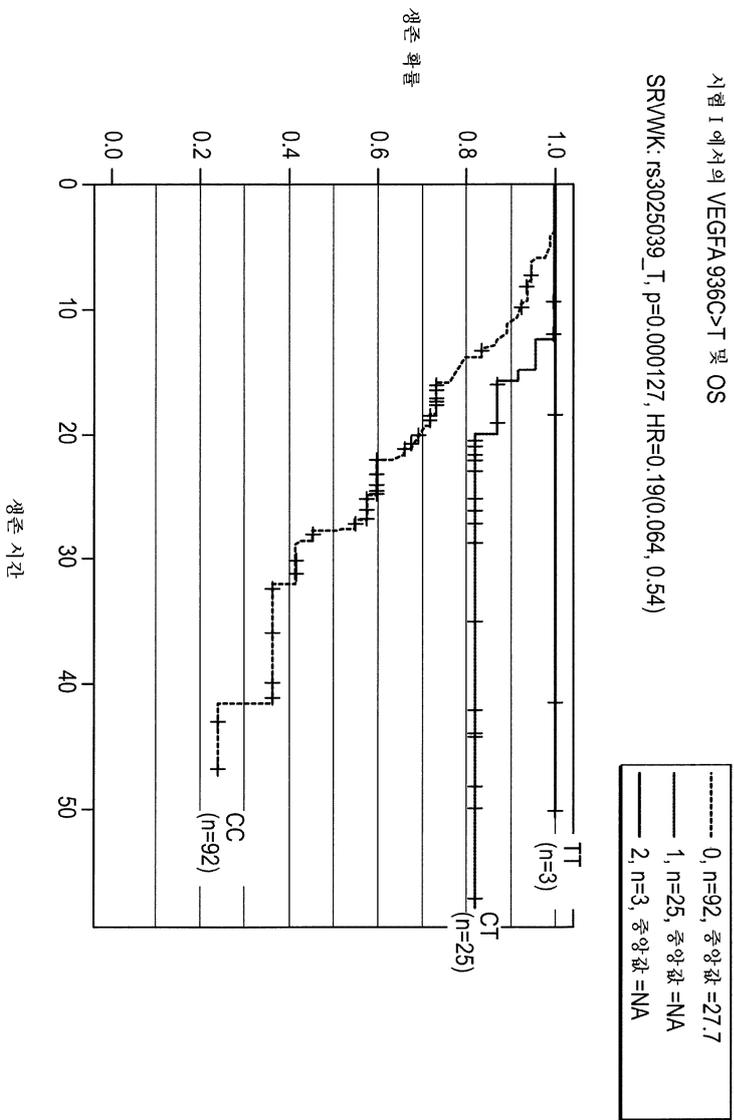
[0260] 또한, OS에 대한 근소한 연관성 (임상 시험 II (라파타닙 + 트라스투주맙)에서 KDR/VEGFR2에 대해  $p = 0.0005$ )이 존재하였다. 결과는 도 4C에 나타났다.

[0261] GWAS 분석은 공통의 마커를 갖는 시험 또는 연구 아암에 걸쳐 강한 신호 ( $p < 5 \times 10^{-8}$ )를 나타내지 않았다 (MAF > 5%).

