

(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2013.01)
C12Q 2600/106 (2013.01)
C12Q 2600/156 (2013.01)
C12Q 2600/158 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/218,927	2015년09월15일	미국(US)
62/241,019	2015년10월13일	미국(US)
62/310,582	2016년03월18일	미국(US)
62/372,662	2016년08월09일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 개체로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 파르네실전달효소 억제제(FTI)를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 고형 종양을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 H-Ras 돌연변이는 G12, G13, Q61, 및 임의의 그 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서 아미노산 치환을 포함하는 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 것을 추가로 포함하며, 상기 샘플은 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 갖지 않는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 조직 생검인 방법.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 종양 생검인 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 것은 상기 샘플로부터 취득된 핵산을 분석하는 것을 포함하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 Ras 돌연변이는 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP) 분석, 변성 고-성능 액체 크로마토그래피(DHPLC), 또는 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석에 의해 결정되는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, Ras 돌연변이는 PCR에 의해 결정되는 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, Ras 돌연변이는 시퀀싱에 의해 결정되는 방법.

청구항 11

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 것은 상기 샘플로부터 취득된 단백질을 분석하는 것을 포함하는 방법.

청구항 12

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 혈액 암 또는 고형 종양인 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 암은 HPV 음성인 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 암은 진행된 단계이거나 전이성인 방법.

청구항 15

제12항에 있어서, 상기 암은 간세포 암종, 두경부암, 침샘 종양, 갑상선 종양, 요로암, 유방암, 흑색종, 위암, 췌장암 및 폐암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 고형 종양인 방법.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 암은 두경부암인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 두경부암은 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)인 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, HNSCC는 HPV 음성 HNSCC인 방법.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 HNSCC는 재발/불응성 HNSCC인 방법.

청구항 20

제13항에 있어서, 상기 암은 침샘 종양인 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 침샘 종양은 진행된 침샘 종양인 방법.

청구항 22

제13항에 있어서, 상기 암은 갑상선 종양인 방법.

청구항 23

제21항에 있어서, 상기 갑상선 종양은 악성 갑상선 종양 또는 진행된 갑상선 종양인 방법.

청구항 24

제12항에 있어서, 암은 골수증식성 신생물(MPN), 골수이형성 증후군(MDS), 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML), 급성 골수성 백혈병(AML), 천연 킬러 세포 림프종(NK 림프종), 천연 킬러 세포 백혈병(NK 백혈병), 피부 T-세포 림프종(CTCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 및 만성 골수성 백혈병(CML)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 혈액암인 방법.

청구항 25

(a) 개체의 갑상선 종양의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 악성 갑상선 종양을 치료하는 방법.

청구항 26

(a) 개체의 HNSCC의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는,

개체에서 HNSCC를 치료하는 방법.

청구항 27

(a) 개체의 침샘 종양으로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 침샘 종양을 치료하는 방법.

청구항 28

(a) 개체로부터의 샘플에서 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, 상기 Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 상기 K-Ras 돌연변이 또는 상기 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 파르네실전달효소 억제제(FTI)를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이를 포함하는 방법.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 Ras 돌연변이는 N-Ras 돌연변이를 포함하는 방법.

청구항 31

제28항에 있어서, 상기 Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이를 포함하는 방법.

청구항 32

제28항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 K-Ras 돌연변이는 G12, G13, Q61, 및 임의의 그 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서 아미노산 치환을 포함하는 방법.

청구항 33

제28항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 N-Ras 돌연변이는 G12, G13, Q61, 및 임의의 그 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서 아미노산 치환을 포함하는 방법.

청구항 34

제28항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Ras 돌연변이는 K-Ras에서 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환 및 N-Ras 돌연변이에서 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환을 포함하는 방법.

청구항 35

제28항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 갖지 않는 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 샘플은 야생형 K-Ras를 가지는 방법.

청구항 37

제35항에 있어서, 상기 샘플은 야생형 N-Ras를 가지는 방법.

청구항 38

제35항에 있어서, 상기 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 가지는 방법.

청구항 39

제28항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Ras 돌연변이는 H-Ras 돌연변이를 추가로 포함하며, 상기 샘

플은 상기 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되는 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 H-Ras 돌연변이는 G12, G13, Q61, 및 임의의 그 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서 아미노산 치환을 포함하는 방법.

청구항 41

제28항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 조직 생검인 방법.

청구항 42

제28항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 종양 생검인 방법.

청구항 43

제28항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 혈액 샘플, 혈청 샘플 또는 골수 샘플인 방법.

청구항 44

제28항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 것은 상기 샘플로부터 취득된 핵산을 분석하는 것을 포함하는 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 Ras 돌연변이는 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석, 변성 고-성능 액체 크로마토그래피(DHPLC), 또는 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석에 의해 결정되는 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, Ras 돌연변이는 PCR에 의해 결정되는 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, Ras 돌연변이는 시퀀싱에 의해 결정되는 방법.

청구항 48

제28항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 것은 상기 샘플로부터 취득된 단백질을 분석하는 것을 포함하는 방법.

청구항 49

제28항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 골수증식성 신생물(MPN), 골수이형성 증후군(MDS), 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML), 급성 골수성 백혈병(AML), 천연 킬러 세포 림프종(NK 림프종), 천연 킬러 세포 백혈병(NK 백혈병), 피부 T-세포 림프종(CTCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 만성 골수성 백혈병(CML) 또는 고형 종양인 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 암은 MDS인 방법.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 MDS는 보다 저위험 MDS인 방법.

청구항 52

제49항에 있어서, 상기 암은 CMML인 방법.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 CMML은 저위험 CMML 또는 중간 위험 CMML인 방법.

청구항 54

제52항에 있어서, 상기 CMML은 골수이형성 CMML 또는 골수증식성 CMML인 방법.

청구항 55

제49항에 있어서, 상기 암은 AML인 방법.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 개체는 관해 유도(remission induction) 후 또는 이식 후인 방법.

청구항 57

제55항에 있어서, 상기 개체는 60세가 넘었거나 다르게는 관해 유도에 적합하지 않은 방법.

청구항 58

제49항에 있어서, 상기 암은 간세포 암종, 두경부암, 침샘 종양, 갑상선 종양, 유방암, 흑색종, 위암, 췌장암 및 폐암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 고형 종양인 방법.

청구항 59

(a) 개체가 야생형 K-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 치료적 유효량의 티피파르닙을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법.

청구항 60

(a) 개체가 야생형 N-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 치료적 유효량의 티피파르닙을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법.

청구항 61

(a) 개체가 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 치료적 유효량의 티피파르닙을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법.

청구항 62

(a) 개체를 KIR 타이핑하며, 이때 상기 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 63

제62항에 있어서, 상기 개체는 KIR2DS2의 보유자인 방법.

청구항 64

제62항에 있어서, 상기 개체는 KIR2DS5의 보유자인 방법.

청구항 65

제62항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 개체를 HLA 타이핑하는 것을 추가로 포함하며 상기 개체는 HLA-C2의 보유자인 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2의 보유자인 방법.

청구항 67

제65항 또는 제66항에 있어서, 상기 HLA-C2의 보유자는 HLA-C2에 대해 동형접합성인 방법.

청구항 68

제62항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, KIR 타이핑은 상기 개체로부터의 샘플에서 KIR 유전자의 존재를 결정하는 것을 포함하며, 상기 KIR 유전자는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5 및 KIR2DL5로 이루어지는 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 69

제62항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, KIR 타이핑 및 HLA 타이핑은 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석, 면역블롯팅 분석 또는 효소-연결된 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 수행되는 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, KIR 타이핑은 MS를 이용한 SNP 분석에 의해 수행되는 방법.

청구항 71

제68항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 혈액 샘플 또는 골수 샘플인 방법.

청구항 72

제68항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)인 방법.

청구항 73

제68항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 농축 NK 세포인 방법.

청구항 74

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나; (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는 (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 75

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플에서 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 (ii) 샘플에서 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법.

청구항 76

제74항에 있어서, KIR2DS2의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하며, 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높은 방법.

청구항 77

제74항에 있어서, KIR2DL2의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하며, 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮은 방법.

청구항 78

제74항에 있어서, KIR2DS5의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하며, 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의

기준 발현 수준보다 높은 방법.

청구항 79

제74항에 있어서, KIR2DL5의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하며, 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮은 방법.

청구항 80

제74항에 있어서, GZMM의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하며, 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높은 방법.

청구항 81

제75항에 있어서, KIR2DS2 및 KIR2DL2의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하며, 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높은 방법.

청구항 82

제75항에 있어서, KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하며, 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높은 방법.

청구항 83

제74항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 혈액 샘플 또는 골수 샘플인 방법.

청구항 84

제74항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 PBMC인 방법.

청구항 85

제74항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 샘플은 농축 NK 세포인 방법.

청구항 86

제74항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 바이오마커의 발현 수준은 상기 바이오마커의 단백질 수준을 결정함으로써 측정되는 방법.

청구항 87

제86항에 있어서, 상기 바이오마커의 단백질 수준은 면역조직화학(IHC) 방법, 면역블롯팅 분석, 유세포분석(FACS) 또는 ELISA를 이용하여 결정되는 방법.

청구항 88

제86항에 있어서, 샘플을 상기 바이오마커 단백질에 면역특이적으로 결합하는 항체와 접촉시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 89

제74항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 바이오마커의 발현 수준은 상기 바이오마커의 RNA 수준을 결정함으로써 측정되는 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 바이오마커의 mRNA 수준은 qPCR, RT-PCR, RNA-seq, 마이크로어레이 분석, SAGE, 매스어레이(MassARRAY) 기술 또는 FISH를 이용하여 측정되는 방법.

청구항 91

제62항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암은 급성 골수성 백혈병 (AML), 골수이형성 증후군(MDS),

만성 골수단핵구성 백혈병(CMML), 천연 킬러 세포 림프종(NK 림프종), 천연 킬러 세포 백혈병(NK 백혈병), 피부 T-세포 림프종(CTCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 만성 골수성 백혈병(CML) 또는 고형 종양인 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 암은 AML인 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 개체는 관해 유도 후 또는 이식 후인 방법.

청구항 94

제92항에 있어서, 상기 개체는 60세가 넘었거나 다르게는 관해 유도에 적합하지 않은 방법.

청구항 95

제91항에 있어서, 상기 암은 MDS인 방법.

청구항 96

제95항에 있어서, 상기 MDS는 저위험 MDS, 중간 위험 MDS 또는 고위험 MDS인 방법.

청구항 97

제95항에 있어서, 상기 MDS는 보다 저위험 MDS인 방법.

청구항 98

제91항에 있어서, 상기 암은 CMML인 방법.

청구항 99

제98항에 있어서, 상기 CMML은 저위험 CMML 또는 중간 위험 CMML인 방법.

청구항 100

제98항에 있어서, 상기 CMML은 골수이형성 CMML 또는 골수증식성 CMML인 방법.

청구항 101

제98항에 있어서, 상기 CMML은 NRAS/KRAS 야생형 CMML인 방법.

청구항 102

제91항에 있어서, 상기 암은 NK 림프종 또는 NK 백혈병인 방법.

청구항 103

제91항에 있어서, 상기 암은 CTCL 또는 PTCL인 방법.

청구항 104

제91항에 있어서, 상기 암은 간세포 암종, 두경부암, 침샘 종양, 갑상선 종양, 유방암, 흑색종, 위암, 췌장암 및 폐암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 고형 종양인 방법.

청구항 105

(a) 개체를 KIR 타이핑하며, 상기 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르넵을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 MDS를 치료하는 방법.

청구항 106

제105항에 있어서, 상기 개체를 HLA 타이핑하는 것을 추가로 포함하며, 상기 개체는 HLA-C2의 보유자인 방법.

청구항 107

제106항에 있어서, 상기 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2의 보유자인 방법.

청구항 108

제106항 또는 제107항에 있어서, 상기 HLA-C2의 보유자는 HLA-C2에 대해 동형접합성인 방법.

청구항 109

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나; (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는 (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르넵을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 MDS를 치료하는 방법.

청구항 110

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플에서 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 (ii) 샘플에서 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르넵을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 MDS를 치료하는 방법.

청구항 111

(a) 암 환자를 KIR 타이핑하며, 상기 암 환자는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, (b) 상기 암 환자에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법.

청구항 112

제111항에 있어서, 상기 개체를 HLA 타이핑하는 것을 추가로 포함하며 상기 개체는 HLA-C2의 보유자인 방법.

청구항 113

제112항에 있어서, 상기 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2의 보유자인 방법.

청구항 114

제112항 또는 제113항에 있어서, 상기 HLA-C2의 보유자는 HLA-C2에 대해 동형접합성인 방법.

청구항 115

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나; (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는 (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법.

청구항 116

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플에서 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 (ii) 샘플에서 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법.

청구항 117

(a) 개체를 KIR 타이핑하며, 상기 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, (b) 상기 개체에게 치료적 유효

량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 NK 세포의 활성을 억제하는 방법.

청구항 118

제117항에 있어서, 상기 개체를 HLA 타이핑하는 것을 추가로 포함하며, 상기 개체는 HLA-C2의 보유자인 방법.

청구항 119

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나; (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는 (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 NK 세포의 활성을 억제하는 방법.

청구항 120

(a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 상기 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 (ii) 상기 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으며; (b) 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 NK 세포의 활성을 억제하는 방법.

청구항 121

제1항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 122

제121항에 있어서, FTI는 티피파르닙인 방법.

청구항 123

제1항 내지 제122항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 경구로, 비경구로, 직장으로, 또는 국소로 투여되는 방법.

청구항 124

제1항 내지 제123항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여되는 방법.

청구항 125

제1항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 하루 두번 투여되는 방법.

청구항 126

제125항에 있어서, FTI는 200-1200 mg의 투여량으로 하루 두번 투여되는 방법.

청구항 127

제125항에 있어서, FTI는 600 mg의 투여량으로 하루 두번 투여되는 방법.

청구항 128

제125항에 있어서, FTI는 900 mg의 투여량으로 하루 두번 투여되는 방법.

청구항 129

제1항 내지 제128항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 1 내지 7일의 기간 동안 투여되는 방법.

청구항 130

제1항 내지 제129항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 격주로 투여되는 방법.

청구항 131

제1항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 투여되는 방법.

청구항 132

제131항에 있어서, FTI는 적어도 3 사이클 동안 투여되는 방법.

청구항 133

제131항에 있어서, FTI는 적어도 6 사이클 동안 투여되는 방법.

청구항 134

제131항에 있어서, 상기 치료 사이클은 최대 12개월 동안 계속되는 방법.

청구항 135

제132항에 있어서, 티피파르넵은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 900 mg의 투여량으로 하루 두번 경구로 투여되는 방법.

청구항 136

제1항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, FTI는 조사(irradiation) 전, 조사 동안 또는 조사 후에 투여되는 방법.

청구항 137

제1항 내지 제135항 중 어느 한 항에 있어서, 치료적 유효량의 두번째 활성 제제 또는 보조 케어 치료법을 투여하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 138

제137항에 있어서, 상기 두번째 활성 제제는 DNA-저메틸화 제제, 암항원에 특이적으로 결합하는 치료 항체, 조혈 성장 인자, 사이토카인, 항암제, 항생제, cox-2 억제제, 면역조절제, 항-흉선세포 글로블린, 면역억제제, 코르티코스테로이드 또는 그의 약리학적 유도체인 방법.

청구항 139

제137항에 있어서, 상기 두번째 활성 제제는 항-PD1 항체 또는 항-PDL1 항체인 방법.

청구항 140

암 환자를 KIR 타이핑하기 위한 적어도 하나의 제제, 및 보조 제제를 포함하며, 상기 암 환자가 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이면 상기 암 환자는 FTI 치료에 반응할 것으로 예측되는, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위한 키트.

청구항 141

제140항에 있어서, 상기 암 환자를 HLA 타이핑하기 위한 제제를 추가로 포함하며 상기 암 환자는 HLA-C2의 보유자인 키트.

청구항 142

암 환자로부터의 샘플에서 적어도 하나의 바이오마커의 발현을 결정하기 위한 적어도 하나의 제제 및 보조 제제를 포함하며, 상기 바이오마커는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되며; 만일 (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 샘플 내의

KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나; (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; (vi) 샘플에서 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 (vii) 샘플에서 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으면 상기 암 환자는 FTI 치료에 반응할 것으로 예측되는, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위한 키트.

청구항 143

암 환자로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 발현 수준을 결정하기 위한 하나 이상의 제제, 및 보조 제제를 포함하며; 만일 i) 상기 환자의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 상기 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는 (iii) 상기 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으면 상기 환자는 FTI 치료에 반응성일 것으로 예측되는, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위한 키트.

청구항 144

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위해 키트가 사용됨을 나타내는 라벨을 추가로 포함하는 키트.

청구항 145

제140항 내지 제143항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 MDS 환자이며, 상기 FTI는 티피파르닙인 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 분자생물학 및 암 생물학 분야에 관한 것이다. 본 발명은 암을 가진 개체에서 파르네실전달효소 (farnesyltransferase) 억제제를 이용한 치료에 대한 임상적 민감성과 치료 반응을 예측하기 위한 바이오마커로서 일부 면역학적 관련 유전자를 이용하는 방법을 제공한다. 본 발명은 이들 방법을 수행하기 위한 키트를 추가로 제공한다.

배경 기술

[0002] 치료 반응률을 개선하기 위하여 환자 개체군을 계층화하는 것은 암환자의 임상적 관리에서 점점 중요해지고 있다. 파르네실전달효소 억제제(FIT)는 백혈병, 림프종 및 일부 고형 종양과 같은 암의 치료에서 유용한 치료제이다. 하지만, 환자는 FTI 치료에 대하여 다르게 반응한다. 따라서, FTI 치료에 대한 암환자의 반응성을 예측하는 방법, 또는 FTI 치료를 위한 환자를 선별하는 방법이 여전히 필요하다. 본 발명의 방법과 조성물은 이들 필요성을 충족하고 다른 관련 이점을 제공한다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0003] 본 발명은 FTI를 이용한 치료를 위하여 암환자 개체군을 선별하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공하는 방법은 일부 면역학적 유전자의 유전형 및 발현 수준이 FTI 치료에 대한 암환자의 반응성을 예측하기 위해 사용될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다.

[0004] 일부 실시형태에서, 개체에서 암을 치료하기 위한 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체를 KIR 타이핑하며, 이때 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS5의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 KIR2DS5의 보유자이다.

[0005] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 개체에게 FTI 치료를 투여하기 전에 개체를 HLA 타이핑하는 것을 추가로 포함하며, 이때 개체는 HLA-C2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2 둘 모두의 보유자이다.

- [0006] 일부 실시형태에서, 개체의 KIR 타이핑은 개체로부터의 샘플에서 KIR 유전자의 존재를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 농축 천연 킬러(enriched natural killer)(NK) 세포이다.
- [0007] 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP) 분석, 면역블롯팅 분석, 또는 효소-연결 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 수행된다. 일 실시형태에서, KIR 타이핑은 PCR에 의해 수행된다. 일 실시형태에서, KIR 타이핑은 DNA 마이크로어레이에 의해 수행된다. 일 실시형태에서, KIR 타이핑은 면역블롯팅 분석 또는 ELISA에 의해 수행된다.
- [0008] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 개체에서의 암 치료 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나; (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는 (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이며; (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.
- [0009] 일부 실시형태에서, 개체에서 암을 치료하기 위한 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플에서 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 (ii) 샘플에서 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으며; (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.
- [0010] 일부 실시형태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 농축 NK 세포이다. 일부 실시형태에서, NK 세포는 인 비트로에서 추가로 증식된다.
- [0011] 일부 실시형태에서, 바이오마커의 발현 수준의 결정은 바이오마커의 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 바이오마커의 단백질 수준을 결정하는 방법은 면역조직화학(IHC) 방법, 면역블롯팅 분석, 유세포분석(FACS) 또는 ELISA일 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 단백질 수준은 ELISA에 의해 측정된다.
- [0012] 일부 실시형태에서, 바이오마커의 발현 수준의 결정은 바이오마커의 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 바이오마커의 mRNA 수준을 결정하는 방법은 qPCR, RT-PCR, RNA-seq, 마이크로어레이 분석, SAGE, 매스어레이(MassARRAY) 기술 또는 FISH일 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 mRNA 수준은 qPCR 또는 RT-PCR에 의해 측정된다.
- [0013] 일부 실시형태에서, 개체는 암 환자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 혈액암을 가진다. 일부 실시형태에서, 개체는 고형 종양을 가진다. 고형 종양은 양성 종양 또는 암일 수 있다. 일부 다른 실시형태에서, 개체는 전암상태를 가진다. 혈액암은 급성 골수성 백혈병(AML), 골수이형성증후군(MDS), 만성 골수단핵구 백혈병(CMML), 천연 킬러 세포 림프종(NK 림프종), 천연 킬러 세포 백혈병(NK 백혈병), 피부 T-세포 림프종(CTCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 또는 만성 골수성 백혈병(CML)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자는 MDS 환자이다. MDS 환자는 초저위험 MDS, 저위험 MDS, 중위험 MDS, 또는 고위험 MDS를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자는 보다 저위험 MDS 환자이며, 초저위험 MDS, 저위험 MDS, 중위험 MDS를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자는 AML 환자이다. 일부 실시형태에서, AML 환자는 관해 유도 후(post-remission induction) 또는 이식 후이다. 일부 실시형태에서, AML 환자는 60세가 넘거나 다르게는 관해 유도에 부적합하다.
- [0014] 일부 실시형태에서, FTI 치료를 위한 암환자를 선별하기 위한 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체를 KIR 타이핑하고, 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 a) 개체를 KIR 타이핑하고, 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, b) 개체를 HLA 타이핑하고, 개체는 HLA-C2의 보유자이며, (c) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2 둘 모두의 보유자이다.
- [0015] 일부 실시형태에서, FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나; (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준

이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나; (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나; (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는 (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이며; (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.

[0016] 일부 실시형태에서, FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하기 위한 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하며, 이때 (i) 샘플에서 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 (ii) 샘플에서 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높으며; (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.

[0017] 일 실시형태에서, 개체에서 MDS를 치료하는 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체를 KIR 타이핑하고, 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이며, (b) 치료적 유효량의 티피파르닙을 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 본 방법은 개체를 HLA 타이핑하는 것을 추가로 포함할 수 있으며, 이때 개체는 HLA-C2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, MDS는 보다 낮은 위험의 MDS이다.

[0018] 본 발명은 Ras 돌연변이 상태에 기초하여 FTI를 이용한 치료를 위한 암 환자의 개체군 선별을 위한 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플내의 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0019] 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플에서 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, 이때 Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 그리고 이어서 (b) 만일 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0020] 일부 실시형태에서, 본 방법은 K-Ras의 G12, G13, 및 Q61로 이루어진 군으로부터 선택된 코돈에서의 아미노산 치환의 존재 또는 부재를 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 N-Ras의 G12, G13, 및 Q61로 이루어진 군으로부터 선택된 코돈에서의 아미노산 치환의 존재 또는 부재를 결정하는 것을 포함한다.

[0021] 일부 실시형태에서, 만일 샘플이 K-Ras의 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환을 갖지 않으며 또한 N-Ras의 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환을 갖지 않는 것으로 결정되면, 환자에게 FTI 치료가 투여된다. 일부 실시형태에서, 만일 샘플이 어떤 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이도 갖지 않는 것으로 결정되면 환자에게 FTI 치료가 투여된다. 일부 실시형태에서, 만일 샘플이 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정되면 환자에게 FTI 치료가 투여된다.

[0022] 일부 실시형태에서, 개체는 암 환자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 혈액암을 가진다. 일부 실시형태에서, 개체는 고형 종양을 가진다. 고형 종양은 양성 종양 또는 암일 수 있다. 일부 다른 실시형태에서, 개체는 전암 상태를 가진다. 혈액암은 만성 골수단핵구 백혈병(CMML), 골수증식성 신생물(MPN), 골수이형성증후군(MDS), 급성 골수성 백혈병(AML), 연소성 골수단핵구성 백혈병(JMML), 만성 골수성 백혈병(CML), 천연 킬러 세포 림프종(NK 림프종), 천연 킬러 세포 백혈병(NK 백혈병), 피부 T-세포 림프종(CTCL), 또는 말초 T-세포 림프종(PTCL)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자는 CMML 환자이다. 일부 실시형태에서, 환자는 MDS 환자이다. 일부 실시형태에서, 환자는 AML 환자이다.

[0023] 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플에서 K-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 샘플이 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정되면 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0024] 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플에서 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 샘플이 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정되면 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0025] 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 FTI를 이용한 치료를 위한 암 환자의 개체군 선별 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 암 환자 개체군을 선별하는 방법, 및 치료적 유효량의 FTI

로 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

- [0026] 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이는 H-Ras의 G12, G13 및 Q61에서의 아미노산 치환일 수 있다.
- [0027] 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이, K-Ras 돌연변이, 및 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖지만, K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정되면 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함하는, 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 (a) 암 환자가 H-Ras 돌연변이 및 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.
- [0028] 일부 실시형태에서, 개체는 혈액암을 가진다. 일부 실시형태에서, 개체는 고형 종양을 가진다. 일부 실시형태에서, 암은 HPV 음성이다. 일부 실시형태에서, 암은 간세포 암종, 두경부암, 침샘 종양, 갑상선 종양, 요로암, 유방암, 흑색종, 위암, 췌장암 또는 폐암이다. 일부 실시형태에서, 암은 두경부 편평세포 암종(HNSCC)이다. 일부 실시형태에서, 암은 침샘 암종이다. 일부 실시형태에서, 암은 갑상선 종양이다.
- [0029] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 개체에서 HNSCC를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 HPV 음성 HNSCC일 수 있다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 재발/반복 HNSCC일 수 있다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 전이성 HNSCC일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) HNSCC를 가진 개체로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 치료적 유효량의 티피파르닙을 개체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0030] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 개체에서 침샘 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 침샘 종양은 HPV 음성일 수 있다. 일부 실시형태에서, 침샘 종양은 진행된 침샘 종양(advanced salivary gland tumor)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 침샘 종양은 전이성 침샘 종양일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 침샘 종양을 가진 개체로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 치료적 유효량의 티피파르닙을 개체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0031] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 개체에서 갑상선암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 HPV 음성일 수 있다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 진행된 갑상선암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 전이성 갑상선암일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 갑상선암을 가진 개체로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 치료적 유효량의 티피파르닙을 개체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0032] 일부 실시형태에서, 샘플은 종양 생검이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 조직 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 말초 혈액 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 혈청 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)이다.
- [0033] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득된 핵산을 분석함으로써 결정된다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득된 단백질을 분석함으로써 결정된다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석, 변성 고-성능 액체 크로마토그래피(DHPLC), 또는 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 멀티플렉싱 PCR(multiplexing PCR)에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 차세대 시퀀싱(next generation sequencing)에 의해 결정된다.
- [0034] 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 로나파르닙(SCH-66336), CP-609,754, BMS-214662, L778123, L744823, L739749, R208176, AZD3409 및 FTI-277로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, FTI는 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번("b.i.d.") 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 매일 경구로 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 반복되는 4주 사이클에서 4주 중 3주 동안 경구로 하루 두번 300 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 반복되는 4주 사이클에서 4주 중 3주 동안 경구로 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 반복되는 4주 사이

클에서 격주로(1주 온(on), 1주 오프(off))(반복된 28-일 사이클의 1-7일 및 15-21일) 경구로 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 격주로(반복되는 28-일 사이클의 1-7일 및 15-21일) 경구로 하루 두번 1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 반복되는 28-일 사이클의 1-5일 및 15-19일 동안 경구로 하루 두번 1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 환자는 적어도 세 번의 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 적어도 여섯 번의 치료 사이클이 주어진다.

[0035] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 또한 개체에게 두번째 치료법을 투여하는 것을 포함한다. 두번째 치료법은 방사선요법일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 또한 개체에게 두 번째의 치료적 유효량의 두번째 활성 제제 또는 보조 케어 치료법(support care therapy)을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 두번째 활성 제제는 DNA-저메틸화 제제, 암 항원에 특이적으로 결합하는 치료 항체, 조혈 성장 인자, 사이토카인, 항암 제제, 항생제, cox-2 억제제, 면역조절 제제, 항-흉선세포 글로불린, 면역억제 제제, 코르티코스테로이드 또는 그의 약리학적 유도체이다. 일부 실시형태에서, 두번째 활성 제제는 아자시티딘 또는 데시타빈과 같은 DNA-저메틸화 제제이다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 항-PD1 항체 또는 항-PDL1 항체이다.

[0036] 일부 실시형태에서, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위한 본 발명에서 제공되는 키트는 암 환자를 KIR 타이핑하기 위한 적어도 하나의 제제, 및 보조 제제를 포함하며, 만일 암 환자가 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이면 암 환자는 FTI 치료에 반응성인 것으로 예측된다. 키트는 HLA 타이핑을 위한 제제를 추가로 포함할 수 있으며, 만일 암 환자가 HLA-C2의 보유자이면 암 환자는 FTI 치료에 반응성인 것으로 예측된다.

[0037] 일부 실시형태에서, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위한 본 발명에서 제공되는 키트는 암 환자로부터의 샘플에서 적어도 하나의 바이오마커의 발현을 결정하기 위한 적어도 하나의 제제, 및 보조 제제를 포함하며, 바이오마커는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어진 군으로부터 선택되며; 만일

[0038] (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;

[0039] (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;

[0040] (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;

[0041] (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;

[0042] (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나;

[0043] (vi) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는

[0044] (vii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 기준 비율보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이면,

[0045] 암 환자는 FTI 치료에 반응성인 것으로 예측된다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1a는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 임상 결과와 KIR2DS5 발현 수준의 상관성을 보여준다. "SD"는 "안정한 질병"을 나타내며; "PD"는 "진행성 질병"을 나타내며; "CR"은 "완전한 반응"을 나타내며; "HI"는 "혈액학적 개선"을 말한다. 도 1b는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 무진행 생존기간("PFS")과 KIR2DS5 발현 수준의 상관성을 보여준다.

도 2a는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율과 PFS 사이의 상관성을 보여준다. 도 2b는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율과 전체 생존기간("OS") 사이의 상관성을 보여준다.

도 2a: 콕스의 비례적 위험 회귀(Cox Proportional Hazards Regression)

파라미터	b	SE	Wald	P	Exp(b)	Exp(b)의 95% CI
2DS/2DL	-7.4132	2.0012	13.7227	0.0002	0.0006	0.0000내지0.0299

도 2b: 콕스의 비례적 위험 회귀

	b	SE	Wald	P	Exp(b)	Exp(b)의 95% CI
2DS2/2DL2 비율	-5.3430	1.6871	10.0296	0.0015	0.0048	0.0002내지0.1283

도 3a 및 3b는 둘 모두 비-FTI 화학요법 제제로 치료된 AML 환자의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율과 OS 사이의 상관성의 결핍을 보여준다. 도 3a에서, 환자는 고 투여량의 시타라빈 및 미토잔트론으로 치료되었다. 도 3b에서, 환자는 고 투여량의 시타라빈 및 미토잔트론/강한 화학요법으로 치료되었다.

도 4a는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5A의 발현 수준의 비율과 PFS 및 OS 둘 모두 사이의 상관성을 보여준다. 도 4b는 비-FTI 화학요법 제제(시타라빈 및 미토잔트론)로 치료된 AML 환자의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5A의 발현 수준의 비율과 OS 사이의 상관성의 결핍을 보여준다.

도 4a: 콕스의 비례적 위험 회귀

티피파르닙/PFS	b	SE	Wald	P	Exp(b)	Exp(b)의 95%CI
2DS5/2DL5A 비율	-3.5254	1.2351	8.1480	0.0043	0.0294	0.0026내지0.3272

도 5는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 임상 결과와 GZMM 발현 수준의 상관성을 보여준다.

도 6a는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 생존기간과 GZMM 발현 수준 사이의 상관성을 보여준다. 도 6b는 비-FTI 화학요법 제제(시타라빈 및 미토잔트론)로 치료된 AML 환자의 생존기간과 GZMM 발현 수준 사이의 상관성의 결핍을 보여준다.

도 6a: 콕스의 비례적 위험 회귀

(티피파르닙)	b	SE	Wald	P	Exp(b)	Exp(b)의 95%CI
GZMM/OS	-0.5642	0.1652	11.6675	0.0006	0.5688	0.4122내지0.7850
GZMM/PFS	-0.5856	0.1809	10.4780	0.0012	0.5568	0.3913내지0.7923

도 7a는 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 임상 결과와 KIR2DS2 발현 수준의 상관성을 보여준다. 도 7b는 티피파르닙으로 치료되지만(좌측 패널) 비-FTI 화학요법 제제(우측 패널)로는 치료되지 않은 AML 환자의 임상 결과와 KIR2DS2 발현 수준의 구체적 상관성을 보여준다.

도 8은 티피파르닙으로 치료된 AML 환자에서 N-RAS 야생형 상태와 연장된 무진행 생존기간("PFS") 사이의 상관성을 보여준다.

도 9는 돌연변이 N-RAS를 가진 환자들에 비교한 야생형 N-RAS를 가진 AML 환자에서의 티피파르닙 치료에 대한 더 높은 반응률을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

1. 정의

[0047]

본 명세서에서 사용될 때, 관사는 관사의 문법적 대상 하나 이상을 말한다. 예를 들어, 바이오마커는 하나의 바이오마커 또는 하나 보다 많은 바이오마커를 말한다.

[0048]

[0049]

본 명세서에서 사용될 때, 용어 "NK 세포" 또는 "천연 킬러 세포"는 T 세포와 공통된 전구체세포를 공유하지만, B 세포 또는 T 세포 표면 마커를 갖지 않는 골수-유래 대형 과립 림프구 타입을 말한다. NK 세포는 보통 모든 순환 림프구의 10-15%를 구성한다. NK 세포는 바이러스 감염된 세포 또는 종양 세포의 표면 상의 구조를 인식하며 세포독소를 방출하여 이들 세포를 사멸시키는 선천성 면역의 방어 세포이다. NK 세포는 이전의 항원 노출없이 활성화될 수 있다.

- [0050] 감염된 세포 또는 종양 세포를 선택적으로 사멸시키기 위하여, NK 세포는 병든 세포로부터 건강한 세포를 구별해야 한다. 인간 NK 세포의 세포용해 활성은 NK 세포의 표면 상에 발현되는 억제성 및 활성화성 막 수용체와 종양 세포 또는 골수 이식 수용체로부터의 세포를 비롯한 비-NK 세포에 의해 발현되는 MHC(HLA) 클래스 I 분자의 상호작용에 의해 조절된다. 염색체 19q13.4.3-5에 맵핑되는 킬러 세포 면역글로블린-유사 수용체(KIR; 또는 CD158)는 NK 세포의 활성화 역치를 조절하는 MHC-I(HLA-A, -B, -C) 결합 수용체 패밀리를 구성한다(Valiante et al. *Immunity* 7:739-751(1997)).
- [0051] 인간에서, 클래스 I HLA 복합체는 약 2000 kb 길이이고 약 20개 유전자를 함유한다. 클래스 I 영역 내에 HLA-A, HLA-B 및 HLA-C로 지정된 잘 규명된 클래스 I MHC 분자를 인코딩하는 유전자가 존재한다. 또한, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-H, HLA-J 및 HLA-X를 포함하는 비전통적 클래스 I 유전자 및 MIC로 알려진 새로운 패밀리가 있다. HLA-A 및 -B가 일부 역할을 하는 한편, KIR과 HLA-C 분자 사이의 상호작용이 NK 세포가 건강한 자가 세포를 공격하는 것을 방지하는데에 지배적이다(Colonna et al. *PNAS*, 90:1200-12004 (1993); Moesta AK et al., *Front Immunol.* 3:336(2012)).
- [0052] HLA-C 유전자는 성숙 단백질 내의 아미노산 위치 80에서의 아스파라긴 또는 리신의 존재에 기초한 HLA-C1 및 HLA-C2를 비롯하여 다수의 대립유전자를 가진다(Mandelboim et al. 1996). 또한, HLA-C1은 아미노산 위치 77에서 보존된 세린 잔기를 함유하는 한편, HLA-C2에서는 동일한 위치에 아스파라긴이 존재한다. 따라서, 적어도 세 가지의 유전형이 HLA-C에 관하여 구별될 수 있다: HLA-C1 및 HLA-C2 둘 모두를 가진 것(HLA-C1/HLA-C2 이형접합성), HLA-C1(HLA-C1/HLA-C1 동형접합성) 또는 HLA-C2(HLA-C2/HLA-C2 동형접합성)를 가진 것, 및 HLA-C1 및 HLA-C2 둘 모두가 결핍된 것.
- [0053] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "KIR 유전자"는 NK 세포 상의 KIR 수용체를 인코딩하는 유전자를 말한다. KIR 유전자는 유전자 내용 및 서열 다형성 둘 모두의 면에서 인간 계놈의 가장 가변적 영역 중 하나에 모여있다. 이 광범위한 가변성은 KIR이 조합 방식으로 세포 표면에서 발현되는 NK 세포의 레퍼토리를 생성한다. KIR과 표적 세포 상의 그들의 적절한 리간드 사이의 상호작용이 NK 세포 기능을 조절하는 양성 또는 음성 시그널의 생산을 야기한다.
- [0054] KIR 유전자는 두 가지 주요 하플로타입(haplotype)으로 유전된다: A 및 B. 하플로타입 A는 22 bp 결실로 인해 US 인구의 대부분에서 불활성화되는 활성화성 수용체 KIR2DS4 한가지만을 가진다. KIR 하플로타입 B는 각각 백인 미국인의 ~45% 및 ~25%에서 존재하는 22 KIR2DS2 및 16 KIR2DS5 대립유전자를 포함한다. KIR2DS2(활성화성) 및 KIR2DL2(억제성) 사이에는 강한 연관 비평형이 있다. DNA 메틸화는 대립유전자-특이적 KIR 유전자 발현을 유지한다(예를 들어, KIR2DS2 프로모터 내의 CpG 섬은 -160부터 +26까지 걸쳐있으며 6 시토신 부위를 가진다)(Moesta AK et al., *Front Immunol.* 3:336(2012)).
- [0055] 현재까지, 적어도 14가지의 다른 KIR 유전자가 확인되었으며, 이들은 KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DL5, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3, KIR3DS1이다. 이들 유전자는 광범위한 서열 동일성을 공유한다. 각 유전자는 약 9-16 Kb 길이며, 시그널 펩티드, 2 또는 3개의 세포의 도메인, 스템, 경막 영역 및 세포질 꼬리를 인코딩하는 8-9개의 엑손으로 나누어져 있다. 이들 유전자는 상이한 KIR 하플로타입에서 그들의 존재 또는 부재에 관하여 변하여, 개체군에서 관찰되는 KIR 유전형의 수에서 상당한 다양성을 생성한다. 예를 들어, 일부 개인은 14 KIR 유전자 중 7개만 보유할 수 있는 반면, 다른 개인은 14 KIR 유전자 중 12개를 보유할 수 있다. 각 KIR 유전자는 억제성 또는 활성화 KIR을 인코딩한다. 예를 들어, KIR2DS2 및 KIR2DS5는 둘 모두 활성화 KIR이며, KIR2DL2 및 KIR2DL5는 둘 모두 억제성 KIR이다. 하나의 특정 KIR 유전자가 다수의 대립유전자를 가질 수 있다. 예를 들어, KIR2DL5는 두 개의 대립유전자 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B를 포함한다. 따라서, KIR2DL5에 관하여 4개의 유전형이 구별될 수 있다: KIR2DL5A 및 KIR2DL5B 둘 모두를 가진 것, KIR2DL5A 또는 KIR2DL5B를 가진 것, 및 KIR2DL5가 결핍된 것.
- [0056] 인간 KIR2DS2(GenBank: GQ921920.1; GI:261362473)의 예시적인 아미노산 서열 및 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MSLMVVSMVCVGFLLQGAWPHEGVHRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQC
WSDVRFEHLLHREGKYKDTLHLIGEHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTY
RCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCS
SRSSYDMYHLSREGEAHERRFSAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCF
GSFRDSPYEWSNSSDPLLVSVTGNPSNSWPSPTSPSSKTGNPRHLHVLIGT
SVVKIPFTILLFFLLHRWCSNKKNAAVMDQEPAGNRTVNSEDSDEQDHQE
VSYA (서열 번호 1)

ATGTCGCTCATGGTCGTCAGCATGGTGTGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGC
AGGGGGCCTGGCCACATGAGGGAGTCCACAGAAAACCTTCCCTCCTG
GCCACCCAGGTCCCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCA
ATGTTGGTCAGATGTCAGGTTTGAGCACTTCTTCTGCACAGAGAGGG
GAAGTATAAGGACACTTTGCACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGT
CTCCAAGGCCAACTTCTCCATCGGTCCCATGATGCAAGACCTTGCAGG
GACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTACTCACTCCCCCTATCAGTTGTCA
GCTCCCAGTGACCCTCTGGACATCGTCATCACAGGTCTATATGAGAAA
CCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTTTGGCAGGAGAGAGC
GTGACCTTGTCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTAT
CCAGGGAGGGGGAGGCCCATGAACGTAGGTTCTCTGCAGGGCCCAAG
GTCAACGGAACATTCCAGGCCGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCAC
GGAGGAACCTACAGATGCTTCGGCTCTTCCGTGACTCTCCCTATGAG
TGGTCAAACCTCGAGTGACCCACTGCTTGTCTGTCTCACAGGAAACCCT

[0057]

TCAAATAGTTGGCCTTACCCACTGAACCAAGCTCCAAAACCGGTAAC
CCCAGACACCTGCATGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCAAAATCCCT
TTCACCATCCTCCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCCAACAAAA
AAAATGCTGCTGTAATGGACCAAGAGCCTGCAGGGAACAGAACAGTG
AACAGCGAGGATTCTGATGAACAAGACCATCAGGAGGTGTCATACGC
ATAA (서열 번호 2)

[0058]

[0059]

인간 KIR2DL2(GenBank: EU791546.1; GI:209512828)의 예시적인 아미노산 서열 및 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MSLMVVSMA CVGFFLLQGAWPHEGVHRKPSLLAHPGRLVKSEETVILQC
 WSDVRFEFHLLHREGKFKDTLHLIGEHHDGVSKANFSIGPMMQDLAGTY
 RCYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSCS
 SRSSYDMYHLSREGEAHECRFSAGPKVNGTFQADFPLGPATHGGTYRCF
 GSFDRSPYEWSNSSDPLLVS VIGNPSNSWSPSTEPSSKTGNPRHLHILIGTS
 VVILFILLFFLLHRWC SNKKNAAVMDQESAGNRTANSEDSDEQDPQEV
 YTQLNHCVFTQRKITRPSQRPKTPPTDIIVYTELPNAESRSKVVSCP
 (서열 번호 3)

ATGTCGCTCATGGTCGTCAGCATGGCGTGTGTTGGGTCTTCTTGCTGC
 AGGGGGCCTGGCCACATGAGGGAGTCCACAGAAAACCTTCCCTCCTG
 GCCACCCAGGTCGCCTGGTGAAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCA
 ATGTTGGTCAGATGTCAGGTTTGAGCACTTCTTCTGCACAGAGAAGG
 GAAGTTTAAGGACACTTTGACCTCATTGGAGAGCACCATGATGGGGT
 CTCCAAAGCCAACTTCTCCATCGGTCCCATGATGCAAGACCTTGCAGG
 GACCTACAGATGCTACGGTTCTGTTACTCACTCCCCCTATCAGTTGTCA
 GCTCCAGTGACCCTCTGGACATCGTCATCACAGGTCTATATGAGAAA
 CCTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTTCTGGCAGGAGAGAGC
 GTGACCTTGTCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTAT
 CCAGGGAGGGGGAGGCCATGAATGTAGGTTCTCTGCAGGGCCCAAG
 GTCAACGGAACATTCCAGGCCGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCAC
 GGAGGAACCTACAGATGCTTCGGCTCTTCCGTGACTCTCCATACGAG
 TGGTCAAACCTCGAGTGACCCACTGCTTGTCTTCTGTCATAGGAAACCTT

[0060]

CAAATAGTTGGCCTTCAACCACTGAACCAAGCTCTAAAACCGGTAACC
 CCCGACACCTGCACATTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCATCATCCTCTT
 CATCCTCTCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCCAACAAAAAAT
 GCTGCGGTAATGGACCAAGAGTCTGCAGGGAACAGAACAGCGAATAG
 CGAGGACTCTGATGAACAAGACCCTCAGGAGGTGACATACACACAGT
 TGAATCACTGCGTTTTACACAGAGAAAAATCACTCGCCCTTCTCAGA
 GGCCCAAGACACCCCAACAGATATCATCGTGTACACGGAACCTTCAA
 ATGCTGAGTCCAGATCCAAAGTTGTCTCCTGCCATGA (서열 번호 4)

[0061]

[0062]

인간 KIR2DS5(GenBank: AJI81015.1; GI:754367842)의 예시적인 아미노산 서열 및 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MSLMVISMACVAFFLLQGAWPHEGFRRKPSLLAHPGPLVKSEETVILQC
WSDVMFEHFLLHREGTFNHTLRLIGEHDGVSCKGNFSIGRMTQDLAGTYR
CYGSVTHSPYQLSAPSDPLDIVITGLYEKPSLSAQPGPTVLAGESVTLSLSCSS
RSSYDMYHLSREGEAHERRLPAGPKVNRTFQADFPLDPATHGGTYRCFG
SFRDSPYEWKSSDPLLVSVTGNSSNSWSPTEPSSETGNPRHLHVLIGTSV
VKLPFTILLFLLHRWCSNKKNASVMDQGPAGNRTVNREDSDEQDHQEV
SYA (서열 번호 5)

ATGTCGCTCATGGTCATCAGCATGGCGTGTGTTGCGTTCCTTCTTGCTGC
AGGGGGCCTGGCCACATGAGGGATTCCGCAGAAAACCTTCCCTCCTGG
CCCACCCAGGTCCCCTGGTGAATCAGAAGAGACAGTCATCCTGCAAT
GTTGGTCAGATGTCATGTTTGAGCACTTCCTTCTGCACAGAGAGGGGA
CGTTTAACACACTTTGCGCCTCATTGGAGAGCACATTGATGGGGTCT
CCAAGGGCAACTTCTCCATCGGTCGCATGACACAAGACCTGGCAGGG
ACCTACAGATGCTACGGTCTGTTACTCACTCCCCCTATCAGTTGTCAG
CGCCAGTGACCCTCTGGACATCGTGATCACAGGTCTATATGAGAAAC
CTTCTCTCTCAGCCCAGCCGGGCCCCACGGTCTGGCAGGAGAGAGCG
TGACCTTGTCCTGCAGCTCCCGGAGCTCCTATGACATGTACCATCTATC
CAGGGAAGGGGAGGCCCATGAACGTAGGCTCCCTGCAGGGCCCAAGG
TCAACAGAACATTCCAGGCCGACTTTCCTCTGGACCCTGCCACCCACG
GAGGGACCTACAGATGCTTCGGCTCTTCCGTGACTCTCCATACGAGT

[0063]

GGTCAAAGTCAAGTGACCCACTGCTTGTTTCTGTACAGGAAACTCTT
CAAATAGTTGGCCTTCACCCACTGAACCAAGCTCCGAAACCGGTAACC
CCAGACACCTACACGTTCTGATTGGGACCTCAGTGGTCAAACCTCCCTT
TCACCATCCTCCTTCTTTCTCCTTCATCGCTGGTGCTCCAACAAAA
AAATGCATCTGTAATGGACCAAGGGCCTGCGGGGAACAGAACAGTGA
ACAGGGAGGATTCTGATGAACAGGACCATCAGGAGGTGTCATACGCA
TAA (서열 번호 6)

[0064]

[0065]

인간 KIR2DL5A(GenBank: ABM92655.1 GI:124245538)의 예시적인 아미노산 서열 및 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MSLMVISMACVGFLLQGAWTHEGGQDKPLLSAWPSAVVPRGGHVTL
CRSRLGFTIFSLYKEDGVPPELYNKIFWKSILMGPVTPAHAGTYRCRGS
PRSPIEWSAPSNPLVIVVTGLFGKPSLSAQPGPTVRTGENVTLSCSSRSSFD
MYHLSREGRAHEPRLPAVPSVDGTFQADFPLGPATHGGTYTCFSSLHDS
YEWSDPSDPLLVSVTGNSSSSSSSPTPESSKTGIRRHLHLIGTSVAIILFI
FLLHCCCSNKKNAAVMDQEPAGDRTVNREDSDDQDPQEVTYAQLDHC
VFTQTKITSPSQRPKTPPTDTTMYMELPNAKPRSLSPAHKHHSQALRGSS
ETTALSQNRVASSHVPAAGI

(서열 번호 7)

ATGTCGCTCATGGTCATCAGCATGGCGTGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGC
AGGGGGCCTGGACACATGAGGGTGGACAGGACAAGCCCTTGCTGTCT
GCCTGGCCACGCGCTGTGGTGCCTCGAGGAGGACATGTGACTCTTCTG
TGTCGCTCTCGTCTTGGGTTTACCATCTTCAGTCTGTACAAAGAAGATG
GGGTGCCTGTCCCTGAGCTCTACAACAAAATATTCTGGAAGAGCATCC
TCATGGGCCCTGTGACCCCTGCACACGCAGGGACCTACAGATGTCGGG
GTTACACCCCGCTCCCCATTGAGTGGTCGGCACCCAGCAACCCCC
TGGTGATCGTGGTCACAGGTCTATTTGGGAAACCTTCACTCTCAGCCC
AGCCGGGCCCCACGGTTCGCACAGGAGAGAACGTGACCTTGTCTGC
AGCTCCAGGAGCTCATTGACATGTACCATCTATCCAGGGAGGGGAGG