도면  
도면1

시퀀스 1에서의 VEGFA 936C>T 및 OS

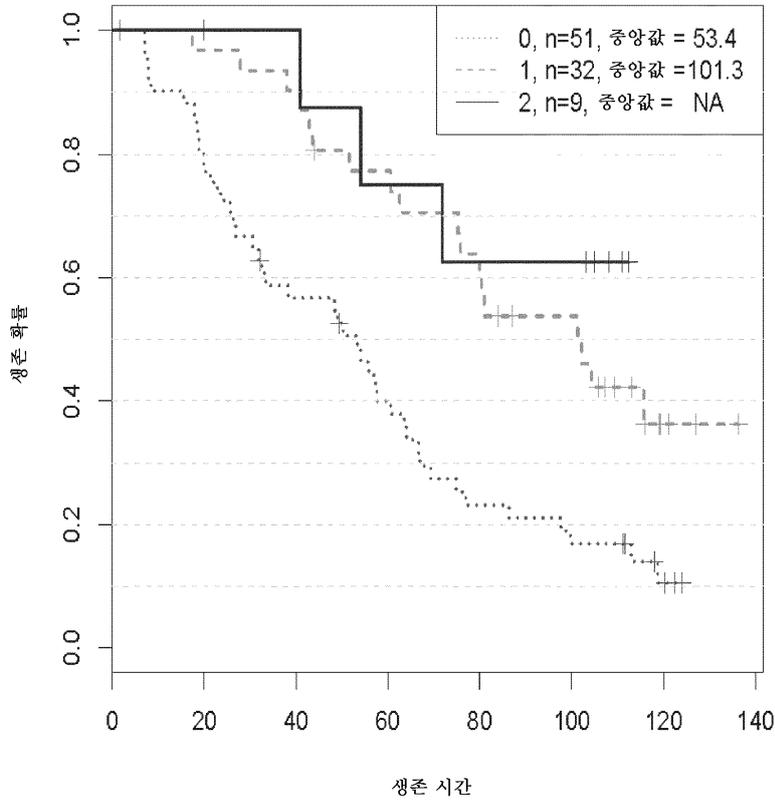
SRVWK:rs3025039\_T, p=0.000127, HR=0.19(0.064, 0.54)



도면2

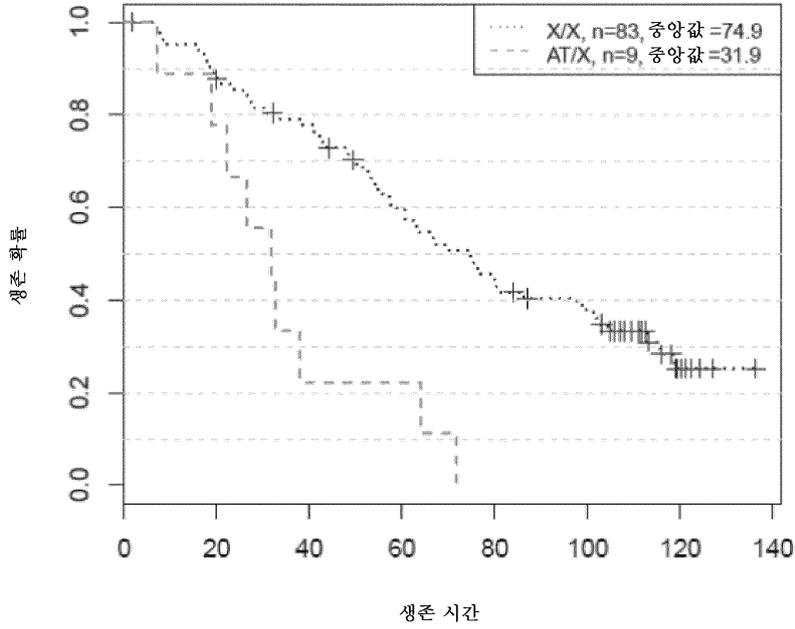
시험 II 에서의 VEGFR2 18487A>T (Q472H) 및 OS

SRVWK: rs1870377\_A, p=0.000438, HR=0.47(0.3, 0.73)