[0066]

GCCCATGAACCTAGGCTCCCTGCAGTGCCCAGCGTCGATGGAACATTC
CAGGCTGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGGACCTACACA
TGCTTCAGCTCTCTCCATGACTCACCCCTATGAGTGGTCAGACCCGAGT
GACCCACTGCTTGTCTGTACAGGAACTCTTCAAGTAGTTCATCTT
CACCCACTGAACCAAGCTCCAAAACCTGGTATCCGCAGACACCTGCACA
TTCTGATTGGGACCTCAGTGGCTATCATCCTCTTCATCATCCTCTTCTT
TTCTCCTTCATTGCTGCTGCTCCAACAAAAAGAATGCTGCTGTAATGG
ACCAAGAGCCTGCCGGGACAGAACAGTGAACAGGGAGGACTCTGAT
GATCAAGACCCTCAGGAGGTGACATATGCACAGTTGGATCACTGCGTT
TTCACACAGACAAAATCACTTCCCCTTCTCAGAGGCCCAAGACACCT
CCAACAGATACCACCATGTACATGGAACCTTCCAAATGCTAAGCCAAG
ATCATTGTCTCTGCCATAAGCACACAGTCAGGCCTTGAGGGGATC
TTCTAGGGAGACAACAGCCCTGTCTCAAACCCGGTTGCTAGCTCCCA
TGTACCAGCAGCTGGAATCTGA (서열 번호 8)

[0067]

[0068]

인간 KIR2DL5B(GenBank: ABM92657.1 GI:124245542)의 예시적인 아미노산 서열 및 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MSLMVVSMAVCVGFLLQGAWTHEGGQDKPLLSAWPSAVVPRGGHVTL
 CRSRLGFTIFSLYKEDGVPPELYNKIFWKSILMGPVTPAHAGTYRCRGS
 PRSPIEWSAPSNPLVIVVTGLFGKPSLSAQPGPTVRTGENVTLS
 SCSSRSSFD
 MYHLSREGRAHEPRLPAVPSVDGTFQADFPLGPATHGGTYTCFSS
 LHDS
 YEWSDPSDLLVSVTGNSSSSSSPTEPSSKTGILRHLHILIGTSVAIL
 FILF
 FLLHCCSNKNAAVMDQEPAGDRTVNREDSDDQDPQEVTYAQLDHC
 VFTQTKITSPSRPKTPPTDTTMYMELPNAKPRSLSPA
 HKHHSQALRGSSR
 ETTALSQNRVASSHVPAAGI (서열 번호 9)

ATGTCGCTCATGGTCGTCAGCATGGCGTGTGTTGGGTTCTTCTTGCTGC
 AGGGGGCCTGGACACATGAGGGTGGACAGGACAAGCCCTTGCTGTCT
 GCCTGGCCAGCGCTGTGGTGCCCTCGAGGAGGACATGTGACTCTTCTG
 TGTCGCTCTCGTCTTGGGTTTACCATCTTCAGTCTGTACAAAGAAGATG
 GGGTGCCTGTCCCTGAGCTCTACAACAAAATATTCTGGAAGAGCATCC

[0069]

TCATGGGCCCTGTGACCCCTGCACACGCAGGGACCTACAGATGTCGGG
 GTTACACCCCGCGCTCCCCATTGAGTGGTCGGCACCCAGCAACCCCC
 TGGTGATCGTGGTCACAGGTCTATTTGGGAAACCTTCACTCTCAGCCC
 AGCCGGGCCCCACGGTTCGCACAGGAGAGAACGTGACCTTGTCTGC
 AGCTCCAGGAGCTCATTTGACATGTACCATCTATCCAGGGAGGGGAGG
 GCCCATGAACCTAGGCTCCCTGCAGTGCCAGCGTCGATGGAACATTC
 CAGGCTGACTTTCCTCTGGGCCCTGCCACCCACGGAGGGACCTACACA
 TGCTTACAGCTCTCTCCATGACTCACCCCTATGAGTGGTCAGACCCGAGT
 GACCCACTGCTTGTCTTCTGTACAGGAACTCTTCAAGTAGTTCATCTT
 CACCCACTGAACCAAGCTCCAAAACCTGGTATCCTCAGACACCTGCAC
 ATTCTGATTGGGACCTCAGTGGCTATCATCCTCTTCATCATCCTCTTCT
 TCTTTCTCCTTATTGCTGCTGCTCCAACAAAAGAATGCTGCTGTAAT
 GGACCAAGAGCCTGCCGGGGACAGAACAGTGAACAGGGAGGACTCTG
 ATGATCAAGACCCTCAGGAGGTGACATATGCACAGTTGGATCACTGCG
 TTTTCACACAGACAAAATCACTTCCCCTTCTCAGAGGCCCAAGACAC
 CTCCAACAGATAACCACCATGTACATGGAACCTTCCAAATGCTAAGCCAA
 GATCATTGTCTCCTGCCATAAGCACCACAGTCAGGCCTTGAGGGGAT
 CTTCTAGGGAGACAACAGCCCTGTCTCAAACCGGGTTGCTAGCTCCC
 ATGTACCAGCAGCTGGAATCTGA (서열 번호 10)

[0070]

[0071]

본 명세서에서 사용될 때, 용어 "KIR 타이핑"은 개체에서 KIR 유전자의 유전형을 결정하는 과정을 말하며, 개체의 게놈에서 하나 이상의 특정 KIR 유전자 또는 대립유전자의 존재 또는 부재를 결정하는 것을 포함한다. KIR 타이핑은 또한 개체의 게놈에서 하나 이상의 특정 KIR 유전자 또는 대립유전자의 카피수를 결정하는 것을 포함할 수 있다.

[0072]

본 명세서에서 사용될 때, 용어 "HLA 타이핑"은 개체에서 HLA 유전자의 유전형을 결정하는 과정을 말하며, 개체의 게놈에서 하나 이상의 특정 HLA 유전자 또는 대립유전자의 존재 또는 부재를 결정하는 것을 포함한다. HLA 타이핑은 또한 개체의 게놈에서 하나 이상의 특정 HLA 유전자 또는 대립유전자의 카피수를 결정하는 것을 포함할 수 있다.

[0073]

그랜자임(Granzyme) M(GZMM)은 다수의 세포독성 림프구 서브세트에서 발현된 세린 프로테아제이다. 과립-엑소사이토시스(granule-exocytosis) 경로는 세포독성 림프구가 바이러스-감염 및 종양 세포를 제거하는 주요 기전이

다. 이 경로에서, 세포독성 림프구는 기공-형성 단백질 퍼포린 및 그랜자임(GZM)으로 알려진 세린 프로테아제 패밀리를 함유하는 과립을 면역 시냅스 내로 방출한다. 퍼포린에 의한 기공-형성은 그랜자임의 표적 세포내로의 진입을 촉진하며, 세포에서 그랜자임은 다양한 사멸 경로를 활성화시킬 수 있다. 다섯 가지 인간 그랜자임이 있다: GZMA, GZMB, GZMH, GZMK, 및 GZMM. 다섯 가지 GZM 중에서, GZMM은 NK 세포 또는 NKT 세포를 위한 마커이며, GZMH는 세포독성 T 세포를 위한 마커이다(Poot, Cell Death and Differentiation 21:359-368 (2014)).

[0074] 인간 GZMM(NCBI Ref: NM_020535.3 GI:65508540)의 예시적인 아미노산 서열 및 상응하는 인코딩 핵산 서열은 하기에 제공된다:

MEACVSSLLVLALGALSVGSSFGTQIIGGREVIPHSRPMASLQRNGSHLC
GGVLVHPKWVLTAAHCLAQRMAQLRLVGLHTLDSPLTFHIKAAIQHP
RYKPVPALENDLALLQLDGKVKPSRTIRPLALPSKRQVVAAGTRCSMAG
WGLTHQGGRLSRVRELDLQVLDTRMCNNSRFWNGSLSPSMVCLAADS
KDQAPCKGDSGGPLVCGKGRVLAVLSFSSRVCTDIFKPPVATAVAPYVS
WIRKVTGRSA (서열 번호 11)

ATGGAGGCCTGCGTGTCTTACTGCTGGTGCTGGCCCTGGGGCCCTG
TCAGTAGGCAGTCCTTTGGGACCCAGATCATCGGGGGCCGGGAGGTG
ATCCCCACTCGCGCCCGTACATGGCCTCACTGCAGAGAAATGGCTCC
CACCTGTGCGGGGGTGTCTGGTGCACCCAAAGTGGGTGCTGACGGCT
GCCACTGCCTGGCCAGCGGATGGCCAGCTGAGGCTGGTGCTGGG
GCTCCACACCCTGGACAGCCCCGGTCTCACCTCCACATCAAGGCAGC
CATCCAGCACCTCGCTACAAGCCCGTCCCTGCCCTGGAGAACGACCT
CGCGCTGCTTCAGCTGGACGGAAAGTGAAGCCCAGCCGGACCATCC
GGCCGTTGGCCCTGCCAGTAAGCGCCAGGTGGTGGCAGCAGGGACT
CGGTGCAGCATGGCCGGCTGGGGGCTGACCCACCAGGGCGGGCGCCT
GTCCCGGTGCTGCGGGAGCTGGACCTCCAAGTGCTGGACACCCGCAT
GTGTAACAACAGCCGCTTCTGGAACGGCAGCCTCTCCCCAGCATGGT
CTGCCTGGCGGCCGACTCCAAGGACCAGGCTCCCTGCAAGGGTGACTC

[0075] GGGCGGGCCCTGGTGTGTGGCAAAGGCCGGGTGTTGGCCGGAGTCCT
GTCCTCAGCTCCAGGGTCTGCACTGACATCTTCAAGCCTCCCGTGCC
CACCGCTGTGGCGCCTTACGTGTCCTGGATCAGGAAGGTCACCGGCCG
ATCGGCCTGA (서열 번호 12)

[0076] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "개체"는 포유동물을 말한다. 개체는 인간 또는 개, 고양이, 소, 돼지, 말, 마우스, 래트, 토끼 또는 그의 트랜스제닉 종과 같은 비-인간 포유동물일 수 있다. 개체는 환자, 또는 암 환자일 수 있다.

[0077] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "암" 또는 "암성"은 전형적으로 조절되지 않는 세포 성장을 특징으로 하는 포유 동물에서의 생리학적 상태를 말한다. 암의 예는 혈액암(예를 들어, 다발성 골수종, 림프종 및 백혈병) 및 고형 종양을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "전암 상태"는 치료하지 않으면 암이 될 수 있는, 암의 위험 증가와 연관된 상태를 말한다. 전암 상태는 또한 공격적인 침습적 단계로 진행하지 않은 비-침습성 암을 지칭할 수 있다.

[0078] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "치료하다" "치료하는" 및 "치료"는 암 환자와 관련하여 사용될 경우, 암의 심각성을 감소시키거나 암의 진행을 지연시키거나 늦추는 행위를 말하며, (a) 암 성장을 억제하거나, 암의 발달을 중단시키는 것, 및 (b) 암의 퇴행을 야기하거나, 암의 존재와 연관된 하나 이상의 증상을 지연시키거나 최소화하는 것을 포함한다.

- [0080] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "결정하는"은 정량적으로 또는 정성적으로 물질의 존재를 평가하기 위하여 임의의 형태의 측정을 이용하는 것을 말한다. 측정은 상대적이거나 절대적일 수 있다. 물질의 존재를 측정하는 것은 물질이 존재하거나 부재하는지 여부를 결정하거나 물질의 양을 결정하는 것을 포함할 수 있다.
- [0081] 본 명세서에서 사용될 때, 유전자와 관련하여 사용될 경우 용어 "보유자"는 그의 게놈이 적어도 한 카피의 그 유전자를 포함하는 개체를 말하며, 유전자의 대립유전자와 관련하여 사용될 경우에는 그의 게놈이 특정 대립유전자 적어도 한 카피를 포함하는 개체를 말한다. 예를 들어, KIR2DS2의 보유자는 그의 게놈이 적어도 한 카피의 KIR2DS2를 포함하는 개체를 말한다. 만일 유전자가 하나 보다 많은 대립유전자를 가지면, 그 유전자의 보유자는 그의 게놈이 그 유전자의 적어도 하나의 대립유전자의 적어도 한 카피를 포함하는 개체를 말한다. 예를 들어, 유전자 KIR2DL5는 두 가지의 공지의 대립유전자 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B를 가진다. KIR2DL5A의 보유자는 그의 게놈이 적어도 한 카피의 대립유전자 KIR2DL5A를 포함하는 개체를 말하며; KIR2DL5B의 보유자는 그의 게놈이 적어도 한 카피의 대립유전자 KIR2DL5B를 포함하는 개체를 말한다. KIR2DL5의 보유자는 그의 게놈이 적어도 한 카피의 KIR2DL5A, KIR2DL5B, 또는 둘 모두를 포함하는 개체를 말한다. 다른 예로서, HLA-C2의 보유자는 그의 게놈이 적어도 한 카피의 대립유전자 HLA-C2를 포함하는 개체를 말한다. 개체는 HLA-C2/HLA-C2 동형접합성 또는 HLA-C1/HLA-C2 이형접합성일 수 있다.
- [0082] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "투여하다", "투여하는" 또는 "투여"는 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 방법에 의해 개체의 신체에 화합물 또는 약학 조성물을 전달하거나 전달되도록 하는 작용을 말한다. 화합물 또는 약학 조성물을 투여하는 것은 화합물 또는 약학 조성물이 환자의 신체 내로 전달되도록 처방하는 것을 포함한다. 예시적인 투여 형태는 경구 투약 형태, 예를 들어, 정제, 캡슐, 시럽, 현탁액; 주사용 투약 형태, 예를 들어, 정맥내(IV), 근육내(IM) 또는 복강내(IP); 크림, 젤리, 분말 또는 패치를 비롯한 경피 투약 형태; 불 투약 형태; 흡입 분말, 스프레이, 현탁액 및 직장 좌약을 포함한다.
- [0083] 본 명세서에서 사용될 때, 질병 또는 질환과 관련하여 사용될 경우 용어 "치료적 유효량"은 질병 또는 질환의 치료 또는 관리에서 치료 효과를 제공하거나 질병 또는 질환과 연관된 하나 이상의 증상을 지연시키거나 최소화하기 위해 충분한 양을 말한다. 화합물의 치료적 유효량은 단독으로 또는 다른 치료법과 조합되어, 질병 또는 질환의 치료 또는 관리에서 치료적 효과를 제공하는 화합물의 양을 의미한다. 이 용어는 전체적인 치료법을 개선하거나, 증상을 감소 또는 피하거나, 다른 치료제의 치료 효능을 향상시키는 양을 포함한다. 이 용어는 또한 연구자, 의사, 의사 또는 임상가에 의해 연구되는 생물 분자(예를 들어, 단백질, 효소, RNA 또는 DNA), 세포, 조직, 시스템, 동물, 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 충분히 유발하는 화합물의 양을 말한다.
- [0084] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "샘플"은 하나 이상의 관심 성분을 함유한 물질 또는 물질의 혼합물을 말한다. 개체로부터의 샘플은 인 비보 또는 인 시추에서 수득되거나, 도달되거나 수집된, 생물 조직 또는 유체 기원의 샘플을 비롯한, 개체로부터 수득된 샘플을 말한다. 샘플은 전암 또는 암 세포 또는 조직을 함유한 개체의 영역으로부터 수득될 수 있다. 그러한 샘플은 포유동물로부터 분리된 기관, 조직, 분획 및 세포일 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 예시적인 샘플은 골수, 전혈, 부분 정제된 혈액, 말초 혈액 단핵 세포("PBMC"), 및 조직 생검을 포함할 수 있다. 예시적인 샘플은 또한 세포 용해물, 세포 배양물, 세포주, 조직, 구강 조직, 위장 조직, 기관, 세포기관, 생물유체, 혈액 샘플, 소변 샘플, 피부 샘플 등을 포함한다.
- [0085] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "바이오마커"는 개별 개체에 존재하거나 부재할 수 있는, 또는 개별 개체에서 존재하지만 차등적으로 발현될 수 있는 유전자를 말한다. 개체로부터의 샘플에서 바이오마커의 발현 수준을 비롯한 바이오마커의 존재는 FTI 치료와 같은, 특정 치료에 대한 개체의 반응성을 나타낼 수 있다.
- [0086] 본 명세서에서 사용될 때, 유전자와 관련하여 사용될 경우 용어 "발현하다" 또는 "발현"은 유전자에 의해 보유된 정보가 표현형으로서 나타나게 되는 과정을 말하며, 메신저 RNA(mRNA)로의 유전자의 전사, mRNA 분자의 폴리펩티드 쇄로의 후속 번역 및 최종 단백질로의 그 조립을 포함한다.
- [0087] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "바이오마커의 RNA 생성물"은 바이오마커로부터 전사된 RNA 전사물을 말하며, 용어 "바이오마커의 단백질 생성물"은 바이오마커의 RNA 생성물로부터 번역된 단백질 또는 폴리펩티드를 말한다.
- [0088] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 바이오마커의 "발현 수준"은 예를 들어, 바이오마커의 RNA 생성물의 양(바이오마커의 RNA 수준) 또는 바이오마커의 단백질 생성물의 양(바이오마커의 단백질 수준)과 같은, 바이오마커의 발현 생성물의 양 또는 축적을 말한다. 만일 바이오마커가 하나 보다 많은 대립유전자를 가진 유전자라면, 바이오마커의 발현 수준은 달리 특정되지 않으면, 이 유전자를 위한 모든 존재하는 대립유전자의 발현 생성물의 축적

된 총량을 말한다. 예를 들어, KIR2DL5의 발현 수준은 달리 특정되지 않으면, KIR2DL5A 및 KIR2DL5B 둘 모두의 총 발현 수준을 말한다.

- [0089] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "기준 발현 수준"은 개체로부터의 샘플 내의 바이오마커의 발현 수준의 유의성을 결정하기 위하여 사용할 수 있는 바이오마커의 선결된 발현 수준을 말한다. 바이오마커의 기준 발현 수준은 건강한 개인으로부터의 샘플에서 바이오마커의 발현 수준일 수 있다. 바이오마커의 기준 발현 수준은 또한 샘플 개체군에서 바이오마커의 발현 수준 및 샘플 개체군에서 개인의 치료에 대한 반응성의 통계적 분석을 통해 당업자에 의해 결정된 컷오프(cut-off) 값일 수 있다. 예를 들어, 샘플 개체군의 개인에서 GZMM의 발현 수준 및 FTI 치료에 대한 이들 개인의 반응성을 분석함으로써, 당업자는 GZMM의 기준 발현 수준으로서 컷오프 값을 결정할 수 있으며, 이때 만일 개체의 GZMM의 발현 수준이 기준 발현 수준 보다 높으면 개체는 FTI 치료에 반응성일 가능성이 있다.
- [0090] 본 명세서에서 사용될 때, 치료와 관련하여 사용될 경우 용어 "반응성" 또는 "반응하는"은 치료 중인 질병의 증상을 경감하거나 감소시키는데 있어서 치료의 효과를 말한다. 예를 들어, 암 환자는 만일 FTI 치료가 암 성장을 효과적으로 억제하거나 암의 발달을 중지시키거나, 암의 퇴행을 야기하거나, 또는 이 환자에서 암의 존재와 연관된 하나 이상의 증상을 지연하거나 최소화시킨다면, FTI 치료에 반응성이다.
- [0091] 암 환자의 특정 치료에 대한 반응성은 완전한 또는 부분적인 반응으로 특징지을 수 있다. "완전 반응" 또는 "CR"은 이전의 비정상적인 방사선촬영 연구, 골수 및 뇌척수액(CSF) 또는 비정상적인 단클론 단백질 측정의 정상화와 함께, 임상적으로 검출가능한 질병의 부재를 말한다. "부분 반응" 또는 "PR"은 새로운 병변의 부재하에서 모든 측정가능한 종양 크기(즉, 개체에 존재하는 악성 세포의 수, 또는 종양 덩어리의 측정된 부피 또는 비정상 단클론 단백질의 양)에서 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90% 감소를 말한다.
- [0092] 당업자는 CR, PR, 또는 치료에 대한 환자 반응성의 다른 수준을 정의하기 위해 이용되는 임상 표준이 상이한 타 입의 암에 대해 변할 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들어, 혈액암의 경우, 특정 치료에 "반응하는" 환자는 완전 반응(CR), 부분 반응(PR) 또는 혈액학적 개선(HI)을 갖는 환자로서 정의될 수 있다(Lancet et al., Blood 2:2 (2006)). HI는 5% 미만의 임의의 골수 아세포 수(bone marrow blast count) 또는 골수 아세포에서 적어도 절반의 감소로서 정의될 수 있다. 다른 한편, 특정 치료에 "반응하지 않는" 환자는 진행성 질병(PD) 또는 안정한 질병(SD)을 갖는 환자로 정의될 수 있다. 진행성 질병(PD)은 골수 또는 순환 아세포 %에서 기준선으로부터 >50% 증가, 또는 순환 아세포의 새로운 출현(적어도 2 연속적 경우에서)으로 정의될 수 있다. 안정한 질병(SD)은 CR, PR, HI, 또는 PD 기준을 충족하지 않는 임의의 반응으로 정의될 수 있다.
- [0093] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "가능성"은 사건의 확률을 말한다. 조건이 충족될 때 개체가 특정 치료에 반응할 "가능성이 있다"는 것은 개체가 특정 치료에 반응할 확률이 조건이 충족되지 않을 경우 보다 조건이 충족될 경우에 더 높다는 것을 의미한다. 특정 치료에 반응할 확률은 조건을 충족하지 않는 개체에 비하여 특정 조건을 충족하는 개체에서 예를 들어, 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200% 이상 더 높을 수 있다. 예를 들어, 개체가 KIR2DS2의 보유자인 경우 암 환자가 FTI 치료에 반응할 "가능성이 있다"는 것은 개체가 FTI 치료에 반응할 확률이 KIR2DS2의 보유자가 아닌 개체에 비하여 KIR2DS2의 보유자인 개체에서 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200% 이상 더 높다는 것을 의미한다. 다른 예로서, 개체로부터의 샘플에서 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준 보다 높을 경우에 개체가 티피파르닙 치료에 반응할 "가능성이 있다"는 것은 개체가 티피파르닙 치료에 반응할 확률이 GZMM의 발현 수준이 기준 발현 수준 보다 낮은 개체에 비하여 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준 보다 높은 개체에서 5%, 10%, 25%, 50%, 100%, 200% 이상 더 높음을 의미한다.
- [0094] Ras 단백질은 세포의 시그널로부터의 생물학적 정보를 핵으로 전달하여 증식을 조절하는 GTP아제이다. 포유동물 세포는 H-Ras, N-Ras, K_A-Ras 및 K_B-Ras의 4가지의 Ras 단백질을 인코딩하는 3개의 *ras* 유전자를 발현한다. K_A-Ras 및 K_B-Ras는 또한 일반적으로 K-Ras로 불린다. Ras 단백질은 활성의, GTP-결합된 또는 비활성의, GDP-결합된, 상태로 존재한다. 돌연변이 RAS 단백질은 결합있는 고유의 GTP아제 활성 및/또는 GTP아제 활성화 단백질(GAP)에 의한 불활성화에 대한 저항성으로 인하여 GTP-결합된 형태로 축적된다. 그들의 GTP-결합된 활성화된 상태로 Ras 단백질을 고정시키는 돌연변이는 제어되지 않는 성장 및 악성 형질전환을 야기한다. K-Ras의 촉매 부위에서 글리신에서 발린으로의 치환을 야기하는 K-Ras 돌연변이는 GTP아제 활성의 상실 및 후속하여 GTP의 RAS에의 연속 결합을 야기한다(Yokota, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 12:163-171(2012)). 코돈 12에서의 아스파테이트 및 발린 그리고 코돈 13에서의 아스파테이트와 같은, 다른 아미노산의 치환은 더 큰 아미노산 측쇄가 단백질의 GDP/GTP 결합 포켓 내로 돌출되도록 하여 GTP 가수분해를 방해한다. 이들 형태 및 구조 변화의 결과로서 EGFR 시그널링이 K-Ras 단백질의 구성적 활성화에 대한 반응에서 탈조절된다(Herreros-

Villanueva *et al.*, *Clinica Chimica Acta* 431 (2014) 21:1-220).

[0095] 인간 K-Ras 아이소폼(Isoform) A(K_A-Ras)(GENBANK: NM_033360.3 GI:575403058)의 예시적인 아미노산 서열과 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MTEYKLVVVG AGGVGKSALT IQLIQNHFVD EYDPTIEDSY RKQVVIDGET
 CLLDILDITAG QEEYSAMRDQ YMRTGEGFLC VFAINNTKSF EDIHHYREQI
 KRVKDSSEVP MVLVGNKCDL PSRTVDTKQA QDLARSYGIP FIETSAKTRQ
 RVEDAFYTLV REIRQYRLKK ISKEEKTGPGC VKIKKCIIM

(서열 번호 13)

ATGACTGAAT ATAACTTGT GGTAGTTGGA GCTGGTGGCG TAGGCAAGAG
 TGCCTTGACG ATACAGCTAA TTCAGAATCA TTTTGTGGAC GAATATGATC
 CAACAATAGA GGATTCCTAC AGGAAGCAAG TAGTAATTGA TGGAGAAACC
 TGTCTCTTGG ATATTCTCGA CACAGCAGGT CAAGAGGAGT ACAGTGCAAT
 GAGGGACCAG TACATGAGGA CTGGGGAGGG CTTTCTTTGT GTATTTGCCA
 TAAATAATAC TAAATCATT GAAGATATC ACCATTATAG AGAACAAATT
 AAAAGAGTTA AGGACTCTGA AGATGTACCT ATGGTCCTAG TAGGAAATAA
 ATGTGATTTG CCTTCTAGAA CAGTAGACAC AAAACAGGCT CAGGACTTAG
 CAAGAAGTTA TGAATTCCT TTTATTGAAA CATCAGCAA GACAAGACAG
 AGAGTGGAGG ATGCTTTTTA TACATTGGTG AGGGAGATCC GACAATACAG
 ATTGAAAAA ATCAGCAAAG AAGAAAAGAC TCCTGGCTGT GTGAAAATTA
 AAAAATGCAT TATAATGTAA (서열 번호 14)

[0096]

[0097] 인간 K-Ras 아이소폼 B(K_B-Ras)(GENBANK: NM_033360.3 GI:575403058)의 예시적인 아미노산 서열과 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MTEYKLVVVG AGGVGKSALT IQLIQNHFVD EYDPTIEDSY RKQVVIDGET
 CLLDILDITAG QEEYSAMRDQ YMRTGEGFLC VFAINNTKSF EDIHHYREQI
 KRVKDSSEVP MVLVGNKCDL PSRTVDTKQA QDLARSYGIP FIETSAKTRQ
 GVDDAFYTLV REIRKHKMKM SKDGKKKKKK SKTKCVIM

(서열 번호 15)

ATGACTGAAT ATAACTTGT GGTAGTTGGA GCTGGTGGCG TAGGCAAGAG
 TGCCTTGACG ATACAGCTAA TTCAGAATCA TTTTGTGGAC GAATATGATC
 CAACAATAGA GGATTCCTAC AGGAAGCAAG TAGTAATTGA TGGAGAAACC
 TGTCTCTTGG ATATTCTCGA CACAGCAGGT CAAGAGGAGT ACAGTGCAAT
 GAGGGACCAG TACATGAGGA CTGGGGAGGG CTTTCTTTGT GTATTTGCCA
 TAAATAATAC TAAATCATT GAAGATATC ACCATTATAG AGAACAAATT
 AAAAGAGTTA AGGACTCTGA AGATGTACCT ATGGTCCTAG TAGGAAATAA
 ATGTGATTTG CCTTCTAGAA CAGTAGACAC AAAACAGGCT CAGGACTTAG
 CAAGAAGTTA TGAATTCCT TTTATTGAAA CATCAGCAA GACAAGACAG
 GGTGTTGATG ATGCCTCTA TACATTAGTT CGAGAAATTC GAAAAATAA
 AGAAAAGATG AGCAAAGATG GTAAAAAGAA GAAAAAGAAG TCAAAGACAA
 AGTGTGTAAT TATGTAA

(서열 번호 16)

[0098]

[0099] 인간 N-Ras(GENBANK: NM_002524.4 GI:334688826)의 예시적인 아미노산 서열과 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MTEYKLVVVG AGGVGKSALT IQLIQNHFVD EYDPTIEDSY RKQVVIDGET
 CLLDILDITAG QEEYSAMRDQ YMRTGEGFLC VFAINNSKSF ADINLYREQI
 KRVKSDSDVP MVLVGNKCDL PTRTVDTKQA HELAKSYGIP FIETSAKTRQ
 GVEDAFYTLV REIRQYRMKK LNSSDDGTQG CMGLPCVVM

[0100]

(서열 번호 17)

ATGACTGAGT ACAAACCTGGT GGTGGTTGGA GCAGGTGGTG TTGGGAAAAG
 CGCACTGACA ATCCAGCTAA TCCAGAACCA CTTTGTAGAT GAATATGATC
 CCACCATAGA GGATTCTTAC AGAAAACAAG TGGTTATAGA TGGTGAAACC
 TGTTTGTGG ACATACTGGA TACAGCTGGA CAAGAAGAGT ACAGTGCCAT
 GAGAGACCAA TACATGAGGA CAGGCGAAGG CTTCTCTGT GTATTTGCCA
 TCAATAATAG CAAGTCATTT GCGGATATTA ACCTCTACAG GGAGCAGATT
 AAGCGAGTAA AAGACTCGGA TGATGTACCT ATGGTGCTAG TGGGAAACAA
 GTGTGATTG CCAACAAGGA CAGTTGATAC AAAACAAGCC CACGAACTGG
 CCAAGAGTTA CGGGATTCCA TTCATTGAAA CCTCAGCCAA GACCAGACAG
 GGTGTTGAAG ATGCTTTTTA CACACTGGTA AGAGAAATAC GCCAGTACCG
 AATGAAAAAA CTCAACAGCA GTGATGATGG GACTCAGGGT TGTATGGGAT
 TGCCATGTGT GGTGATGTAA

[0101]

(서열 번호 18)

[0102]

인간 H-Ras(GENBANK: CR536579.1 GI:49168641)의 예시적인 아미노산 서열과 상응하는 인코딩 핵산 서열이 하기에 제공된다:

MTEYKLVVVG AGGVGKSALT IQLIQNHFVD EYDPTIEDSY RKQVVIDGET
 CLLDILDITAG QEEYSAMRDQ YMRTGEGFLC VFAINNTKSF EDIHQYREQI
 KRVKSDSDVP MVLVGNKCDL AARTVESRQA QDLARSYGIP YIETSAKTRQ
 GVEDAFYTLV REIRQHKLRL LNPPDESGPG CMSCKCVLS

(서열 번호 19)

ATGACGGAAT ATAAGCTGGT GGTGGTGGGC GCCGGCGGTG TGGGCAAGAG
 TGCGCTGACC ATCCAGCTGA TCCAGAACCA CTTTGTGGAC GAATACGACC
 CCACTATAGA GGATTCCTAC CGGAAGCAGG TGGTCATTGA TGGGGAGACG
 TGCCTGTTGG ACATCCTGGA TACCGCCGGC CAGGAGGAGT ACAGCGCCAT
 GCGGGACCAG TACATGCGCA CCGGGGAGGG CTTCTGTGT GTGTTTGCCA
 TCAACAACAC CAAGTCTTTT GAGGACATCC ACCAGTACAG GGAGCAGATC

[0103]

AAACGGGTGA AGGACTCGGA TGACGTGCCC ATGGTGCTGG TGGGGAACAA
 GTGTGACCTG GCTGCACGCA CTGTGGAATC TCGGCAGGCT CAGGACCTCG
 CCCGAAGCTA CGGCATCCCC TACATCGAGA CCTCGGCCAA GACCCGGCAG
 GGAGTGGAGG ATGCCTTCTA CACGTTGGTG CGTGAGATCC GGCAGCACAA
 GCTGCGGAAG CTGAACCCTC CTGATGAGAG TGGCCCCGGC TGCATGAGCT
 GCAAGTGTGT GCTCTCCTGA

[0104]

(서열 번호 20)

[0105]

Ras 아이소폼은 파르네실화된다. 파르네실전달효소(FT아제)는 Ras 단백질의 번역후 변형에서 중요한 역할을 가진다. Ras 기능을 방해하는 방법은 파르네실전달효소 억제제("FTI")에 의해, 15-탄소 이소프레닐기를 Ras 단백질에 커플링하는 효소인 FT아제를 억제하는 것이다. FTI는 Ras를 비롯한 광범위한 표적 단백질의 파르네실화를 억제하는, 생물학적 활성 항암 약물 부류이다. FTI는 FT아제의 역할을 통해 Ras 활성화를 차단하여, 결과적으로

세포 성장 중단을 야기한다. 따라서, FTI는 암의 치료에서 효과적인 치료제일 것으로 예상되었다.

[0106] 모든 인간 암의 30%는 종양원성으로 활성화된 Ras를 발현한다. 모든 인간 암의 30%에서 발견되는, 돌연변이된 Ras의 높은 출현율은 이 경로가 항암 약물 개발을 위한 매력적인 표적이 되도록 한다. 처음에는, 구성적으로 활성인 RAS 경로를 유도하는 Ras 돌연변이(들)이 FTI에 대한 환자 반응을 위한 바이오마커로서 작용할 수 있을 것으로 예상되었으며, 이것은 FTI가 RAS-형질전환 세포를 차단할 수 있다는 전임상 증거에 기초하였다. (Raponi *et al.*, *Blood* 111:2589-96 (2008)). 종래의 이해와 반대로, 본 명세서에서는 야생형 K-Ras 및 N-Ras를 가진 암 환자가 돌연변이 K-Ras 또는 N-Ras를 가진 환자에 비하여 FTI 치료에 더욱 민감하며, Ras 돌연변이 상태에 기초한 암 환자의 선별이 티피파르닙 치료와 같은 FTI 치료의 전체적인 반응물을 개선할 수 있다는 예상치 못한 발견을 개시한다.

[0107] 본 명세서에서 사용될 때, 용어 "Ras 돌연변이"는 *ras* 유전자 또는 Ras 단백질에서의 활성화 돌연변이를 말한다. Ras 돌연변이는 상응하는 Ras 단백질의 활성화를 야기하는 *ras* 유전자 중 하나의 DNA 서열에서의 유전적 교체, 또는 그의 활성화를 야기하는 Ras 단백질의 아미노산 서열에서의 변경을 말할 수 있다. 따라서, 용어 "Ras 돌연변이"는 본 명세서에서 사용될 때 Ras 단백질의 활성화를 야기하지 않는 *ras* 유전자의 교체 또는 그의 활성화를 야기하지 않는 Ras 단백질 서열의 교체를 포함하지 않는다. 따라서, 본 명세서에서 사용될 때 어떤 "Ras 돌연변이"도 갖지 않은 샘플 또는 개체는 Ras 단백질의 활성화에 영향을 주지 않는 *ras* 유전자에서의 돌연변이 또는 Ras 단백질의 활성을 손상시키는 돌연변이를 여전히 가지거나, 또는 그의 활성화에 영향을 주지 않는 Ras 단백질에서의 돌연변이 또는 그의 활성을 손상시키는 돌연변이를 여전히 가질 수 있다. 샘플 또는 개체는 다수 카피의 *ras* 유전자를 가질 수 있다. 샘플 또는 개체는 또한 야생형 및 돌연변이 Ras 단백질 둘 모두를 가질 수 있다. 본 명세서에서 사용될 때, Ras 돌연변이를 가진 샘플 또는 개체는 또한 야생형 *ras* 유전자 카피 및/또는 야생형 Ras 단백질을 가질 수 있다. 본 명세서에서 사용될 때, "야생형 Ras를 갖는" 것으로 결정된 샘플 또는 개체는 야생형 *ras* 유전자 및 야생형 Ras 단백질을 가지며 Ras 돌연변이를 갖지 않는 샘플 또는 개체를 말한다. 따라서, 본 명세서에서 사용될 때, "야생형 K-Ras를 갖는" 것으로 결정된 샘플 또는 개체는 야생형 *kras* 유전자 및 야생형 K-Ras 단백질을 가지며 K-Ras 돌연변이를 갖지 않는 샘플 또는 개체를 말한다. 본 명세서에서 사용될 때, "야생형 N-Ras를 갖는" 것으로 결정된 샘플 또는 개체는 야생형 *nras* 유전자 및 야생형 N-Ras 단백질을 가지며 N-Ras 돌연변이를 갖지 않는 샘플 또는 개체를 말한다.

[0108] Ras 단백질은 K-Ras, N-Ras, H-Ras, 또는 임의의 그 조합일 수 있다. K-Ras는 K_A-Ras, K_B-Ras, 또는 둘 모두일 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 Ras 단백질을 그의 GTP 결합된 활성화 상태로 고정시키는 미스센스 돌연변이다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 Ras 단백질의 코돈 12, 13, 61 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 야기한다.

[0109] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras, K_B-Ras, 또는 둘 모두에서의 돌연변이다. K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras, K_B-Ras, 또는 둘 모두의 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서의 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, K_A-Ras 돌연변이는 아미노산 치환 G12C, G12D, G12A, G12V, G12S, G12F, G12R, G12N, G13C, G13D, G13R, G13S, G13N, Q61 K, Q61 H, Q61 L, Q61 P, Q61 R 및 A146V로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, K_B-Ras 돌연변이는 아미노산 치환 G12C, G12D, G12A, G12V, G12S, G12F, G12R, G12N, G13C, G13D, G13R, G13S, G13N, Q61 K, Q61 H, Q61 L, Q61 P, Q61 R 및 A146V로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0110] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이는 N-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12, G13, G15, G60 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택된 코돈에서의 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택된 코돈에서의 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 아미노산 치환 G12C, G12D, G12F, G12S, G12A, G12V, G12R, G13C, G13R, G13A, G13D, G13V, G15W, G60E, Q61P, Q61L, Q61R, Q61K, Q61H 및 Q61E로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0111] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이는 H-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이는 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택된 코돈에서의 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12R, G12V, G13C, G13R, Q61L 및 Q61R의 아미노산 치환으로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0112] **2. 암 치료를 위한 파르네실전달효소 억제제**

[0113] **2.1. 파르네실전달효소 억제제**

[0114] 본 발명은 선별된 암 환자 또는 선별된 암 환자 개체군에서 FTI를 이용하여 암을 치료하는 방법을 제공한다. 대표적인 FTI는 대략적으로 두 부류에 속한다(Shen et al., Drug Disc. Today 20:2 (2015)). 첫 번째 부류의 FTI는 파르네실디포스페이트(FPP)의 기본 골격을 가진다. 예를 들어, 말론산 기(Ta)를 가진 FPP 유사체는 FPP와 경쟁하는 FTI인 것으로 보고되었다(Duez, S. et al. Bioorg. Med. Chem. 18:543-556(2010)). 또한, 산성 치환기 및 펩티드 측에 의해 연결된 이미다졸-함유 유도체가 또한 이기질(bisubstrate) FTI로서 합성되었으며, 설계된 이기질 억제제는 FPP보다 더 우수한 친화성을 가진다. 두 번째 부류의 FTI는 펩티드모방체 분자이며, 티올 및 비-티올 FTI의 두 그룹으로 나눌 수 있다. 티올 FTI에 대하여, 예를 들어, 선택적 펩티드모방체 FTI인 L-739749는 전신 독성없이 누드 마우스에서 강한 항종양 활성을 나타낸다(Kohl, N.E. et al. PNAS 91:9141-9145(1994)). 부가적으로, 트리펩티드 FTI와 같은 다양한 티올 억제제가 또한 개발되었다(Lee, H-Y. et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 12:1599-1602(2002)).

[0115] 비-티올 FTI의 경우, 결합 부위 내의 아연 이온과 접촉하기 위하여 티올 기를 치환하기 위하여 헤테로사이클이 널리 사용되었다. 약물작용발생단기(pharmacophoric group)의 구조에 따라, 비티올 FTI는 세 부류로 나눌 수 있다. 첫 번째 부류는 고품종양 및 림프종을 위한 제I상 임상 시험에 있는 FTI인 L-778123과 같이, 상이한 모노사이클 구조를 특징으로 한다. L-778123은 CAAX 펩티드 부위내로 결합하며 파르네실전달효소의 CAAX 기질과 경쟁한다. 두 번째 부류는 III상 임상 시험에 있는 티피파르닙 및 III상 임상 시험에 있는 BMS-214662가 대표적이며, 이들은 다양한 모노사이클릭 고리와 바이사이클릭 고리로 이루어진다(Harousseau et al. Blood 114:1166-1173 (2009)). 세 번째 부류의 대표적인 억제제는 Ras-의존성 및 -비의존성 악성 종양에서 활성이며 암종, 백혈병 및 골수이형성 증후군을 치료하기 위해 III상 임상 시험에 들어간 로나파르닙이다. 로나파르닙은 2개의 6-원 방향족 고리와 융합된 중앙 7-원 고리를 함유하는 트리사이클 코어를 가진 FTI이다.

[0116] 따라서, 본 명세서에 개시된 FTI는 다양한 형태를 취할 수 있으나 암 및 증식성 질병에 관련된 단백질의 파르네실화를 간섭하거나 감소시키는 본질적인 억제성 기능을 공유한다.

[0117] 많은 FTI가 본 발명의 범위 이내이며, 미국 특허 5,976,851호; 5,972,984호; 5,972,966호; 5,968,965호; 5,968,952호; 6,187,786호; 6,169,096호; 6,037,350호; 6,177,432호; 5,965,578호; 5,965,539호; 5,958,939호; 5,939,557호; 5,936,097호; 5,891,889호; 5,889,053호; 5,880,140호; 5,872,135호; 5,869,682호; 5,861,529호; 5,859,015호; 5,856,439호; 5,856,326호; 5,852,010호; 5,843,941호; 5,807,852호; 5,780,492호; 5,773,455호; 5,767,274호; 5,756,528호; 5,750,567호; 5,721,236호; 5,700,806호; 5,661,161호; 5,602,098호; 5,585,359호; 5,578,629호; 5,534,537호; 5,532,359호; 5,523,430호; 5,504,212호; 5,491,164호; 5,420,245호; 및 5,238,922호에 개시된 것들을 포함하며, 그 내용은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다.

[0118] 본 발명 범위 이내의 FTI는 또한 Thomas et al., Biologics 1: 415-424 (2007); Shen et al., Drug Disc. Today 20:2 (2015); Appels et al., The Oncologist 10:565-578(2005)에 개시된 것들을 포함하며, 그 내용은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다.

[0119] 일부 실시형태에서, FTI는 아르그라빈(즉, WO-98/28303호(누온콜로지 랩스(NuOncology Labs))에 개시된 1(R)-10-에폭시-5(S),7(S)-구아이아-3(4),11(13)-디엔-6,12-올리드); WO-99/45912호(위스콘신 제네틱스(Wisconsin Genetics))에 개시된 페리틸 알콜; SCH-66336(로나파르닙), 즉, 미국 특허 5,874,442호(세링(Schering))에 개시된 (+)-(R)-4-[2-[4-(3,10-디브로모-8-클로로-5,6-디하이드로-11H-벤조[5,6]시클로헥타[1,2-b]피리딘-11-일)피페리딘-1-일]-2-옥소에틸]피페리딘-1-카르복사미드; L778123, 즉, WO-00/01691호(머크(Merck))에 개시된 1-(3-클로로페닐)-4-[1-(4-시아노벤질)-5-이미다졸릴메틸]-2-피페라진; L739749, 즉, WO-94/10138호(머크)에 개시된 화합물 2(S)-[2(S)-[2(R)-아미노-3-머캡토]프로필아미노-3(S)-메틸]-펜틸옥시-3-페닐프로피오닐-메티오닌 설펜; FTI-277, 즉, 메틸{N-[2-페닐-4-N[2(R)-아미노-3-머캡토프로필아미노]벤조일]}-메티오네이트(칼바이오캠(Calbiochem)); L744832, 즉, 2S)-2-[[[(2S)-2-[(2S,3S)-2-[(2R)-2-아미노-3-머캡토프로필]아미노]-3-메틸펜틸]옥시]-1-옥소-3-페닐프로필]아미노]-4-(메틸설포닐)-부탄산 1-메틸에틸 에스테르(바이오몰 인터내셔널 엘.피.(Biomol International L.P.)); CP-609,754(화이자(Pfizer)), 즉, (R)-6-[(4-클로로페닐)-하이드록실-(1-메틸-1-H-이미다졸-5-일)-메틸]-4-(3-에티닐페닐)-1-메틸-2-(1H)-퀴놀리논 및 (R)-6-[(4-클로로페닐)-하이드록실-(3-메틸-3-H-이미다졸-4-일)-메틸]-4-(3-에티닐페닐)-1-메틸-2-(1H)-퀴놀리논; R208176(존슨 & 존슨(Johnson & Johnson)), 즉, JNJ-17305457, 또는

(R)-1-(4-클로로페닐)-1-[5-(3-클로로페닐)테트라졸로[1,5-a]퀴나졸린-7-일]-1-(1-메틸-1H-이미다졸-5-일)메탄아민; AZD3409(아스트라제네카(AstraZeneca)), 즉, (S)-이소프로필 2-(2-(4-플루오로페네틸)-5-(((2S,4S)-4-(니코티노일티오)피롤리딘-2-일)메틸)아미노)벤즈아미도)-4-(메틸티오)부타노에이트; BMS 214662(브리스톨-마이어스 스퀴브(Bristol-Myers Squibb)), 즉, WO 97/30992호(브리스톨-마이어스 스퀴브)호에 개시된 (R)-2,3,4,5-테트라하이드로-1-(1H-이미다졸-4-일메틸)-3-(페닐메틸)-4-(2-티에닐설포닐)-1H-1,4-벤조디아자핀-7-카르보니트릴 및 WO-00/12498호 및 WO-00/12499호에 개시된 화이자 화합물 (A) 및 (B)를 포함한다.

[0120] 일부 실시형태에서, FTI는 비-펩티드의, 소위 "소분자" 치료제이며, 예를 들어, 하기를 비롯한 퀴놀린 또는 퀴놀린 유도체가 있다:

[0121] 7-(3-클로로페닐)-9-[(4-클로로페닐)-1H-이미다졸-1-일메틸]-2,3-디하이드로-o-1H,5H-벤조[ij]퀴놀리진-5-온,

[0122] 7-(3-클로로페닐)-9-[(4-클로로페닐)-1H-이미다졸-1-일메틸]-1,2-디하이드로-o-4H-피롤로[3,2,1-ij]퀴놀린-4-온,

[0123] 8-[아미노(4-클로로페닐)(1-메틸-1H-이미다졸-5-일), 메틸]-6-(3-클로로프-에닐)-1,2-디하이드로-4H-피롤로[3,2,1-ij]퀴놀린-4-온, 및

[0124] 8-[아미노(4-클로로페닐)(1-메틸-1H-이미다졸-5-일)메틸]-6-(3-클로로프-에닐)-2,3-디하이드로-1H,5H-벤조[ij]퀴놀리진-5-온.

[0125] 티피파르닙은 비펩티드모방체 FTI이다(Thomas et al., *Biologics* 1: 415-424 (2007)). 이것은 화합물 라이브러리 스크리닝으로부터 동정된 퀴놀론 선도화합물의 최적화에 의해 수득된 4,6-이치환-1-메틸퀴놀린-2-온 유도체 ((B)-6-[아미노(4-클로로페닐)(1-메틸-1H-이미다졸-5-일)메틸]-4-(3-클로로페닐)-1-메틸-2(1H)퀴놀론)이다. 티피파르닙은 FTI의 CAAX 펩티드 결합 부위를 경쟁적으로 억제하며 매우 강력하고 고도록 선택적인 파르네실화 억제제이다. 티피파르닙은 제라닐제라닐트랜스퍼라제 I의 억제제가 아니다. 티피파르닙은 단일 제제 치료법으로서 관리가능한 안전성 프로파일을 가지며, 사람에서 합리적으로 잘 용인되며, 효과적인 혈장 농도를 얻기 위하여 하루 두번 투약을 요구한다.

[0126] 티피파르닙은 1-메틸이미다졸의 음이온을 6-(4-클로로벤조일) 퀴놀론 유도체와 축합시킨 후 탈수하여 합성된다. 퀴놀론 중간체는 N-페닐-3-(3-클로로페닐)-2-프로펜아미드의 고리화, 아실화, 산화 및 N-메틸화에 의해 4 단계로 제조되었다. 티피파르닙은 얀센(Janssen)의 케토코나졸 및 레티노산 대사 프로그램으로부터 Ras 프레닐화 과정으로의 핵심 구조 특징으로서 동정되었다. 티피파르닙은 인 비트로에서 FTI의 강력한 억제제이며 다양한 동물 모델에서 경구적으로 활성이다. 티피파르닙의 단일 제제 활성은 선별되지 않은 중앙 개체군(AML, MDS/CMML, 요로암, 유방암, PTCL/CTCL)에서 관찰되었지만, III상 임상 연구는 전체 생존기간에서의 개선을 입증하지 못했다.