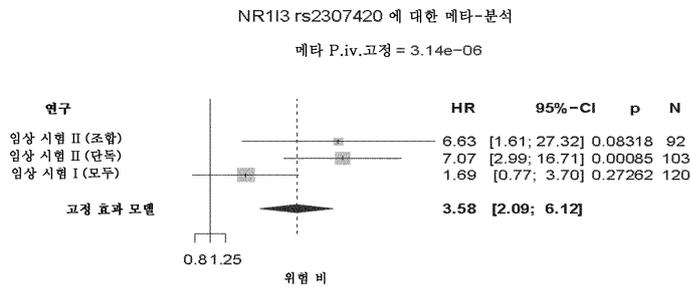
도면3

시험 II 에서의 IGFR1 rs2037448 & rs7181022 (기능성이 아닌 태그 SNP) 및 OS

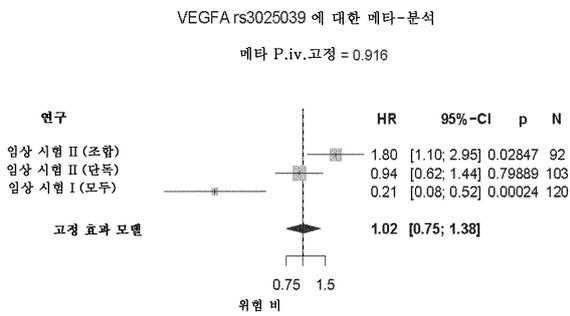


도면4

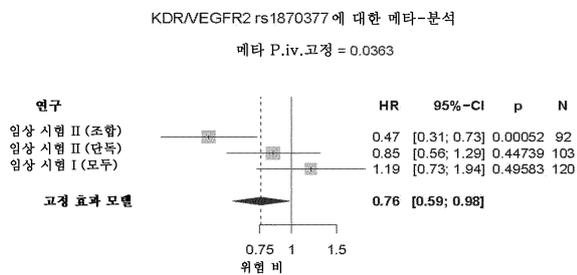