[0127] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI 또는 FTI를 가진 약학 조성물을 이용하여 개체에서 암을 치료하거나, FTI 치료를 위해 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 약학 조성물은 치료적 유효량의 FTI 및 약학적 허용 담체, 희석제 또는 부형제를 함유한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙; 아르그라빈; 페리틸알콜; 로나파르닙(SCH-66336); L778123; L739749; FTI-277; L744832; R208176; BMS 214662; AZD3409; 또는 CP-609,754이다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0128] **2.2. 제형**

[0129] FTI는 경구 투여를 위해 용액, 현탁액, 정제, 분산성 정제, 알약, 캡슐, 분말, 서방성 제형 또는 엘릭시르와 같은 적합한 약학 제제로, 또는 안과 또는 비경구 투여를 위해 멸균 용액 또는 현탁액내에, 그리고 경피 패치 제제 및 건조 분말 흡입제로 제형화될 수 있다. 전형적으로 FTI는 본 기술분야에 잘 알려진 기술과 절차를 이용하여 약학 조성물로 제형화된다(예를 들어, Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Seventh Edition 1999 참고).

[0130] 조성물에서, FTI와 약학적 허용 염의 유효 농도가 적합한 약학적 담체 또는 비히클과 혼합된다. 일부 실시형태에서, 조성물 내의 FTI의 농도는 투여시에 혈액암 및 고형 종양을 비롯한 암의 증상 중 하나 이상 및/또는 암의 진행을 치료, 예방 또는 완화하는 양의 전달을 위해 효과적이다.

[0131] 조성물은 단일 투여량 투여를 위해 제형화될 수 있다. 조성물을 제형화하기 위하여, 치료되는 상태가 경감되거나 완화되도록 하는 유효 농도로 FTI의 중량 분율이 선택된 비히클에서 용해, 현탁, 분산 또는 다르게는 혼합된다. 본 발명에서 제공되는 FTI의 투여에 적합한 약학적 담체 또는 비히클은 특정 투여 방식에 적합한 것으로 당

업자에게 알려진 임의의 그러한 담체를 포함한다.

- [0132] 또한, FTI는 조성물 내의 유일한 약학적 활성 성분으로서 제형화되거나 다른 활성 성분과 조합될 수 있다. 조직-표적화 리포솜, 예를 들어, 중앙-표적화 리포솜을 비롯한 리포솜 현탁액이 또한 약학적 허용 담체로서 적합할 수 있다. 이들은 당업자에게 알려진 방법에 따라 제조될 수 있다. 예를 들어, 리포솜 제형은 본 기술분야에 알려진 대로 제조될 수 있다. 요약하면, 다층 소낭(multilamellar vesicle)(MLV)과 같은 리포솜은 플라스크의 내측 상에 달걀 포스파티딜 콜린 및 뇌 포스파티딜 세린(7:3 몰비)을 건조시킴으로써 형성될 수 있다. 2가 양이온이 없는 포스페이트 완충된 염수(PBS) 내의 본 발명에서 제공되는 FTI의 용액이 첨가되고 지질 필름이 분산될 때까지 플라스크가 교반된다. 캡슐화되지 않은 화합물을 제거하기 위하여, 생성되는 소낭이 세척되고, 원심분리에 의해 펠렛화된 후, PBS에서 재현탁된다.
- [0133] FTI는 치료되는 환자에 대한 바람직하지 못한 부작용이 없이 치료적으로 유용한 효과를 나타내기에 충분한 양으로 약학적 허용 담체내에 포함된다. 치료적 유효 농도는 본 명세서에 개시된 인 비트로 및 인 비보 시스템에서 화합물을 시험함으로써 실험적으로 결정된 후, 인간을 위한 투여량을 위해 그로부터 외삽될 수 있다.
- [0134] 약학 조성물 내의 FTI의 농도는 FTI의 흡수, 조직 분포, 불활성화 및 배출 속도, FTI의 생리화학적 특징, 투약 스케줄 및 투여되는 양 및 당업자에게 알려진 다른 인자들에 의존할 것이다. 예를 들어, 전달되는 양은 조절암 및 고형 종양을 비롯한 암의 증상 중 하나 이상을 완화시키기에 충분하다.
- [0135] 일부 실시형태에서, 치료적 유효 투여량은 약 0.1 ng/ml 내지 약 50-100 µg/ml의 활성 성분의 혈청 농도를 생산해야 한다. 일 실시형태에서, 약학 조성물은 약 0.001 mg 내지 약 2000 mg 화합물/kg체중/일의 투여량을 제공한다. 약학적 투여량 단위 형태는 투여량 단위 형태 당 약 1 mg 내지 약 1000 mg 그리고 일부 실시형태에서는 약 10 내지 약 500 mg의 필수 활성 성분 또는 필수 성분의 조합을 제공하도록 제조된다.
- [0136] FTI는 한번에 투여되거나, 또는 간격을 두고 투여될 다수의 더 작은 투여량으로 나누어질 수 있다. 정밀한 투여량 및 치료 기간은 치료되는 질병의 기능이며 공지의 시험 프로토콜을 이용하여 실험적으로 결정되거나 또는 인 비보 또는 인 비트로 시험 데이터로부터의 외삽에 의해 결정될 수 있음이 이해된다. 농도 및 투여량 값은 또한 경감되어야 하는 병태의 심각성에 따라 변할 수 있음이 주목된다. 임의의 특정 개체의 경우, 개인의 필요 및 조성물을 투여하거나 투여를 감독하는 사람의 전문적 판단에 따라 구체적 투여량 요법이 시간에 걸쳐 조정되어야 하며, 본 명세서에 개시된 농도 범위는 단지 예시적인 것이며 청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하고자 하는 것이 아님이 추가로 이해되어야 한다.
- [0137] 따라서, 본 명세서에 개시된 화합물 또는 그의 약학적 허용 염의 하나 이상의 유효 농도 또는 양은 약학 조성물을 형성하기 위하여 전신, 국소 또는 국부 투여를 위한 적합한 약학적 담체 또는 비히클과 혼합된다. 화합물은 하나 이상의 증상을 완화하거나, 치료, 진행 지연 또는 예방을 위해 효과적인 양으로 포함된다. 조성물 내의 활성 화합물의 농도는 활성 화합물의 흡수, 조직 분포, 불활성화, 배출 속도, 투약 스케줄, 투여되는 양, 구체적 제형 및 당업자에게 알려진 다른 인자들에 의존할 것이다.
- [0138] 조성물은 경구, 비경구, 직장, 국소 및 국부를 포함하며 이에 제한되지 않는 적합한 경로에 의해 투여될 것을 의도한다. 경구 투여의 경우, 캡슐 및 정제가 제형화될 수 있다. 조성물은 액체, 반-액체 또는 고체 형태이며 각 투여 경로에 적합한 방식으로 제형화된다.
- [0139] 비경구, 피내, 피하, 또는 국소 적용을 위해 이용되는 용액 또는 현탁액은 하기 성분 중 어느 것을 포함할 수 있다: 주사용 물, 염수 용액, 고정오일, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 디메틸 아세트아미드 또는 다른 합성 용매와 같은 멸균 희석제; 벤질 알콜 및 메틸 파라벤과 같은 향균제; 아스코르브산 및 소듐 비설파이트와 같은 산화방지제; 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)과 같은 킬레이팅제; 아세테이트, 시트레이트 및 포스페이트와 같은 버퍼; 및 소듐 클로라이드 또는 텍스트로스와 같은 등장성의 조절을 위한 제제. 비경구 제제는 앰플, 펜, 일회용 시린지 또는 유리, 플라스틱 또는 다른 적합한 물질로 제조된 단일 또는 다중 투여량 바이알 내에 포함될 수 있다.
- [0140] FTI가 충분하지 못한 용해도를 나타내는 경우에는, 화합물을 가용화시키는 방법이 이용될 수 있다. 그러한 방법은 당업자에게 알려져 있으며, 디메틸설폭사이드(DMSO)와 같은 공용매의 이용, 트윈(TWEEN)®과 같은 계면활성제의 이용, 또는 수성 소듐 비카보네이트에서의 용해를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0141] 화합물(들)의 혼합 또는 첨가시에, 생성되는 혼합물은 용액, 현탁액, 에멀전 등일 수 있다. 생성되는 혼합물의 형태는 의도된 투여 방식 및 선택된 담체 또는 비히클에서 화합물의 용해도를 비롯한 많은 인자에 의존한다. 유

효 농도는 치료되는 질병, 질환 또는 병태의 증상을 완화시키기에 충분하며 실험적으로 결정될 수 있다.

[0142] 약학 조성물은 화합물 또는 그의 약학적 허용 염의 적합한 양을 함유하는 정제, 캡슐, 알약, 분말, 과립, 멸균 비경구 용액 또는 현탁액, 및 경구 용액 또는 현탁액, 및 오일 물 에멀전과 같은 단위 투약 형태로 인간 및 동물에게 투여하기 위해 제공된다. 약학적 치료적 활성 화합물 및 그 염은 단위 투약 형태 또는 다중 투약 형태로 제형화되고 투여된다. 본 명세서에서 사용될 때 단위 투약 형태는 인간 및 동물 개체에 적합하며 본 기술분야에 알려진 대로 개별적으로 포장된 물리적으로 구별되는 단위를 말한다. 각 단위 투여량은 요구되는 약학적 담체, 비히클 또는 희석제와 연합되어, 원하는 치료 효과를 생산하기에 충분한 선결된 양의 치료적 활성 화합물을 함유한다. 단위 투약 형태의 예는 애플 및 시린지 및 개별 포장된 정제 또는 캡슐을 포함한다. 단위 투약 형태는 그의 분획 또는 다수로 투여될 수 있다. 다중 투약 형태는 분리된 단위 투약 형태로 투여되기 위해 단일 용기 내에 포장된 복수개의 동일한 단위 투약 형태이다. 다중 투약 형태의 예는 바이알, 정제 또는 캡슐의 병, 또는 파인트 또는 갤런의 병을 포함한다. 따라서, 다중 투약 형태는 포장내에서 분리되지 않은 다수의 단위 투여량이다.

[0143] 서방성 제제(Sustained-release preparation)가 또한 제조될 수 있다. 서방성 제제의 적합한 예는 본 발명에서 제공되는 화합물을 함유한 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하며, 상기 매트릭스는 성형 제품의 형태, 예를 들어, 필름, 또는 마이크로캡슐이다. 서방성 매트릭스의 예는 이온도입법 패치, 폴리에스테르, 하이드로겔(예를 들어, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드, L-글루탐산과 에틸-L-글루타마이트의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예를 들어, 루프론 디팟(LUPRON DEPOT)TM(락트산-글리콜산 공중합체 및 류프로리드 아세테이트로 구성된 주사용 미소구체), 및 폴리-D(-)-3-하이드록시부티르산을 포함한다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체는 100일 초과 동안 분자의 방출을 가능하게 하는 한편, 일부 하이드로겔은 더 짧은 기간 동안 단백질을 방출한다. 캡슐화된 화합물이 장기간 신체내에 남아 있을 경우, 그들은 37°C에서의 수분에서의 노출 결과 변성되거나 응집되어, 생물학적 활성의 상실 및 그들의 구조가 변할 수 있다. 관련된 작용 기전에 따라 안정화를 위해 합리적인 전략이 설계될 수 있다. 예를 들어, 만일 응집 기전이 티오-디설파이드 상호교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성인 것으로 밝혀지면, 안정화는 설프하이드릴 잔기의 변형, 산성 용액으로부터의 동결건조, 수분 함량의 제어, 적절한 첨가제의 이용, 및 특정 중합체 매트릭스 조성물의 개발에 의해 이루어질 수 있다.

[0144] 0.005% 내지 100% 범위의 활성 성분을 함유하고 나머지는 비독성 담체로 이루어지는 투약 형태 또는 조성물이 제조될 수 있다. 경구 투여의 경우, 약학적 허용 비독성 조성물은 예를 들어, 약학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 활석, 셀룰로스 유도체, 소듐 크로스카르멜로스, 글루코스, 수크로스, 마그네슘 카보네이트 또는 소듐 사카린과 같은 정상적으로 이용되는 부형제 중 어느 것을 포함시켜 형성된다. 그러한 조성물은 용액, 현탁액, 정제, 캡슐, 분말 및 서방성 제형, 예를 들어, 그러나 이에 제한되지 않는 임플란트 및 미세캡슐화된 전달 시스템, 및 생분해성, 생체적합성 중합체, 예를 들어, 콜라겐, 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안하이드라이드, 폴리글리콜산, 폴리오르토에스테르, 폴리락트산 및 기타를 포함한다. 이들 조성물의 제조 방법은 당업자에게 알려져 있다. 고려된 조성물은 약 0.001%-100% 활성 성분, 일부 실시형태에서는, 약 0.1-85% 또는 약 75-95%를 함유할 수 있다.

[0145] FTI 또는 약학적 허용 염은 경시적 방출 제형 또는 코팅과 같은, 신체로부터의 신속한 제거로부터 화합물을 보호하는 담체로 제조될 수 있다.

[0146] 조성물은 원하는 특성의 조합을 획득하기 위하여 다른 활성 화합물을 포함할 수 있다. 본 발명에서 제공되는 화합물 또는 본 명세서에 개시된 그의 약학적 허용 염은 또한 산화성 스트레스에 관련된 질병과 같은, 상기에서 언급된 질병 또는 질환 중 하나 이상을 치료하는데 있어서 중요한 것으로 본 기술분야에서 일반적으로 알려진 다른 약리학적 제제와 함께 투여될 수 있다.

[0147] 본 발명에서 제공되는 무-락토스 조성물은 본 기술분야에 잘 알려지고 예를 들어, 미국 약전(USP) SP (XXI)/NF (XVI)에 열거된 부형제를 함유할 수 있다. 일반적으로, 무-락토스 조성물은 활성 성분, 결합제/충전제, 및 활택제를 약학적으로 양립가능하며 약학적으로 허용되는 양으로 함유한다. 예시적인 무-락토스 투약 형태는 활성 성분, 미세결정질 셀룰로스, 예비-젤라틴화 전분 및 마그네슘 스테아레이트를 함유한다.

[0148] 본 발명에서 제공되는 화합물을 함유하는 무수 약학 조성물 및 투약 형태가 추가로 포함된다. 예를 들어, 물(예를 들어, 5%)의 첨가는 유효기간 또는 시간에 따른 제형의 안정성과 같은 특징을 결정하기 위하여 장기 저장을 시뮬레이션하는 수단으로서 약학 분야에서 널리 허용된다. 예를 들어, Jens T. Carstensen, Drug Stability: Principles & Practice, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80을 참고한다. 사실상, 물과 열은

일부 화합물의 분해를 가속화한다. 따라서, 수분 및/또는 습도는 제형의 제조, 취급, 포장, 저장, 선적 및 사용 동안 일반적으로 마주치므로 제형에 대한 물의 효과는 상당히 중요할 수 있다.

- [0149] 본 발명에서 제공되는 무수 약학 조성물 및 투약 형태는 무수 또는 저수분 함유 성분 및 저수분 또는 저습도 조건을 이용하여 제조될 수 있다. 만일 제조, 포장 및/또는 저장 동안 수분 및/또는 습도와 관련된 접촉이 예상된다면 락토스 및 일차 또는 이차 아민을 포함하는 적어도 하나의 활성 성분을 포함하는 약학 조성물 및 투약 형태는 무수성이다.
- [0150] 무수 약학 조성물은 그의 무수 특성이 유지되도록 제조되고 저장되어야 한다. 따라서, 무수 조성물은 그들이 적합한 의약품 키트에 포함될 수 있도록 물에의 노출을 방지하는 것으로 알려진 물질을 이용하여 포장된다. 적합한 포장의 예는 밀봉 차단 호일, 플라스틱, 단위 투약 용기(예를 들어, 바이알), 블리스터 팩 및 스트립 팩을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0151] 경구 약학 투약 형태는 고체, 젤 또는 액체이다. 고체 투약 형태는 정제, 캡슐, 과립 및 내용량 분말이다. 경구 정제의 타입은 장용 코팅, 당 코팅 또는 필름 코팅될 수 있는, 압축, 저작 로젠지 및 정제를 포함한다. 캡슐은 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐일 수 있으며, 과립 및 분말은 당업자에게 알려진 다른 성분의 조합과 함께 비기포성 또는 기포성 형태로 제공될 수 있다.
- [0152] 일부 실시형태에서, 제형은 캡슐 또는 정제와 같은 고체 투약 형태이다. 정제, 알약, 캡슐, 트로키제 등은 하기 성분 중 어느 것 또는 유사한 특성의 화합물을 함유할 수 있다: 결합제; 희석제; 붕해제; 윤활제; 활택제; 감미제; 및 착향료.
- [0153] 결합제의 예는 미세결정질 셀룰로스, 검 트라가칸트, 글루코스 용액, 아카시아 점장제, 젤라틴 용액, 수크로스 및 전분 페이스트를 포함한다. 윤활제는 활석, 전분, 마그네슘 또는 칼슘 스테아레이트, 석송 및 스테아르산을 포함한다. 희석제는 예를 들어, 락토스, 수크로스, 전분, 카올린, 염, 만니톨 및 디칼슘 포스페이트를 포함한다. 활택제는 콜로이드성 실리콘 디옥사이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 붕해제는 크로스카르멜로스 소듐, 소듐 전분 글리콜레이트, 알긴산, 옥수수 전분, 감자 전분, 벤토나이트, 메틸셀룰로오스, 한천 및 카르복시메틸셀룰로스를 포함한다. 착색제는 예를 들어, 승인되고 보충된 수용성 FD 및 C 염료, 그 혼합물; 및 알루미늄 하이드레이트상에 현탁된 수불용성 FD 및 C 염료 중 어느 것을 포함한다. 감미제는 수크로스, 락토스, 만니톨 및 인공 감미제, 예를 들어, 사카린, 및 임의의 수의 분무건조 향미료를 포함한다. 착향료는 과일과 같은 식물로부터 추출된 천연 향미료 및 페퍼민트 및 메틸 살리실레이트와 같은 그러나 이에 제한되지 않는 기분 좋은 느낌을 생성하는 화합물의 합성 블렌드를 포함한다. 습윤제는 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 솔비탄 모노올레이트, 디에틸렌 글리콜 모노라우레이트 및 폴리옥시에틸렌 라우랄 에테르를 포함한다. 토제 코팅은 지방산, 지방, 왁스, 셀락, 암모니아화 셀락 및 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트를 포함한다. 필름 코팅은 하이드록시메틸셀룰로스, 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 폴리에틸렌 글리콜 4000 및 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트를 포함한다.
- [0154] 투약 단위 형태가 캡슐인 경우, 상기 타입의 물질에 더하여, 지방 오일과 같은 액체 담체를 함유할 수 있다. 또한, 투약 단위 형태는 투약 단위의 물리적 형태를 변경하는 다양한 다른 물질, 예를 들어, 당 및 다른 장용 제제의 코팅을 함유할 수 있다. 화합물은 또한 엘릭시르, 현탁액, 시럽, 웨이퍼, 스프링클, 츄잉검 등의 성분으로서 투여될 수 있다. 시럽은 활성 화합물에 더하여, 감미제로서 수크로스 및 일부 방부제, 염료 및 착색제 및 향미료를 함유할 수 있다.
- [0155] 정제에 포함되는 약학적 허용 담체는 결합제, 윤활제, 희석제, 붕해제, 착색제, 착향료 및 습윤제이다. 장용 코팅된 정제는 장용 코팅 때문에 위산의 작용에 저항하며 중성 또는 염기성 장에서 용해되거나 붕해된다. 당 코팅된 정제는 약학적 허용 물질의 상이한 층들이 적용되는 압축 정제이다. 필름 코팅된 정제는 중합체 또는 다른 적합한 코팅으로 코팅된 압축 정제이다. 다중 압축 정제는 앞서 언급된 약학적 허용 물질을 이용하여 1회 초과 의 압축 사이클에 의해 제조된 압축 정제이다. 착색제가 또한 상기 투약 형태에서 이용될 수 있다. 착향료 및 감미제는 압축 정제, 당 코팅, 다중 압축 및 저작 정제에서 사용된다. 착향료 및 감미제는 특히 저작 정제 및 로젠지의 형성에서 유용하다.
- [0156] 액체 경구 투약 형태는 수용액, 에멀전, 현탁액, 비기포성 과립으로부터 재구성된 용액 및/또는 현탁액 및 기포성 과립으로부터 재구성된 기포성 제제를 포함한다. 수용액은 예를 들어, 엘릭시르 및 시럽을 포함한다. 에멀전은 수중유 또는 유중수이다.
- [0157] 엘릭시르는 투명의 감미된 하이드로알콜 제제이다. 엘릭시르에서 사용되는 약학적 허용 담체는 용매를

포함한다. 시럽은 당, 예를 들어, 수크로스의 농축 수용액이며 방부제를 함유할 수 있다. 에멀전은 하나의 액체가 다른 액체 전체에 걸쳐 작은 소구체 형태로 분산되어 있는 2상 시스템이다. 에멀전에서 사용되는 약학적 허용 담체는 비수성 액체, 유화제 및 방부제이다. 현탁액은 약학적 허용 현탁제 및 방부제를 이용한다. 액체 경구 투약 형태로 재구성될, 비기포성 과립에서 사용되는 약학적 허용 물질은 희석제, 감미제 및 습윤제를 포함한다. 액체 경구 투약 형태로 재구성될, 기포성 과립에서 사용되는 약학적 허용 물질은 유기산 및 이산화탄소 공급원을 포함한다. 착색제 및 착향료는 상기 투약 형태 모두에서 사용된다.

[0158] 용매는 글리세린, 솔비톨, 에틸 알콜 및 시럽을 포함한다. 방부제의 예는 글리세린, 메틸 및 프로필파라벤, 벤조산, 소듐 벤조에이트 및 알콜을 포함한다. 에멀전에서 사용되는 비수성 액체의 예는 팜유 및 면화씨유를 포함한다. 유화제의 예는 젤라틴, 아카시아, 트라가칸트, 벤토나이트, 및 계면활성제, 예를 들어, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노올리에이트를 포함한다. 현탁제는 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 펙틴, 트라가칸트, 비검(Veegum) 및 아카시아를 포함한다. 희석제는 락토스 및 수크로스를 포함한다. 감미제는 수크로스, 시럽, 글리세린 및 인공 감미제, 예를 들어, 사카린을 포함한다. 습윤제는 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 솔비탄 모노올리에이트, 디에틸렌 글리콜 모노라우레이트 및 폴리옥시에틸렌 라우릴 에테르를 포함한다. 유기산은 시트르산 및 타르타르산을 포함한다. 이산화탄소 공급원은 소듐 비카보네이트 및 소듐 카보네이트를 포함한다. 착색제는 승인되고 보 증된 수용성 FD 및 C 염료, 및 그 혼합물 중 어느 것을 포함한다. 착향료는 과일과 같은 식물로부터 추출된 천연 감미료, 및 기분좋은 미각을 생성하는 화합물의 합성 블렌드를 포함한다.

[0159] 고체 투약 형태의 경우, 예를 들어, 프로필렌 카보네이트, 식물유 또는 트리글리세라이드 내의 용액 또는 현탁액이 젤라틴 캡슐내에 캡슐화된다. 그러한 용액, 및 그의 제제 및 캡슐화는 미국 특허 4,328,245호; 4,409,239호; 및 4,410,545호에 개시된다. 액체 투약 형태의 경우, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 내의 용액이 투여를 위해 용이하게 측정되도록, 충분한 양의 약학적 허용 액체 담체, 예를 들어, 물로 희석될 수 있다.

[0160] 대안적으로, 액체 또는 반 고체 경구 제형은 활성 화합물 또는 염을 식물유, 글리콜, 트리글리세라이드, 프로필렌 글리콜 에스테르(예를 들어, 프로필렌 카보네이트) 및 다른 그러한 담체 내에 용해 또는 분산시키고, 이들 용액 또는 현탁액을 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐 쉘에 캡슐화시킴으로써 제조될 수 있다. 다른 유용한 제형은 본 발명에서 제공되는 화합물, 디알킬화 모노- 또는 폴리-알킬렌 글리콜 [1,2-디메톡시메탄, 디글림, 트리글림, 테트라글림, 폴리에틸렌 글리콜-350-디메틸 에테르, 폴리에틸렌 글리콜-550-디메틸 에테르, 폴리에틸렌 글리콜-750-디메틸 에테르를 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 350, 550 및 750은 폴리에틸렌 글리콜의 대략적인 평균 분자량을 말함], 및 하나 이상의 산화방지제, 예를 들어, 부틸화 하이드록시톨루엔(BHT), 부틸화 하이드록시아니솔(BHA), 프로필 갈레이트, 비타민 E, 하이드로퀴논, 하이드록시퀴마린, 에탄올아민, 레시틴, 세 팔린, 아스코르브산, 말산, 솔비톨, 인산, 티오디프로피온산 및 그의 에스테르, 및 디티오카르바메이트를 함유하는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0161] 다른 제형은 약학적 허용 아세탈을 포함하는 수성 알콜 용액을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이들 제형에서 사용되는 알콜은 프로필렌 글리콜 및 에탄올을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 하나 이상의 하이드록실기를 가진 임의의 약학적 허용 수산화성 용매이다. 아세탈은 저급 알킬 알데히드의 디(저급 알킬)아세탈, 예를 들어, 아세트알데히드 디에틸 아세탈을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0162] 모든 실시형태에서, 정제 및 캡슐 제형은 활성 성분의 용해를 변경하거나 지속하기 위하여 당업자에게 알려진 대로 코팅될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 그들은 페닐살리실레이트, 왁스 및 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트와 같은 종래의 장에서 소화가능한 코팅으로 코팅될 수 있다.