A) NR1I3 (태그 SNP, rs2307420) 및 PFS



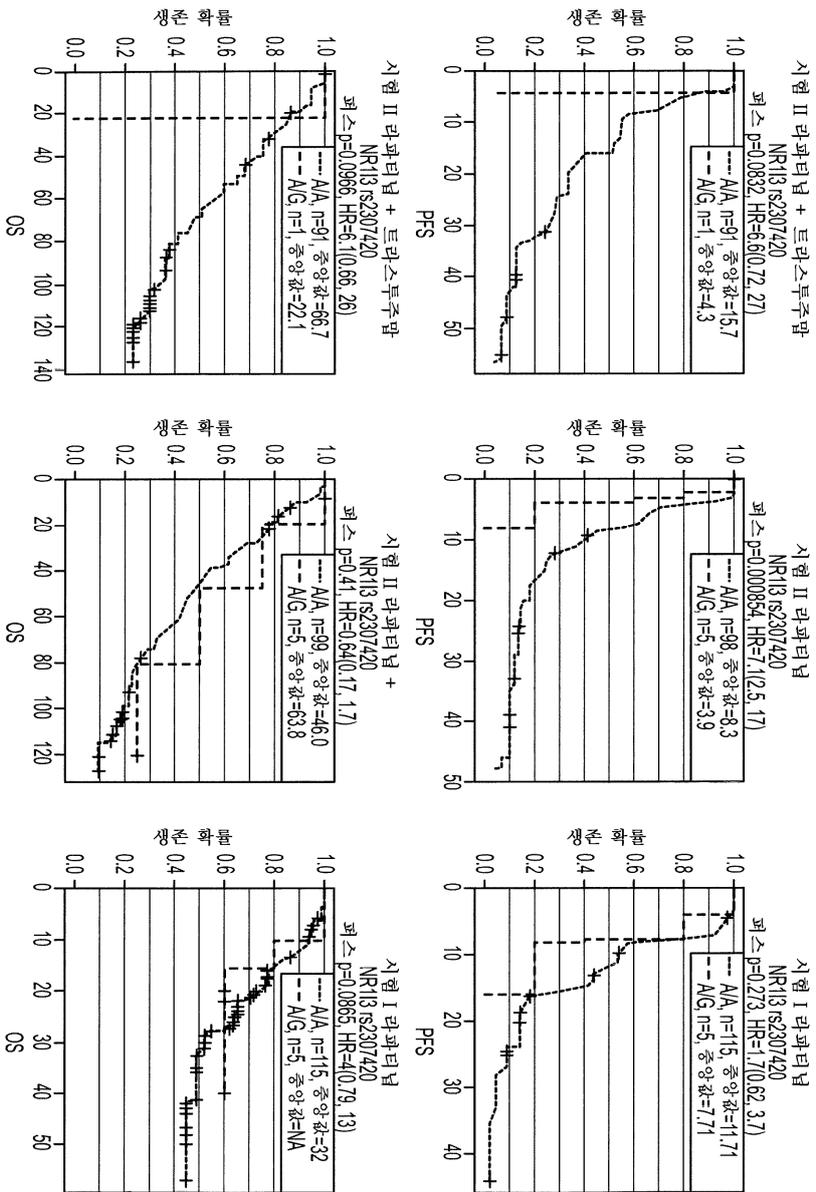
B) VEGFA (936C>T, rs3025039) 및 OS



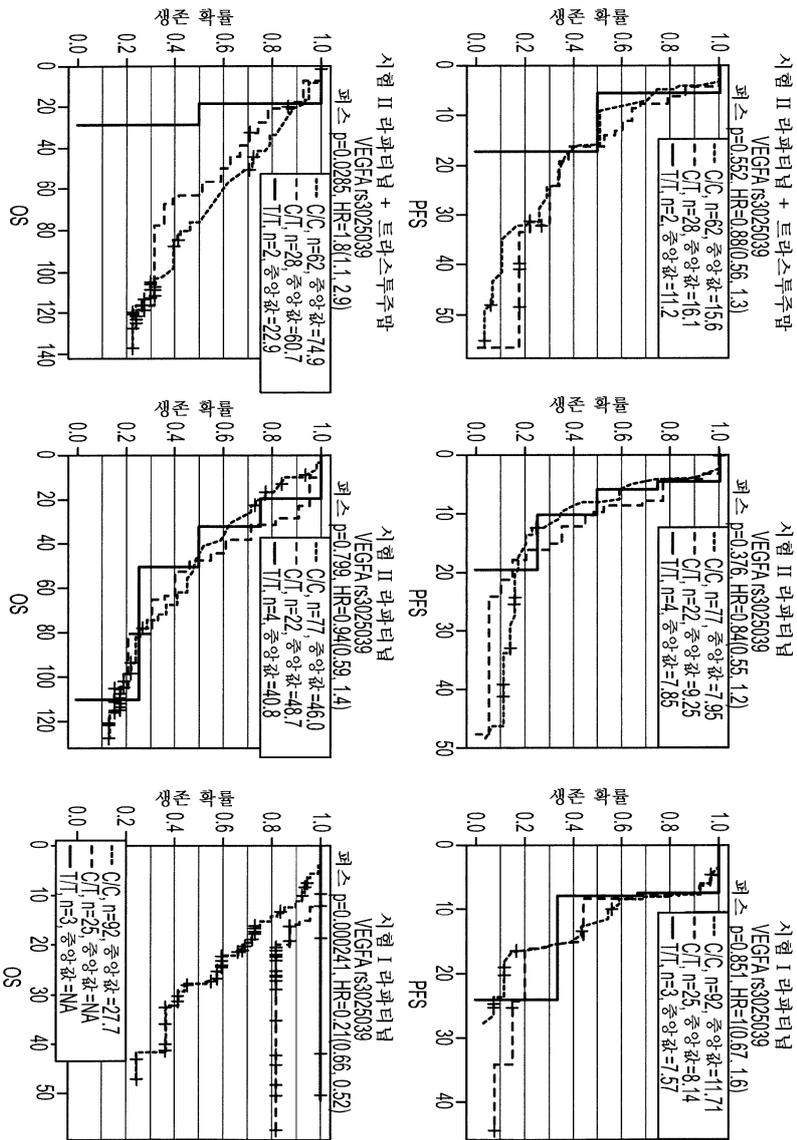
C) KDR/VEGFR2 (18487T>A, Q472H, rs1870377) 및 OS



도면5



도면6



도면7