[0163] 일반적으로 피하, 근육내 또는 정맥내의 주사를 특징으로 하는 비경구 투여가 또한 본 발명에서 제공된다. 주사제는 액체 용액 또는 현탁액으로서의 종래 형태로, 주사 전에 액체 내의 용액 또는 현탁액을 위해 적합한 고체 형태, 또는 에멀전으로서 제조될 수 있다. 적합한 부형제는 예를 들어, 물, 염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올이다. 또한, 원하면, 투여될 약학 조성물은 또한 습윤 또는 유화 제제, pH 버퍼링제, 안정화제, 용해도 향상제 및 다른 그러한 제제, 예를 들어, 소듐 아세테이트, 솔비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올리에이트 및 시클로텍스트린과 같은 비독성 보조 물질 소량을 함유할 수 있다. 일정한 수준의 투여량이 유지되도록 하는 지연 방출 또는 서방성 방출 시스템의 이식이 또한 본 발명에서 고려된다. 요약하면, 본 발명에서 제공되는 화합물은 고체 내부 매트릭스, 예를 들어, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리부틸메타크릴레이트, 가스화 또는 비가스화 폴리비닐클로라이드, 가스화 나일론, 가스화 폴리에틸렌테레프탈레이트, 천연 고무, 폴리이소프렌, 폴리이소부틸렌, 폴리부타디엔, 폴리에틸렌, 에틸렌-비닐아세테이트 공중합체, 실리콘 고무, 폴리디메틸실록산, 실리콘 카보네이트 공중합체, 아크릴산 및 메타크릴산의 에스테르의 하이드로겔과 같은 친수성 중합체, 콜라겐, 가교된

폴리비닐 알콜 및 가교된 부분 가수분해 폴리비닐 아세테이트에서 분산되며, 상기 매트릭스는 체액에서 불용성인 외부 중합체 막, 예를 들어, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 에틸렌/프로필렌 공중합체, 에틸렌/에틸 아크릴레이트 공중합체, 에틸렌/비닐아세테이트 공중합체, 실리콘 고무, 폴리디메틸 실록산, 네오프렌 고무, 염소화 폴리 에틸렌, 폴리비닐클로라이드, 비닐 아세테이트, 비닐리텐 클로라이드, 에틸렌 및 프로필렌과의 비닐클로라이드 공중합체, 이오노머 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 부틸 고무 에피클로로히드린 고무, 에틸렌/비닐 알콜 공중합체, 에틸렌/비닐 아세테이트/비닐 알콜 삼중합체, 및 에틸렌/비닐옥시에탄올 공중합체에 의해 둘러싸인다. 화합물은 방출 속도 제어 단계에서 외부 중합체 막을 통해 확산한다. 그러한 비경구 조성물내에 함유된 활성 화합물의 백분율은 그의 특이적 특성, 및 화합물의 활성과 개체의 필요에 고도로 의존한다.

[0164] 조성물의 비경구 투여는 정맥내, 피하 및 근육내 투여를 포함한다. 비경구 투여를 위한 제제는 주사 준비가 된 멸균 용액, 피하 정제를 비롯하여 사용 직전에 용매와 조합될 준비가 된 멸균 건조 가용성 생성물, 예를 들어, 동결건조 분말, 주사 준비가 된 멸균 현탁액, 사용 직전에 비히클과 조합될 준비가 된 멸균 건조 불용성 생성물 및 멸균 에멀전을 포함한다. 용액은 수성 또는 비수성일 수 있다.

[0165] 만일 정맥내로 투여되면, 적합한 담체는 생리학적 염수 또는 포스페이트 완충된 염수(PBS), 및 증점제 및 가용 화제, 예를 들어, 글루코스, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리프로필렌 글리콜 및 그 혼합물을 함유한 용액을 포함한다.

[0166] 비경구 제제에서 사용되는 약학적 허용 담체는 수성 비히클, 비수성 비히클, 항균제, 등장제, 버퍼, 산화방지제, 국소 마취제, 현탁 및 분산 제제, 유허제, 격리 또는 킬레이팅 제제 및 기타 약학적 허용 물질을 포함한다.

[0167] 수성 비히클의 예는 소듐 클로라이드 주사액(Sodium Chloride Injection), 링거 주사액, 등장성 텍스트로스 주사액, 멸균수 주사액, 텍스트로스 및 락테이트화 링거 주사액을 포함한다. 비수성 비경구 비히클은 식물 기원의 고정유, 면화씨유, 옥수수유, 참기름 및 땅콩유를 포함한다. 정균 또는 정진균 농도의 항균제가 다중 투약 용기에 포장된 비경구 제제에 첨가되어야 하며 페놀 또는 크레졸, 수은함유물질, 벤질 알콜, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p 하이드록시벤조산 에스테르, 티메로살, 벤즈알코늄 클로라이드 및 벤즈에토늄 클로라이드를 포함한다. 등장제는 소듐 클로라이드 및 텍스트로스를 포함한다. 버퍼는 포스페이트 및 시트레이트를 포함한다. 산화방지제는 소듐 비셀페이트를 포함한다. 국소 마취제는 프로케인 하이드로클로라이드를 포함한다. 현탁 및 분산 제제는 소듐 카르복시메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 유허제는 폴리소르베이트 80(트윈® 80)을 포함한다. 금속 이온의 격리 또는 킬레이팅 제제는 EDTA를 포함한다. 약학 담체는 또한 수 혼화성 비히클을 위한 에틸 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜 및 pH 조절을 위한 소듐 하이드록사이드, 염산, 시트르산 또는 락트산을 포함한다.

[0168] FTI의 농도는 주사가 원하는 약리 효과를 생성하기에 효과적인 양을 제공하도록 조정된다. 정확한 투여량은 본 기술분야에 알려진 대로 환자 또는 동물의 연령, 체중 및 병태에 의존한다. 단위 투약 비경구 제제는 앰플, 바이알 또는 바늘을 가진 시린지에 포장된다. 비경구 투여를 위한 모든 제제는 본 기술분야에서 알려지고 실시되는 것처럼 멸균되어야 한다.

[0169] 예시적으로, FTI를 함유하는 멸균 수용액의 정맥내 또는 동맥내 주입이 효과적인 투여 방식이다. 다른 실시형태는 원하는 약리 효과를 생성하기 위하여 필요에 따라 주사되는 활성 물질을 함유한 멸균 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액이다.

[0170] 주사제는 국부 및 전신 투여를 위해 설계된다. 전형적으로 치료적 유효 투여량은 치료되는 조직(들)에 적어도 약 0.1% w/w 내지 약 90% w/w 이상, 예를 들어, 1% w/w 초과의 활성 화합물의 농도를 함유하도록 제형화된다. 활성 성분은 한번에 투여될 수 있거나, 또는 간격을 두고 투여될 다수의 적은 투여량으로 나누어질 수 있다. 정밀한 투여량 및 치료 기간은 치료되는 조직의 기능이며 공지의 시험 프로토콜을 이용하여 실험적으로 결정되거나 또는 인 비보 또는 인 비트로 시험 데이터로부터의 외삽에 의해 결정될 수 있음이 이해된다. 농도 및 투여량 값은 또한 치료되는 개인의 연령에 따라 변할 수 있음이 주목된다. 임의의 특정 개체의 경우, 개인의 필요 및 제형을 투여하거나 투여를 감독하는 사람의 전문적 판단에 따라 구체적 투여량 요법이 시간에 걸쳐 조정되어야 하며, 본 명세서에 개시된 농도 범위는 단지 예시적인 것이며 청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하고자 하는 것이 아님이 추가로 이해되어야 한다.

[0171] FTI는 미세화되거나 다른 적합한 형태로 현탁될 수 있거나 또는 더욱 가용성인 활성 생성물을 생성하거나 전구 약물을 생성하기 위하여 유도체화될 수 있다. 생성되는 혼합물의 형태는 의도된 투여 방식 및 선택된 담체 또는

비히클에서의 화합물의 용해도를 비롯한 많은 인자들에 의존한다. 유효 농도는 병태의 증상을 완화하기에 충분하며 실험적으로 결정될 수 있다.

- [0172] 본 발명의 관심은 또한 투여를 위하여 용액, 에멀전 및 기타 혼합물로서 재구성될 수 있는 동결건조 분말이다. 그들은 또한 고체 또는 젤로서 재구성되고 제형화될 수 있다.
- [0173] 멸균 동결건조 분말은 본 발명에서 제공되는 FTI 또는 그의 약학적 허용 염을 적합한 용매에서 용해시켜 제조된다. 용매는 분말의 다른 약리학적 성분 또는 분말로부터 제조된 재구성된 용액의 안정성을 개선하는 부형제를 함유할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 텍스트로스, 솔비탈, 프럭토스, 옥수수 시럽, 자일리톨, 글리세린, 글루코스, 수크로스 또는 다른 적합한 제제를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 용매는 또한 버퍼, 예를 들어, 시트레이트, 소듐 또는 포타슘 포스페이트, 또는 일 실시형태에서는 약 중성 pH의, 당업자에게 알려진 다른 그러한 버퍼를 함유할 수 있다. 용액의 후속 멸균 여과 및 이어서 당업자에게 알려진 표준 조건하에서의 동결건조는 원하는 제형을 제공한다. 일반적으로, 생성되는 용액은 동결건조를 위해 바이알 내로 분배될 것이다. 각 바이알은 화합물의 단일 투여량(10-1000 mg 또는 100-500 mg을 포함하지만 이에 제한되지 않음) 또는 다중 투여량을 함유할 것이다. 동결건조 분말은 약 4°C 내지 실온과 같은, 적절한 조건하에서 저장될 수 있다.
- [0174] 주사를 위하여 물로 이러한 동결건조 분말을 재구성하는 것은 비경구 투여에서 사용하기 위한 제형을 제공한다. 재구성을 위하여, 약 1-50 mg, 약 5-35 mg, 또는 약 9-30 mg의 동결건조 분말이 멸균수 또는 다른 적합한 담체 mL 당 첨가된다. 정확한 양은 선택된 화합물에 의존한다. 그러한 양은 실험적으로 결정될 수 있다.
- [0175] 국소 혼합물은 국부 및 전신 투여를 위해 개시된 대로 제조된다. 생성되는 혼합물은 용액, 현탁액, 에멀전 등일 수 있으며 크림, 젤, 연고, 에멀전, 용액, 엘릭시르, 로션, 현탁액, 탱크제, 페이스트, 포움, 에어로졸, 세정액 (irrigations), 스프레이, 좌약, 붕대, 피부 패치 또는 국소 투여를 위해 적합한 임의의 다른 제형으로 제형화된다.
- [0176] FTI 또는 FTI를 가진 약학 조성물은 흡입에 의해서와 같이, 국소 적용을 위한 에어로졸로서 제형화될 수 있다 (예를 들어, 미국 특허 4,044,126호, 4,414,209호, 및 4,364,923호를 참고하며, 이들은 염증성 질병, 특히 천식의 치료를 위하여 유용한 스테로이드의 전달을 위한 에어로졸을 개시함). 호흡기에의 투여를 위한 이들 제형은 네블라이저를 위한 에어로졸 또는 용액의 형태, 또는 단독의 또는 락토스와 같은 불활성 담체와 조합된, 흡입제를 위한 마이크로파인(microfine) 분말일 수 있다. 그러한 경우에, 제형의 입자는 50 마이크론 미만 또는 10 마이크론 미만의 직경을 가질 것이다.
- [0177] FTI 또는 FTI를 가진 약학 조성물은 젤, 크림 및 로션의 형태로 피부 및 점막, 예를 들어, 눈 내의 국소 적용을 위해서 그리고 눈의 적용을 위해 또는 낭내(intracisternal) 또는 척수내 적용을 위해서와 같은 국부 또는 국소 적용을 위해 제형화될 수 있다. 국소 투여는 경피 전달을 위해 그리고 또한 눈 또는 점막에의 투여를 위해 또는 흡입 치료법을 위해 고려된다. 단독의 또는 다른 약학적 허용 부형제와 조합된 활성 화합물의 비내 용액이 또한 투여될 수 있다. 이들 용액, 특히 안과 용도를 위해 의도된 용액은 적절한 염을 이용하여 0.01% - 10% 등장 용액, pH 약 5-7로서 제형화될 수 있다.
- [0178] 경피 패치 및 직장 투여와 같은 다른 투여 경로가 또한 본 발명에서 고려된다. 예를 들어, 직장 투여를 위한 약학적 투약 형태는 전신 효과를 위한 직장 좌약, 캡슐 및 정제이다. 본 명세서에서 사용되는 직장 좌약은 신체 온도에서 용융되거나 연화되어 하나 이상의 약리학적 또는 치료적 활성 성분을 방출하는, 직장내로의 삽입을 위한 고체 물체를 의미한다. 직장 좌약에서 사용되는 약학적 허용 물질은 베이스 또는 비히클 및 용융점을 상승시키기 위한 제제이다. 베이스의 예는 코코아 버터(카카오나무 오일), 글리세린 젤라틴, 카르보왁스(폴리옥시에틸렌 글리콜) 및 지방산의 모노, 디 및 트리글리세라이드의 적절한 혼합물을 포함한다. 다양한 베이스의 조합이 이용될 수 있다. 좌약의 용융점을 상승시키기 위한 제제는 경랍 및 왁스를 포함한다. 직장 좌약은 압축 방법에 의해 또는 조형에 의해 제조될 수 있다. 직장 좌약의 예시적인 중량은 약 2 내지 3 그램이다. 직장 투여를 위한 정제 및 캡슐은 경구 투여를 위한 제형에 대한 것과 동일한 약학적 허용 물질을 이용하여 그리고 동일한 방법에 의해 제조된다.
- [0179] 본 발명에서 제공되는 FTI 또는 FTI를 가진 약학 조성물은 제어된 방출 수단에 의해 또는 당업자에게 잘 알려진 전달 장치에 의해 투여될 수 있다. 예로는 미국 특허 3,845,770호; 3,916,899호; 3,536,809호; 3,598,123호; 및 4,008,719호, 5,674,533호, 5,059,595호, 5,591,767호, 5,120,548호, 5,073,543호, 5,639,476호, 5,354,556호, 5,639,480호, 5,733,566호, 5,739,108호, 5,891,474호, 5,922,356호, 5,972,891호, 5,980,945호, 5,993,855호, 6,045,830호, 6,087,324호, 6,113,943호, 6,197,350호, 6,248,363호,

6,264,970호, 6,267,981호, 6,376,461호, 6,419,961호, 6,589,548호, 6,613,358호, 6,699,500호 및 6,740,634호에 개시된 것을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 이들 각각은 참고로 본원에 포함된다. 그러한 투약 형태는 다양한 비율로 원하는 방출 프로파일을 제공하기 위하여 예를 들어, 하이드로프로필메틸 셀룰로스, 다른 중합체 매트릭스, 젤, 투과성 막, 삼투 시스템, 다층 코팅, 미세입자, 리포솜, 미소구체, 또는 그 조합을 이용하여 FTI의 지연 또는 제어된-방출을 제공하기 위하여 이용될 수 있다. 본 명세서에 개시된 것들을 비롯하여, 당업자에게 알려진 적합한 방출 제어형(controlled-release) 제형은 본 발명에서 제공되는 활성 성분에서 사용하기 위하여 용이하게 선택될 수 있다.

[0180] 모든 방출 제어형 약학 제품은 그들의 비-제어 대응물에 의해 이루어지는 것에 비하여 약물 치료법을 개선하는 공통된 목표를 가진다. 일 실시형태에서, 의학적 치료에서 적절하게 설계된 방출 제어형 제제의 사용은 최소의 시간에 병태를 치유하거나 제어하기 위해 이용되는 최소의 약물 물질을 특징으로 한다. 일부 실시형태에서, 방출 제어형 제형의 효과는 약물의 활성 연장, 투약 빈도 감소, 및 환자 순응도 증가를 포함한다. 또한, 방출 제어형 제형은 작용의 개시 시점 또는 약물의 혈액 수준과 같은 다른 특징에 영향을 주기 위해 이용될 수 있으며, 따라서 부작용(예를 들어, 악영향)의 발생에 영향을 줄 수 있다.

[0181] 대부분의 방출 제어형 제형은 원하는 치료 효과를 즉시 생성하는 약물(활성 성분)의 양을 처음에 방출하고, 점차 그리고 계속적으로 연장된 기간에 걸쳐 이 수준의 치료 효과를 유지하기 위한 다른 양의 약물을 방출하도록 설계된다. 신체에서 이러한 일정한 수준의 약물을 유지하기 위하여, 약물은 대사되고 신체로부터 배출되는 약물의 양을 대체할 속도로 투약 형태로부터 방출되어야 한다. 활성 성분의 제어된 방출은 pH, 온도, 효소, 물 또는 다른 생리학적 조건 또는 화합물을 비롯한 하지만 이에 제한되지 않는 다양한 조건에 의해 자극될 수 있다.

[0182] 일부 실시형태에서, FTI는 정맥내 주입, 이식성 삼투 펌프, 경피 패치, 리포솜 또는 다른 투여 방식을 이용하여 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, 펌프가 이용될 수 있다(Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989) 참고). 다른 실시형태에서, 중합체 물질이 이용될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 방출 제어형 시스템이 치료 표적 근처에 배치될 수 있으며, 즉, 따라서 전신 투여량의 단지 일부만을 요구할 수 있다(예를 들어, Goodson, Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115-138 (1984) 참고).

[0183] 일부 실시형태에서, 방출 제어형 장치는 부적절한 면역 활성화 또는 종양 부위의 근처에서 개체 내로 도입된다. 다른 방출 제어형 시스템은 랑거(Langer)에 의한 리뷰에서 토의된다(Science 249:1527-1533 (1990)). F는 고체 내부 매트릭스, 예를 들어, 폴리메틸메타크릴레이트, 폴리부틸메타크릴레이트, 가소화 또는 비가소화 폴리비닐 클로라이드, 가소화 나일론, 가소화 폴리에틸렌테레프탈레이트, 천연 고무, 폴리이소프렌, 폴리이소부틸렌, 폴리부타디엔, 폴리에틸렌, 에틸렌-비닐아세테이트 공중합체, 실리콘 고무, 폴리디메틸실록산, 실리콘 카보네이트 공중합체, 아크릴산 및 메타크릴산의 에스테르의 하이드로겔과 같은 친수성 중합체, 콜라겐, 가교된 폴리비닐 알콜 및 가교된 부분 가수분해 폴리비닐 아세테이트에서 분산될 수 있으며, 상기 매트릭스는 체액에서 불용성인 외부 중합체 막, 예를 들어, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 에틸렌/프로필렌 공중합체, 에틸렌/에틸 아크릴레이트 공중합체, 에틸렌/비닐아세테이트 공중합체, 실리콘 고무, 폴리디메틸 실록산, 네오프렌 고무, 염소화 폴리에틸렌, 폴리비닐클로라이드, 비닐 아세테이트, 비닐리덴 클로라이드, 에틸렌 및 프로필렌과의 비닐클로라이드 공중합체, 이오노머 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 부틸 고무 에피클로로히드린 고무, 에틸렌/비닐 알콜 공중합체, 에틸렌/비닐 아세테이트/비닐 알콜 삼중합체, 및 에틸렌/비닐옥시에탄올 공중합체에 의해 둘러싸인다. 그 후 활성 성분은 방출 속도 제어 단계에서 외부 중합체 막을 통해 확산한다. 그러한 비경구 조성물내에 함유된 활성 성분의 백분율은 그의 특이적 특성, 및 개체의 필요에 고도로 의존한다.

[0184] FTI 또는 FTI의 약학 조성물은 포장 재료, 혈액압 및 고형 종양을 비롯한 암의 하나 이상의 증상 또는 진행의 치료, 예방 또는 완화를 위해 사용되는 본 발명에서 제공되는 화합물 또는 그의 약학적 허용 염, 및 화합물 또는 그의 약학적 허용 염이 혈액압 및 고형 종양을 비롯한 암의 하나 이상의 증상 또는 진행의 치료, 예방 또는 완화를 위해 사용됨을 나타내는 라벨을 함유하는 제조 물품으로서 포장될 수 있다.

[0185] 본 발명에서 제공되는 제조 물품은 포장 재료를 함유한다. 약학 제품을 포장하는데 사용하기 위한 포장 재료는 당업자에게 잘 알려져 있다. 예를 들어, 미국 특허 5,323,907호, 5,052,558호 및 5,033,252호를 참고한다. 약학적 포장 재료의 예는 블리스터 팩, 병, 튜브, 흡입기, 펌프, 백, 바이알, 용기, 시린지, 펜, 병, 및 선택된 제형과 의도된 투여 및 치료 방식을 위해 적합한 임의의 포장 재료를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명에서 제공되는 화합물과 조성물의 광범위한 제형이 고려된다.

[0186] **2.3. 투여량**

- [0187] 일부 실시형태에서, FTI를 가진 약학 조성물의 치료적 유효량은 경구로 또는 비경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 활성 성분으로서 티피파르닙을 가진 약학 조성물은 단일 투여량으로서 또는 하나보다 많은 투여량으로 분할되어, 일일 1 내지 1500 mg/kg의 양으로, 또는 더욱 구체적으로는 일일 10 내지 1200 mg/kg의 양으로 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 활성 성분으로서 티피파르닙을 가진 약학 조성물은 일일 100 mg/kg, 일일 200 mg/kg, 일일 300 mg/kg, 일일 400 mg/kg, 일일 500 mg/kg, 일일 600 mg/kg, 일일 700 mg/kg, 일일 800 mg/kg, 일일 900 mg/kg, 일일 1000 mg/kg, 일일 1100 mg/kg, 또는 일일 1200 mg/kg의 양으로 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.
- [0188] 일부 실시형태에서, FTI는 일일 200-1500 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 300 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 400 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 500 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 700 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 800 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 900 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 1000 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 1100 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 1300 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 일일 1400 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.
- [0189] 일부 실시형태에서, FTI는 200-1400 mg의 투여량으로 b.i.d.(즉, 하루 두번)투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 300-1200 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 300-900 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 600 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 700 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 800 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 900 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 1000 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 1100 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 1200 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.
- [0190] 당업자는 투여량이 이용되는 투약 형태, 환자의 병태 및 민감성, 투여 경로 및 기타 인자들에 따라 변하는 것을 이해할 것이다. 정확한 투여량은 치료를 요하는 개체에 관련된 인자들에 비추어, 실무자에 의해 결정될 것이다. 투여량과 투여는 충분한 수준의 활성 성분을 제공하기 위하여 또는 원하는 효과를 유지하기 위하여 조정된다. 고려될 수 있는 인자들은 질병 상태의 심각성, 개체의 일반적 건강, 개체의 연령, 체중 및 성별, 식이, 투여의 시간 및 빈도, 약물 조합(들), 반응 민감성, 및 치료법에 대한 용인/반응을 포함한다. 치료 사이클 동안, 일일 투여량은 변화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 시작 투여량은 치료 사이클 내에서 하향 조정될 수 있다. 일부 실시형태에서, 시작 투여량은 치료 사이클 내에서 상향 조정될 수 있다. 최종 투여량은 투여량 제한 독성의 발생 및 다른 인자에 의존할 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 300 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg, 또는 1200 mg의 최대 투여량으로 상승된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 400 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg, 또는 1200 mg의 최대 투여량으로 상승된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 500 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg, 또는 1200 mg의 최대 투여량으로 상승된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 600 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg, 또는 1200 mg의 최대 투여량으로 상승된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 700 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg, 또는 1200 mg의 최대 투여량으로 상승된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 800 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 900 mg, 1000 mg, 1100 mg, 또는 1200 mg의 최대 투여량으로 상승된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 900 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 1000 mg, 1100 mg, 또는 1200 mg의 최대 투여량으로 상승된다. 투여량 상승은 한번에 또는 단계적으로 이루어질 수 있다. 예를 들어, 하루에 600 mg의 시작 투여량은 4일의 과정에 걸쳐서 하루에 100 mg씩 증가시켜 또는 2일의 과정에 걸쳐서 하루에 200 mg씩 증가시켜 또는 한번에 400 mg을 증가시켜, 하루에 1000 mg의 최종 투여량으로 상승될 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.
- [0191] 일부 실시형태에서, FTI는 상대적으로 높은 시작 투여량으로 투여되고 환자 반응 및 다른 인자에 따라 더 낮은 투여량으로 하향 조정된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 1200 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 1100 mg, 1000 mg, 900 mg, 800 mg, 700mg, 600mg, 500 mg, 400 mg, 또는 300 mg의 최종 투여량으로 감소된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 1100 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 1000 mg, 900 mg, 800 mg,

700mg, 600mg, 500 mg, 400 mg, 또는 300 mg의 최종 투여량으로 감소된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 1000 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 900 mg, 800 mg, 700mg, 600mg, 500 mg, 400 mg, 또는 300 mg의 최종 투여량으로 감소된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 900 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 800 mg, 700mg, 600mg, 500 mg, 400 mg, 또는 300 mg의 최종 투여량으로 감소된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 800 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 700mg, 600mg, 500 mg, 400 mg, 또는 300 mg의 최종 투여량으로 감소된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루에 600 mg의 시작 투여량으로 투여되고 하루에 500 mg, 400 mg, 또는 300 mg의 최종 투여량으로 감소된다. 투여량 감소는 한번에 또는 단계적으로 이루어질 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 예를 들어, 하루에 900 mg의 시작 투여량이 3일의 과정에 걸쳐서 하루 100 mg씩 감소시켜 또는 한번에 300 mg을 감소시켜 600 mg의 최종 투여량으로 감소될 수 있다.

[0192] 치료 사이클은 상이한 길이를 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 사이클은 1주, 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 또는 12 개월일 수 있다. 일부 실시형태에서, 치료 사이클은 4 주이다. 치료 사이클은 간헐적 스케줄을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 2-주 치료 사이클은 5-일 투약 후 9-일 휴식을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 2-주 치료 사이클은 6-일 투약 후 8-일 휴식을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 2-주 치료 사이클은 7-일 투약 후 7-일 휴식을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 2-주 치료 사이클은 8-일 투약 후 6-일 휴식을 가질 수 있다. 일부 실시형태에서, 2-주 치료 사이클은 9-일 투약 후 5-일 휴식을 가질 수 있다.

[0193] 일부 실시형태에서, FTI는 반복되는 4주 사이클에서 4주 중 3주 동안 매일 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 반복되는 4주 사이클에서 격주로(1주 온, 1주 오프) 매일 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 반복되는 4주 사이클에서 4주 중 3주 동안 경구로 300 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 반복되는 4주 사이클에서 4주 중 3주 동안 경구로 600 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 반복되는 4주 사이클에서 격주로(1주 온, 1주 오프) 경구로 900 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 격주로(반복되는 28-일 사이클의 1-7일 및 15-21일) 경구로 1200 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 반복되는 28-일 사이클의 1-5일 및 15-19일 동안 경구로 1200 mg의 투여량으로 하루 두번 투여된다.

[0194] 일부 실시형태에서, 900 mg b.i.d. 티피파르닙 격주 요법이 채택되어 사용될 수 있다. 이 요법 하에서, 환자는 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 900 mg의 시작 투여량이 경구로 하루 두번 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 2 치료 사이클을 가진다. 일부 실시형태에서, 환자는 3 치료 사이클을 가진다. 일부 실시형태에서, 환자는 4 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 5 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 6 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 7 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 8 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 9 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 10 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 11 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 12 치료 사이클이 주어진다. 일부 실시형태에서, 환자는 12를 초과하는 치료 사이클이 주어진다.

[0195] 관리할 수 없는 독성이 없으면, 개체는 최대 12개월 동안 티피파르닙 치료를 계속 받을 수 있다. 만일 개체가 치료를 잘 용인하면 투여량은 또한 1200 mg b.i.d.로 증가될 수 있다. 치료-관련, 치료-후 발생 독성을 제어하기 위하여 단계적인 300 mg 투여량 감소가 또한 포함될 수 있다.

[0196] 일부 다른 실시형태에서, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클에서 21일 동안 매일 300 mg의 투여량으로 경구로 하루 두번 주어진 후, 1주의 휴식이 주어진다(21-일 스케줄; Cheng DT, *et al.*, *J Mol Diagn.* (2015) 17(3):251-64). 일부 실시형태에서, 25 내지 1300 mg b.i.d. 범위의 5-일 투약 후 9-일 휴식이 채택된다(5-일 스케줄; Zujewski J., *J Clin Oncol.*, (2000) Feb;18(4):927-41). 일부 실시형태에서, 7-일 b.i.d. 투약 후 7-일 휴식이 채택된다(7-일 스케줄; Lara PN Jr., *Anticancer Drugs.*, (2005) 16(3):317-21; Kirschbaum MH, *Leukemia.*, (2011) Oct;25(10):1543-7). 7-일 스케줄에서, 환자는 300 mg b.i.d.의 시작 투여량이 주어지고 1800 mg b.i.d.의 최대 계획 투여량까지 300 mg 투여량 상승이 이루어질 수 있다. 7-일 스케줄 연구에서, 환자는 또한 최대 1600 mg 하루 두번 투여량으로 28-일 사이클의 1-7일 및 15-21일에 티피파르닙 하루 두번 주어질 수 있다.

[0197] FTI는 하루 두번 투약 스케줄로 투여될 경우 포유동물 종양의 성장을 억제할 수 있다. 1 내지 5일 동안 매일 단일 투여량의 FTI 투여는 적어도 21일까지 지속되는 주목할만한 종양 성장 억제를 생산할 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI는 50-400 mg/kg의 투여량 범위로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 200 mg/kg으로 투여된다. 특

정 FTI를 위한 투약 요법은 또한 본 기술 분야에 잘 알려져 있다(예를 들어, 미국 특허 6,838,467호를 참고하며, 이는 그 전체가 참고로 본원에 포함된다). 예를 들어, 화합물 아르그라빈(WO98/28303호), 페리틸 알콜(WO 99/45712호), SCH-66336(미국 특허 5,874,442호), L778123(WO 00/01691호), 2(S)-[2(S)-[2(R)-아미노-3-머캡토]프로필아미노-3(S)-메틸]-펜틸옥시-3-페닐프로피오닐-메티오닌 설폰(WO94/10138호), BMS 214662(WO 97/30992호), AZD3409; 화이자 화합물 A 및 B(WO 00/12499호 및 WO 00/12498호)를 위한 적합한 투여량이 참고로 본원에 포함되는 전술한 특허 명세서에서 주어지거나 당업자가 용이하게 결정할 수 있다.

[0198] 페리틸 알콜과 관련하여, 의약은 1-4g/일/150 lb 인간 환자로 투여될 수 있다. 바람직하게는, 1-2g/일/150 lb 인간 환자이다. SCH-66336은 전형적으로 약 0.1 mg 내지 100 mg, 더욱 바람직하게는 특정 응용에 따라 약 1 mg 내지 300 mg의 단위 투여량으로 투여될 수 있다. 화합물 L778123 및 1-(3-클로로페닐)-4-[1-(4-시아노벤질)-5-이미다졸릴메틸]-2-피페라지논은 약 0.1 mg/kg 체중 내지 약 20 mg/kg 체중/일, 바람직하게는 0.5 mg/kg 체중 내지 약 10 mg/kg 체중/일의 양으로 인간 환자에게 투여될 수 있다.

[0199] 화이자 화합물 A 및 B는 단일 또는 분할(즉, 다중) 투약으로 약 1.0 mg 내지 약 500 mg/일, 바람직하게는 약 1 내지 약 100 mg/일 범위의 투여량으로 투여될 수 있다. 치료 화합물은 보통은 단일 또는 분할 투약으로, 약 0.01 내지 약 10 mg/kg 체중/일 범위의 일일 투여량으로 투여될 것이다. BMS 214662는 단일 투약으로 또는 2 내지 4 분할 투약으로 약 0.05 내지 200 mg/kg/일, 바람직하게는 100 mg/kg/일 미만의 투여량 범위로 투여될 수 있다.

[0200] **2.4. 조합 치료법**

[0201] 일부 실시형태에서, FTI 치료는 방사선치료와 조합되어 투여된다. 방사선치료는 γ -선, X-선, 및/또는 종양 세포의 방사성동위원소의 직접 전달을 이용하는 것을 포함한다. DNA 손상 인자의 다른 형태가 또한 고려되며, 예를 들어, 마이크로파, 양성자빔 조사(미국 특허 5,760,395호 및 4,870,287호; 이 모두는 그 전체가 참고로 본원에 포함됨), 및 UV-조사가 있다. 모든 이들 인자는 DNA에, DNA의 전구체에, DNA의 복제와 복구에, 그리고 염색체의 조립과 유지에 광범위한 손상을 준다.

[0202] 일부 실시형태에서, 숙주 내의 종양을 조사에 효과적으로 감각시키는, FTI를 가진 약학 조성물의 치료적 유효량이 투여된다(그 전체가 참고로 본원에 포함되는 미국 특허 6,545,020호). 조사는 이온화 방사선 그리고 특히 감마 방사선일 수 있다. 일부 실시형태에서, 감마 방사선은 선형 가속기에 의해 또는 방사성핵종에 의해 방출된다. 방사성핵종에 의한 종양의 조사는 외부적이거나 내부적일 수 있다.

[0203] 조사는 또한 X-선 방사선일 수 있다. X-선을 위한 선량 범위는 연장된 기간(3 내지 4주)동안 50 내지 200 린트겐의 일일 선량 내지 2000 내지 6000 린트겐의 단일 선량 범위이다. 방사성동위원소를 위한 선량 범위는 광범위하게 변하며, 동위원소의 반감기, 방출되는 방사선의 강도와 타입 및 종양 세포에 의한 흡수에 의존한다.

[0204] 일부 실시형태에서, 약학 조성물의 투여는 종양의 조사 전, 최대 1개월에, 특히 최대 10일 또는 1주일에 시작한다. 부가적으로, 종양의 조사는 분획되고 첫번째 및 마지막 조사 세션 사이의 간격에서 약학 조성물의 투여가 유지된다.

[0205] FTI의 양, 조사의 선량 및 조사 선량의 간헐상태는 종양 타입, 그 위치, 환자의 화학- 또는 방사선치료에 대한 반응과 같은 일련의 파라미터에 의존할 것이며 궁극적으로는 각 개별 경우에 의사 및 방사선전문가가 결정한다.

[0206] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 치료적 유효량의 두 번째 활성 제제 또는 보조 케어 치료법을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 두 번째 활성 제제는 화학요법 제제이다. 화학요법 제제 또는 약물은 세포내에서 그의 활성 방식에 의해, 예를 들어, 그들이 세포 주기에 영향을 주는지 그리고 어느 단계에서 영향을 주는지에 의해 분류될 수 있다. 대안적으로, 제제는 DNA를 직접 가교하거나, DNA 내로 끼어들거나, 핵산 합성에 영향을 주어 염색체 및 유사분열 이상을 유도하는 그 능력에 기초하여 특징지을 수 있다.

[0207] 화학요법 제제의 예는 티오테파 및 시클로포스파미드와 같은 알킬화제; 부설판, 임프로설판 및 피포설판과 같은 알킬 설포네이트; 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파와 같은 아지리딘; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리에틸올로멜라민을 비롯한 에틸렌이민 및 메틸아멜라민; 아세토제닌(특히 블라타신 및 블라타시논); 캄프토테신(합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토포신(특히 크립토포신 1 및 크립토포신 8); 도라스타틴; 두오카르미신(합성 유사체 KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 에류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕틴; 스폰지스타틴; 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로르에타민, 메클로르에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜파란, 노벰비친, 페네

스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드 및 우라실 머스타드와 같은 질소 머스타드; 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라님누스틴과 같은 니트로소우레아; 에네딘 항생제(예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마II 및 칼리케아미신 오메가II)와 같은 항생제; 다이네미신 A를 비롯한 다이네미신; 클로드로네이트와 같은 비스포스포네이트; 에스페라미신; 및 네오키르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 에네딘 항생제 발색단, 아클라시노미신스, 액티노마이신, 아우트라르니신, 아자세린, 블레오마이신스, 각티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르루이신, 독소루비신(모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신 C와 같은 미토마이신, 미코페놀산, 노가라르니신, 올리보마이신, 페플로마이신, 팻피로마이신, 퓨로마이신, 퀘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니맥스, 지노스타틴, 및 조루비신; 메토티렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU)과 같은 항-대사물; 데노프테린, 프테로프테린 및 트리메트렉세이트와 같은 엽산 유사체; 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린 및 티오구아닌과 같은 퓨린 유사체; 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈 및 플록스우리딘과 같은 피리미딘 유사체; 카루스테론, 드로모스타논 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄 및 테스토라톤과 같은 안드로겐; 미토탄 및 트리로스탄과 같은 항-아드레날; 프로린산과 같은 엽산 보충제; 아세그라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포티론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄신 및 안사미토신과 같은 메이탄시노이드; 미토구아존; 미토잔트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로소잔트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라지드; 프로카르바진; PSK다당류 복합체; 라죽산; 리죽신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센스(특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안퀴딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드("Ara-C"); 시클로포스파미드; 탁소이드, 예를 들어, 파클리탁셀 및 도세탁셀 쟈시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카르보플라틴과 같은 백금 배위 착물; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드(VP-16); 이포스파미드; 미토잔트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; 이리노테칸(예를 들어, CPT-11); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오메틸오르니틴(DMFO); 레티노산과 같은 레티노이드; 카페시타빈; 카르보플라틴; 프로카르바진, 플리코마이신, 쟈시타빈, 나벨빈, 트랜스백금 및 상기 중 어느 것의 약학적 허용 염, 산, 또는 유도체를 포함한다.

[0208] 두 번째 활성 제제는 대분자(예를 들어, 단백질) 또는 소분자(예를 들어, 합성 무기, 유기금속, 또는 유기 분자)일 수 있다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 DNA-저메틸화 제제, 암 항원에 특이적으로 결합하는 치료 항체, 조혈 성장 인자, 사이토카인, 항암제, 항생제, cox-2 억제제, 면역조절제, 항-흉선세포 글로불린, 면역억제제, 코르티코스테로이드 또는 그의 약리학적 활성 돌연변이 또는 유도체이다.

[0209] 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 시티딘 유사체(예를 들어, 아자시티딘) 또는 5-아자데옥시시티딘(예를 들어, 데시타빈)과 같은 DNA 저메틸화 제제이다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 인덕션(Induction), 토포테칸, 하이드레아, PO 에토포시드, 레나리도미드, LDAC, 및 티오구아닌을 포함하지만 이에 제한되지 않는 세포감소제이다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 미토잔트론, 에토포시드, 시타라빈 또는 발스포다르이다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 미토잔트론 + 발스포다르, 에토포시드 + 발스포다르, 또는 시타라빈 + 발스포다르이다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 이다루비신, 플루다라빈, 토포테칸, 또는 아라-C이다. 일부 다른 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 이다루비신 + 아라-C, 플루다라빈 + 아라-C, 미토잔트론 + 아라-C, 또는 토포테칸 + 아라-C이다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 퀴닌이다. 상기에 개시된 제제의 다른 조합이 사용될 수 있으며, 투여량은 의사가 결정할 수 있다.

[0210] 본 명세서에 개시된 임의의 특정 암 타입에 대해, 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술 분야에서 이용가능한 치료가 FTI 치료와 조합되어 이용될 수 있다. 예를 들어, FTI와 조합되어 이용될 수 있는 약물은 스펙트럼 파마슈티컬스(Spectrum Pharmaceuticals)에 의해 판매되는 베리노스타트(베레오닥(Beleodaq)[®]) 및 프라라트렉세이트(포로틴(Folotylin)[®]), 셀진(Celgene)에 의해 판매되는 로미덱스(이스토닥스(Istodax)[®]), 및 시애틀 제네틱스(Seattle Genetics)에 의해 판매되는 브렌투시맙 베도틴(애드세트리스(Adcetris)[®])(ALCL을 위해)을 포함하며; FTI와 조합되어 사용될 수 있는 약물은 셀진에 의해 판매되는 아자시티딘(비다자(Vidaza)[®]) 및 레나리도미

드(레브리미드(Revlimid)[®]), 및 오츠키(Otsuka) 및 존슨 & 존슨에 의해 판매되는 데시타빈(다코젠(Dacogen)[®])을 포함하며; 갑상선암을 위하여 FTI와 조합되어 사용될 수 있는 약물은 아스트라제네카(AstraZeneca)의 반데타닙(카프렐사(Caprelsa)[®]), 바이엘(Bayer)의 소라페닙(넥사바르(Nexavar)[®]), 엑셀릭시스(Exelixis)의 카보잔티닙(코메트릭(Cometriq)[®]) 및 에이사이(Eisai)의 렌바티닙(렌비마(Lenvima)[®])를 포함한다.

[0211] 프라라트렉세이트(포르틴[®]), 로미덱신(이스토다스[®]) 및 베리노스타트(베레오닥[®])와 같은 비-세포독성 치료법이 또한 FTI 치료와 조합되어 이용될 수 있다.

[0212] 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 면역요법 제제이다. 일부 실시형태에서, 두 번째 활성 제제는 항-PD1 항체 또는 항-PDL1 항체이다.

[0213] 일부 실시형태에서, FTI와 조합되어 사용되는 두 번째 활성 제제 또는 두 번째 치료법은 FTI 치료 이전에, 동시에, 또는 이후에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI와 조합되어 사용되는 두 번째 활성 제제 또는 두 번째 치료법은 FTI 치료 이전에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI와 조합되어 사용되는 두 번째 활성 제제 또는 두 번째 치료법은 FTI 치료와 동시에 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI와 조합되어 사용되는 두 번째 활성 제제 또는 두 번째 치료법은 FTI 치료 이후에 투여될 수 있다.

[0214] FTI 치료는 또한 골수 이식과 조합되어 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI는 골수 이식 이전에 투여된다. 다른 실시형태에서, FTI는 골수 이식 이후에 투여된다.

[0215] **3. FTI 치료를 위한 바이오마커로서 면역학적 유전자**

[0216] 본 발명은 파르네실전달효소 억제제(FTI)를 이용한 치료를 위한 암 환자의 선별 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 천연 킬러 세포(NK 세포)의 활성화와 관련되는 일부 유전자의 유전형 및 발현 수준이 FTI 치료의 임상 효과와 상관된다는 발견에 부분적으로 기초한다. 구체적으로, KIR 유전자 및 HLA 유전자의 유전형결정(genotyping) 및 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM을 비롯한 바이오마커의 발현 수준은 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위하여 사용될 수 있다. 본 발명에서 제공된 대로, 개별 바이오마커의 발현 수준에 더하여, 일부 바이오마커 간의 발현 수준의 비율, 예를 들어, KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율, 또는 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 또한 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 환자로부터의 샘플에서 이들 바이오마커의 유전형 또는 발현 수준에 기초하여, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위해 암 환자 개체군을 선별하는 방법, 및 FTI의 치료적 유효량으로 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 또한 본 발명은 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위한 조성물 및 키트를 제공한다.

[0217] 파르네실전달효소(FT아제)는 Ras 단백질의 번역후 변형에서 중요한 역할을 가진다. FTI는 Ras를 비롯한 광범위한 표적 단백질의 파르네실화를 억제하는 생물학적 활성 항암 약물 부류이다. Ras 단백질은 세포 성장-자극 시그널의 전달에서 중요한 역할을 하며, ras 유전자의 돌연변이는 이 단백질의 일정한 활성화를 야기하여, 제어되지 않은 세포 증식을 야기한다. 모든 인간 암의 30%에서 발견되는, 돌연변이된 ras 유전자의 높은 출현율은 이 경로를 항암 약물 개발을 위한 매력적인 표적으로 만든다. Ras 기능을 간섭하는 방법은 FTI에 의해, 15-탄소 이소프레닐기를 Ras 단백질에 커플링하는 효소인 FT아제를 억제하는 것이다. FTI는 FT아제의 억제를 통해 Ras 활성화를 차단하여, 결과적으로 세포 성장 중지를 야기한다. 따라서, FTI는 암 치료에서 효과적인 치료제일 것으로 예측되었다.

[0218] 하지만, ras 돌연변이와 FTI에 대한 반응 사이의 상관성은 과거 임상 연구에서 입증되지 않았다(Karp et al. Blood 97:3361-3369 (2001); 및 미국 특허 공개 20070048782호). 여러 초기 임상 연구가 높은 빈도의 ras 돌연변이를 나타낸 암에 집중했지만, 이들 시험에서 반응률은 실망스럽게 낮았다(Mesa Lancet Oncol 6:279-286 (2006); Rao et al. J Clin Oncol 22:3950-3957 (2004))

[0219] FTI인 티피파르닙의 초기 연구는 고위험이며 이전에 치료되지 않은 AML 환자(CTEP-20 II상), 및 재발/불응성 AML을 가진 AML 환자(INT-17 II상)에서 수행되었다. 최선의 보조 케어 치료법(BSC)에 비하여 티피파르닙의 III상 연구는 전체 생존기간에서 개선을 입증하지 못했다. 다수의 유전자/단백질이 문헌에서 FTI의 활성화와 연관되었으며(AKAP13, mDIA, 등)(Raponi et al. Clin Cancer Res. 13:2254-60 (2007); Kamasani et al. Cancer Biology & Therapy, 6:1418-1423 (2007)), 2 AML 연구로부터의 골수 샘플에서의 유전자 발현 프로파일링의 분석(CTEP-20, INT-17)은 2 유전자 RASGRP1(T 세포 시그널 전달자) 및 APTX(DNA 복구 단백질)의 발현 비율을 AML에서 티피파르닙의 활성화의 잠재적 바이오마커로서 동정하였다(Raponi et al. Blood. 111:2589-96(2008)). 하지

만, 포함 기준으로서 골수 아세포에서의 2-유전자 비율을 이용한 후속 전향 연구는 AML에서 티피파르닙의 유의한 임상적 효과를 입증하지 못했다(Lancet et al. Blood (ASH) 120: Abstract 1508(2012)).

[0220] 본 발명은 FTI 치료를 위한 더 나은 예후와 관련된 바이오마커로서 다수의 면역학적 유전자를 동정하며, FTI 치료를 위한 환자 선별의 새로운 방법을 제공한다. FTI 치료에서 뿐만 아니라 다른 표준 화학요법에서의 우수한 예후와 관련된 것으로 밝혀진 RASGRP1과 같은 이전에 동정된 마커와 달리, 본 발명에서 동정된 면역 관련 바이오마커는 명확하게 FTI 치료의 임상 효과와 관련되지만, 다른 표준 화학요법의 제제와는 관련되지 않는다.

[0221] 본 발명에서 동정된 바이오마커는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, GZMM 뿐만 아니라, KIR2DS2를 위한 특이적 리간드인 HLA-C2를 포함한다. KIR2DS2 및 HLA-C2의 보유자는 MDS에 취약한 것으로 나타났다(Serio et al., Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2006 108: Abstract 2670; Cook et al., Blood 2004; 103: 1521-152). 본 발명에서 동정된 면역학적 바이오마커는 모두 NK 세포 관련 유전자이다. 티피파르닙과 같은 FTI가 본 명세서에 개시된 특정 KIR 유전형 또는 발현 프로파일을 가진 암을 선택적으로 표적화한다는 발견은 적어도 부분적으로, 특정 KIR 유전형 또는 발현 프로파일을 가진 일부 NK 세포가 자가면역을 유도할 수 있는 기전에 기초할 수 있다. 그러한 NK 세포는 또한 항원 제시를 하향 조절하거나, 일부 T 세포의 서브타입을 사멸시키거나 하향 조절할 수 있다. KIR-RAS 시그널링을 억제함으로써, FTI는 NK 세포의 활성을 조절하거나 억제할 수 있으며, 환자 자신의 면역계를 조절함으로써 암세포에 대한 세포독성을 촉진할 수 있다. 또한, KIR-RAS 시그널링을 억제함으로써, FTI는 정상 혈액 세포 및 그들의 전구체에 대한 NK 세포 및 다른 면역 세포의 활성을 조절하거나 억제하여, 적혈구 또는 혈소판 수혈 또는 혈액 성장 인자 투여 필요성을 감소시키거나 제거할 수 있다.

[0222] **3.1. KIR 타이핑 및 HLA 타이핑**

[0223] 본 발명에서 제공되는 대로, 개체의 KIR 유전자 및 HLA 유전자의 유전형은 개체가 FTI 치료에 반응할 가능성을 나타낼 수 있다. KIR2DS2, KIR2DS5, 또는 HLA-C2의 보유자인 암 환자는 FTI 치료에 반응성일 가능성이 있다. 따라서, 암 환자를 KIR 타이핑하고, KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자인 환자를 선택적으로 치료하는 것은 FTI 치료에 대한 암 환자의 전체적인 반응률을 증가시킬 수 있다. 또한, 암 환자를 HLA 타이핑하고, HLA-C2의 보유자인 환자를 선택적으로 치료하는 것은 FTI 치료에 대한 암 환자의 전체적인 반응률을 추가로 증가시킬 수 있다.

[0224] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체에 치료적 유효량의 FTI를 투여하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 이때 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체를 KIR 타이핑하고 개체에 FTI의 치료적 유효량을 투여함으로써 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 이때 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS5의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 KIR2DS5 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DL2의 보유자가 아니다. 일부 실시형태에서, 개체는 또한 KIR2DL5의 보유자가 아니다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2의 보유자이지만, KIR2DL2의 보유자가 아니다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS5의 보유자이지만, KIR2DL5의 보유자가 아니다.

[0225] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 개체에서 암을 치료하는 방법은 개체를 HLA 타이핑하고 HLA-C2의 보유자인 개체에 FTI의 치료적 유효량을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS5 및 HLA-C2 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2, KIR2DS5 및 HLA-C2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, HLA-C2의 보유자인 개체는 HLA-C2/HLA-C2 동형접합성이다. 일부 실시형태에서, 개체는 HLA-C1/HLA-C2 이형접합성이다.

[0226] 일부 실시형태에서, 본 발명은 KIR 타이핑에 의해 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 암 환자는 만일 암 환자가 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이면 FTI 치료를 위해 선별된다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 KIR 타이핑을 하고 만일 암 환자가 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이면 FTI 치료에 암 환자가 반응할 가능성이 있는 것으로 결정함으로써, 암 환자가 FTI 치료에 대해 반응할 가능성을 예측하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 암 환자에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS5의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 KIR2DS5 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DL2의 보유자가 아니다. 일부 실시형태에서, 개체는 또한 KIR2DL5의 보유자가 아니다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2의 보유자이지만, KIR2DL2의 보유자가 아니다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS5의 보유자이지만, KIR2DL5의 보유자가 아니다.

[0227] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법 또는 FTI 치료에 대해 암

환자가 반응성일 가능성을 예측하는 방법은 개체를 HLA 타이핑하고 HLA-C2의 보유자인 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2 및 HLA-C2 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS5 및 HLA-C2 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 KIR2DS2, KIR2DS5 및 HLA-C2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, HLA-C2의 보유자인 개체는 HLA-C2/HLA-C2 동형 접합성이다. 일부 실시형태에서, 개체는 HLA-C1/HLA-C2 이형접합성이다.

[0228] KIR 타이핑 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 예시적인 KIR 타이핑 방법은 WO 2012047985호; Lebedeva et al., Hum Immun., 68(9):789-96 (2007); Gonzalez et al., Hum Immun., 70(10):858-63 (2009); Yun et al., Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 106:Abstract 1407 (2005) (또한 Yun et al., Clin Immunol. 123(3):272-280 (2007)참고); Leung et al., J Immun. 174:6540-6545 (2005); Dinauer et al., US 2008/0280289 (또한 WO 2005/046459호 선별 부분; 및 KIR Genotyping Product Brochure 2004 참고); Chen et al., WO 2009/051672호에 개시된다. 또한 PCT/US2008/011671호; Trachtenberg et al., 특허 출원 공개 US 2008/0213787호(또한 WO 2007/041067호 참고); Houtchens et al., Immunogenetics. 59(7):525-37 (2007).; Gomez-Lozano et al., Tissue Antigens 59(3):184-193 (2002); 및 Shilling et al., J Immunol. 168:2307-2315 (2002); 미국 특허 6,723,564호, 6,111,251호, 6,104,028호, 6,558,902호, 6,706,530호, 6,423,966호, 5,777,324호, 6,569,385호, 6,500,621호, 6,300,076호, 및 6,258,538호; Uhrberg et al., Immunity 7:753-763 (1997); Gomez-Lozano et al., Tissue Antigens 59:184-193 (2002); Cook et al., Hum. Immunology 64:567-571 (2003); Crum et al., Tissue Antigens 56:313-326 (2000); Middleton et al., Transplant immunology 10:147-164 (2002); Ross et al., Nature Biotech., 16:1347-1351 (1998); Fei et al., Rapid Comm. Mass. Spec., 14:950-959 (2000); Fei et al., NAR 26(11):2827-2828 (1998); Amexis et al., PNAS 98(21) 12097-12102 (2001); Li et al., Electrophoresis 20:1258-1265 (1999); Buetow et al., PNAS 98(2) 581-584 (2001); Storm et al., Methods in Mol. Biol., 212:241-262 (2003); Parham, Immunology Lett. 92:11-13 (2004); 및 매스어레이(MassARRAY)TM 호모지니어스 매스 익스텐드(Homogeneous Mass EXTEND)TM (hME) 분석, 시퀀넴(Sequenom)[®], 적용 메모(Application Notes), Bulletin #1021를 참고하며; 각각은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다.

[0229] 또한, 이용가능한 일부 KIR 유전형결정 키트는 이노-트레인(Inno-Train), "KIR-레디 진(Ready Gene)" 제품 브로슈어 9/2005; 밀테닐 바이오텍(Miltenyi Biotec), "KIR 타이핑 키트(Typing Kit)" 제품 브로슈어 2009; 인비트로젠(Invitrogen), "KIR 지노타이핑(Genotyping) SSP 키트" 제품 브로슈어 11/2006; 및 테프넬 라이프코드(Tepnel Lifecodes), "KIR 지노타이핑" 제품 브로슈어 6/2005를 포함하며, 그 각각은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다.

[0230] 본 발명에서 제공되는 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 KIR 타이핑에 의해 FTI를 이용하여 개체에서 암을 치료하거나, 또는 KIR 타이핑에 의해 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 KIR 타이핑은 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석, 면역블롯팅 분석, 또는 효소-연결 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 DNA 마이크로어레이에 의해 수행된다. 일 실시형태에서, KIR 타이핑은 ELISA에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 시퀀싱에 의해 수행된다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 차세대 시퀀싱(NGS)에 의해 수행된다.

[0231] 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 PCR에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 서열 특이적 프라이머(SSP)를 이용하여 PCR에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, SSP는 KIR2DL2, KIR2DL5, KIR2DS2, KIR2DS5, 또는 임의의 그 조합을 증폭시키기 위해 특이적인 것들을 포함한다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 서열-특이적 올리고뉴클레오티드 프로브(SSOP)를 이용하여 PCR에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 서열 기반(SBT)을 이용하여 PCR에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 DNA 마이크로어레이에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 MS에 의해 수행될 수 있다. 일부 실시형태에서, KIR 타이핑은 매트릭스-지원 레이저 이탈/이온화 비행시간(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight)(MALDI-TOF) 질량 분석법에 의해 수행될 수 있다. 당업자는 KIR 타이핑이 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 임의의 방법에 의해 수행될 수 있음을 이해할 것이다.

[0232] HLA 타이핑 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 처음에는, 이들 대립유전자의 동정을 위하여 가장 널리 이용된 DNA 타이핑 방법은 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석이었다. 제한 단편 길이 다형성(PCR-RFLP)에 더하여, 다른 방법은 HLA 대립유전자를 구별하기 위하여, PCR 증폭된 생성물과 서열-특이적 올리고뉴클레오티드 프로브를 하이브리드화하는 것(PCR-SSO)이었다(Tiercy et al., (1990) Blood Review 4: 9-15를 참고하며 그 전체가

참고로 본원에 포함된다). 이 방법은 관심 HLA 유전자좌의 PCR 생성물이 생산된 후 니트로셀룰로소막 또는 스트립 상에 놓여질 것을 요구한다. 그 후 각 막은 서열 특이적 프로브와 하이브리드화되고, 세척된 후, 검출 방법에 따라 x-선 필름에 노출되거나 또는 비색분석법에 의해 분석된다. PCR-SSP 방법과 유사하게, 프로브는 상이한 HLA 대립유전자를 책임지는 대립유전자 다형성 영역에 대해 만들어진다. 각 샘플은 완전한 클래스 I 및 II 타이핑을 위해 적어도 100-200 상이한 핫수로 하이브리드화되고 탐침되어야 한다. PCR-SSO 타이핑을 위한 하이브리드화 및 검출 방법은 비방사성 라벨링된 프로브, 미세플레이트 포맷 등의 이용을 포함한다(예를 들어, Saiki et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A. 86: 6230-6234; Erlich et al. (1991) Eur. J. Immunogenet. 18(1-2): 33-55; Kawasaki et al. (1993) Methods Enzymol. 218:369-381를 참고하며 모두 그 전체가 참고로 본원에 포함된다).

[0233] 서열 특이적 프라이머 증폭을 이용하는 분자 타이핑 방법(PCR-SSP)이 개시되었다(Olerup and Zetterquist (1992) Tissue Antigens 39: 225-235 참고). 이 PCR-SSP 방법은 검출 단계가 훨씬 간단하므로 간단하고, 유용하며 신속하다. PCR-SSP에서, 대립유전자 서열 특이적 프라이머는 상보적 주형 대립유전자만을 증폭시켜, 고도의 분리능으로 유전적 변이가 검출되도록 한다. 이 방법은 PCR 후에 증폭 생성물(전체적으로 "앰플리콘"으로 불림)이 존재하는지 부재하는지에 의해 간단히 HLA 타입의 결정을 허용한다. PCR-SSP에서, 증폭 생성물의 검출은 보통 아가로스 젤 전기영동 및 이어서 젤의 에티뮴 브로마이드(EtBr) 염색에 의해 이루어진다.

[0234] 다른 HLA 타이핑 방법은 SSCP-단일-쇄 형태 다형성(Single-Stranded Conformational Polymorphism)이다. 요약하면, 상이한 HLA 유전자좌의 단일 쇠 PCR 생성물이 비변성 폴리아크릴아미드 젤 전기영동(PAGE)상에서 러닝된다. 단일 쇠는 그들의 염기쌍 조성에 기초하여 독특한 위치로 이동할 것이다. 공지의 표준과 비교하여, 타이핑이 추론될 수 있다. 이것은 진정한 동형접합성을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

[0235] 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석, 면역블롯팅 분석, 또는 효소-연결 면역흡착 분석(ELISA)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 HLA 타이핑 방법이 또한 본 발명에서 제공되는 방법에서 이용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 시퀀싱은 NGS일 수 있다. 다른 방법은 미국 특허 6,670,124호, US5,468,611호, US8,435,740호, US8,771,951호 및 U.S.20130267613호에 개시되며; 이들은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 본 기술분야에 알려진 HLA 타이핑을 위한 다른 상이한 방법이 또한 본 발명에서 제공되는 방법에서 이용될 수 있다.

[0236] 예를 들어, 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석이 HLA 타이핑을 위해 이용될 수 있다. SNP 분석은 HLA-C의 위치 77 및 HLA-B 및 -A의 위치 83에서의 다형성에 기초하여 상이한 HLA를 타이핑할 수 있다. SNP 분석은 제조사에 의해 제공되는 대립유전자 구별 분석 프로토콜을 따라, 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems)로부터의 HT7900에서 수행될 수 있다. 분석을 위한 프라이머는 그들이 특정 HLA 타입(예를 들어, HLA-C)의 대립유전자 모두 및 관심 다형성 영역을 함유한 앰플리콘을 증폭하는 방식으로 설계되었다. 두 프로브는 그들 사이에 하나의 미스매치를 가지고 설계되었다. 각 프로브는 한 그룹의 대립유전자에만 결합하였으며 그들의 5' 말단에서 6FAM 또는 VIC 형광 염료로 라벨링되었다. 프로브는 또한 비-형광 켄처(quencher)(NFQ)를 가진 택맨(Taqman)® 마이너 그루브(minor groove) 결합체(MGB)를 함유하였다(어플라이드 바이오시스템즈). HLA-C를 위해, 전방 프라이머는 5'-TTGGGACCGGAGACACAG-3'일 수 있으며 역방 프라이머는 5'-CGATGTAATCCTTGCCGTC-3'일 수 있다. HLA-C1 및 HLA-C2를 위해 이용된 프로브는 각각 6FAM-CCGAGTGAG CCTGC-MGBNFQ 및 VIC-CCGAGTGAA CCTGC-MGBNFQ일 수 있다. 각각의 분석 반응 혼합물은 어플라이드 바이오시스템즈(USA)로부터의 1X 택맨 유전자형결정 마스터 혼합물 내에 250 nM 프로브 농도 및 20 ng의 게놈 DNA를 함유할 수 있다.

[0237] 일부 실시형태에서, KIR 타이핑 또는 HLA 타이핑은 FTI 치료에 대한 동반 진단으로서 수행된다. 동반 진단은 개체가 치료되는 병원에서 수행될 수 있다. 동반 진단은 또한 개체가 치료되는 병원과 분리된 위치에서 수행될 수 있다.

[0238] 일부 실시형태에서, KIR 타이핑 또는 HLA 타이핑의 방법은 개체로부터 샘플을 수득하는 것을 포함한다. 개체는 암 환자일 수 있다. 샘플은 전혈 샘플, 골수 샘플, 부분 정제된 혈액 샘플, PBMC, 또는 조직 생검일 수 있다. 일부 실시형태에서, 샘플은 암 환자로부터의 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 암 환자로부터의 PBMC이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 농축 NK 세포이다. NK 세포는 암 환자로부터의 골수, 전혈, 또는 부분 정제 혈액으로부터 농축될 수 있다. 일부 실시형태에서, NK 세포는 KIR 타이핑 전에 인 비트로에서 추가로 증식된다.

[0239] **3.2.KIR 발현 및 GZMM 발현**

[0240] 본 발명에서 제공되는 대로, 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어

진 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준은 개체가 FTI 치료에 대해 반응할 가능성을 나타낼 수 있다. KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높은 암 환자는 FTI 치료에 반응할 가능성이 있다. KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높은 암 환자는 FTI 치료에 반응할 가능성이 있다. GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높은 암 환자는 FTI 치료에 반응할 가능성이 있다. KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮은 암 환자는 FTI 치료에 반응할 가능성이 있다. KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮은 암 환자는 FTI 치료에 반응할 가능성이 있다. 따라서, 암 환자에서 이들 바이오마커 중 하나 이상의 발현 수준을 검출하고, 상기한 조건 중 하나 이상을 충족하는 암 환자를 선택적으로 치료하는 것은 FTI 치료에 대한 암 환자의 전체적인 반응률을 증가시킬 수 있다.

- [0241] 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 전체 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5A의 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5B의 발현 수준이다.
- [0242] 부가적으로, 본 발명은 FTI 치료에 개체가 반응할 가능성을 예측하기 위하여 일부 바이오마커의 발현 수준의 비율을 이용하는 방법을 제공한다. 예를 들어, KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 높은 비율 ("2DS2/2DL2 비율")은 개체가 FTI 치료에 반응할 가능성이 있음을 나타낼 수 있다. 유사하게, KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 높은 비율 ("2DS5/2DL5 비율")은 개체가 FTI 치료에 반응할 가능성이 있음을 나타낼 수 있다. 따라서, 암 환자에서 이들 바이오마커의 발현 수준을 검출하고, 그의 2DS2/2DL2 비율이 기준 비율 보다 높거나 그의 2DS5/2DL5 비율이 기준 비율보다 높거나 또는 둘 모두인 암 환자를 선택적으로 치료하는 것은 FTI 치료에 대한 암 환자의 전체적인 반응률을 증가시킬 수 있다.
- [0243] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 이때
- [0244] (i) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0245] (ii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0246] (iii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0247] (iv) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는
- [0248] (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이다.
- [0249] 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정하며, 이때
- [0250] (i) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0251] (ii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0252] (iii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0253] (iv) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는
- [0254] (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높으며; (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써, 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0255] 일부 실시형태에서, 본 발명은 암 환자로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 바이오마커의 발현 수준을 결정함으로써 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 만일
- [0256] (i) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0257] (ii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0258] (iii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0259] (iv) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나; 또는
- [0260] (v) 개체로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이면 암 환자는 FTI 치료를 위해 선별된다.

- [0261] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 치료적 유효량의 FTI로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 5가지 조건 중 하나가 충족된다:
- [0262] (i) 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높음(조건 1);
- [0263] (ii) 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높음(조건 2);
- [0264] (iii) 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮음(조건 3);
- [0265] (iv) 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮음(조건 4); 그리고
- [0266] (v) 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높음(조건 5).
- [0267] 당업자는 상기에 개시된 5가지 조건 중 어느 하나를 만족하는 것은 개체가 FTI 치료에 반응할 가능성이 있음을 나타낼 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 각 조건은 전체적인 반응률을 증가시키기 위하여 FTI 치료를 위한 환자 선별 기준으로서 독립적으로 작용할 수 있다. 당업자는 또한 둘 이상의 조건의 조합이 또한 FTI 치료를 위한 환자 선별 기준으로 작용할 수 있으며, 이는 단일 조건 보다 더 선택적이며 더 높은 전체 반응률을 잠재적으로 이룰 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 본 발명은 또한 FTI 치료를 위한 환자 선별을 위해 상기 조건의 임의의 조합 또는 순열을 이용하는 방법을 제공한다.
- [0268] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자는 조건 1과 2, 1과 3, 1과 4, 1과 5, 2와 3, 2와 4, 2와 5, 3과 4, 3과 5, 또는 4와 5와 같은, 상기에 개시한 5가지 조건 중 둘을 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1과 2를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1과 3을 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1과 4를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1과 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 2와 3을 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 2와 4를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 2와 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 3과 4를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 3과 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 4와 5를 충족한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 방법은 치료적 유효량의 FTI로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위해 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준은 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높으며, 개체의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준은 GZMM의 기준 발현 수준보다 높다. 다른 예의 경우, 일부 실시형태에서, 본 방법은 치료적 유효량의 FTI로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위해 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준은 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높으며, 개체의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준은 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮다.
- [0269] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2 및 3; 1, 2 및 4; 1, 2 및 5; 1, 3 및 4; 1, 3 및 5; 1, 4 및 5; 2, 3 및 4; 2, 3 및 5; 2, 4 및 5; 또는 3, 4 및 5와 같은 상기 개시한 5가지 조건 중 세 가지를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2 및 3을 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2 및 4를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 3 및 4를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 3 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 4 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 2, 3 및 4를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 2, 3 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 2, 4 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 3, 4 및 5를 충족한다. 예를 들어, 일부 다른 실시형태에서, 본 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준은 KIR2DS2의 기준 발현 수준 보다 높고, 개체의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준은 KIR2DL2의 기준 발현 수준 보다 낮고, 개체의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준은 GZMM의 기준 발현 수준 보다 높다.
- [0270] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2, 3 및 4; 1, 2, 3 및 5; 1, 2, 4 및 5; 1, 3, 4 및 5; 또는 2, 3, 4 및 5와 같은 상기에 개시한 5가지 조건 중 4가지를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2, 3 및 4를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2,

3 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 2, 4 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 1, 3, 4 및 5를 충족한다. 일부 실시형태에서, 개체 또는 암 환자는 조건 2, 3, 4 및 5를 충족한다.

- [0271] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자는 상기에 개시한 5가지 조건 모두를 충족하며, 즉,
- [0272] (i) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높고;
- [0273] (ii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮고;
- [0274] (iii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높고;
- [0275] (iv) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮고; 그리고
- [0276] (v) 개체로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높다.
- [0277] 개별 바이오마커의 발현 수준에 더하여, 두 바이오마커 사이의 발현 수준의 비율이 또한 반응물을 증가시키기 위하여 FTI 치료를 위한 환자를 선별하기 위한 기준으로서 작용할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 이때
- [0278] (i) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율(2DS2/2DL2 비율)이 기준 2DS2/2DL2 비율보다 높거나; 또는
- [0279] (ii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율(2DS5/2DL5 비율)이 기준 2DS5/2DL5 비율보다 높다.
- [0280] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 발현 수준 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하고, 이때
- [0281] (i) 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율은 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높거나; 또는
- [0282] (ii) 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율은 기준 2DS5/2DL5 비율보다 높으며; 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0283] 일부 실시형태에서, 본 발명은 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 발현 수준 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하고, 이때 만일
- [0284] (i) 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율이 기준 2DS2/2DL2 비율보다 높거나; 또는
- [0285] (ii) 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율이 기준 2DS5/2DL5 비율보다 높으면 암 환자가 FTI 치료를 위해 선별되며; 그리고 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다.
- [0286] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율은 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율은 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율은 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높고, 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율은 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높다.
- [0287] 일부 실시형태에서, FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하기 위한 본 발명에서 제공되는 방법은 또한 개별 바이오마커의 발현 수준과 바이오마커 사이의 발현 수준의 비율 둘 모두에 기초할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율은 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높고, 개체 또는 암 환자는 바이오마커의 개별 발현 수준에 관하여 상기에 개시한 5가지 조건 중 적어도 하나를 충족한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율은 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높고, 개체 또는 암 환자는 바이오마커의 개별 발현 수준에 관하여 상기에 개시한 5가지 조건 중 적어도 하나를 충족한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선

별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율은 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높고, 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율은 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높으며, 개체 또는 암 환자는 바이오마커의 개별 발현 수준에 관하여 상기에 개시한 5가지 조건 중 적어도 하나를 충족한다.

[0288] 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 전체 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5A의 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5B의 발현 수준이다. 따라서, 일부 실시형태에서, 2DS5/2DL5 비율은 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 전체 발현 수준의 비율이다. 일부 실시형태에서, 2DS5/2DL5 비율은 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5A의 발현 수준의 비율이다. 일부 실시형태에서, 2DS5/2DL5 비율은 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5B의 발현 수준의 비율이다.

[0289] 반복하면, 단일 바이오마커의 발현 수준에 기초하여 FTI 치료를 위한 개체 또는 암 환자를 선별하기 위한 5가지 조건은 하기를 포함한다: 조건 1: 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준 보다 높다; 조건 2: 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준 보다 높다; 조건 3: 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준 보다 낮다; 조건 4: 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준 보다 낮다; 조건 5: 개체 또는 암 환자의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준 보다 높다. 이들 조건의 임의의 조합 또는 순열이 FTI 치료를 위한 환자 선별의 기준으로서 발현 비율(2DS2/2DL2 비율 및 2DS5/2DL5 비율)에 기초한 기준 중 하나 또는 둘 모두와 추가로 조합되어 사용될 수 있다.

[0290] 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율은 기준 2DS2/2DL2 비율보다 높고, 개체의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준은 GZMM의 기준 발현 수준보다 높다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 것을 포함하며, 이때 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율은 기준 2DS5/2DL5 비율보다 높고, 개체의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준은 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높다. 당업자는 본 발명의 범위가 이들 예시적인 조합에 제한되지 않으며 본 명세서에 개시된 FTI 치료를 위한 환자 선별의 개별 기준의 임의의 조합 또는 순열을 포함함을 이해할 것이다.

[0291] 본 명세서에서 개시된 대로, KIR 유전형, HLA 유전형 및 일부 NK 세포 관련 유전자의 발현 프로파일은 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위하여 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법, 또는 환자를 먼저 KIR 타이핑하거나 본 명세서에서 동정된 바이오마커의 발현 프로파일을 결정하여 환자가 치료에 반응할 가능성이 있는지 여부를 평가하는 것을 포함하는, FTI로 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 본 방법은 환자를 HLA 타이핑하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 당업자는 이들 방법이 FTI 치료를 위한 환자 선별 기준으로서 독립적으로 이용될 수 있음을 이해할 것이다. 부가적으로, 본 방법은 또한 FTI 치료에 대한 환자 개체군의 반응률을 더 증가시키기 위하여 다른 환자 계층화 방법과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 ras 유전자의 돌연변이 상태를 결정하고 환자가 하기에서 더 상세히 개시되는 바처럼 K-ras 돌연변이, N-ras 돌연변이, 또는 H-ras 돌연변이와 같은 특정 ras 돌연변이를 가질 경우 FTI 치료를 위하여 환자를 선별하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 ras 유전자의 돌연변이 상태를 결정하고 환자가 야생형 K-ras 및 야생형 N-ras를 가질 때 FTI 치료를 위하여 환자를 선별하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 ras 유전자의 돌연변이 상태를 결정하고 환자가 H-ras 돌연변이를 가질 때 FTI 치료를 위하여 환자를 선별하는 것을 추가로 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 FTI 치료를 위한 추가의 환자 선별 기준으로서 RASGRP1과 APTX 사이의 2 유전자 비율을 이용하는 것을 추가로 포함할 수 있다(그 전체가 참고로 본원에 포함되는 미국 특허 7,932,036호). 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 방법이 ras 유전자의 돌연변이 상태 또는 RASGRP1 또는 APTX와 같은 다른 바이오마커의 발현을 결정하기 위하여 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, H-ras와 같은 ras 유전자의 돌연변이 상태는 NGS에 의해 결정될 수 있다.

[0292] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 바이오마커의 발현 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 발현 수준은 바이오마커의 단백질 수준일 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 발현 수준은 바이오마커의 RNA 수준일 수 있다. 본 명세서에서 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진, 유전자의 단백질 수준 또는 RNA 수준을 결정하는 임의의 방법이 본 발명에서 바이오마커의 발현 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다.

- [0293] mRNA 수준을 검출하거나 정량하는 예시적인 방법은 PCR-기반 방법, 노던 블롯, 리보뉴클레아제 보호 분석 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. mRNA 서열(예를 들어, CRBN 또는 CAP와 같은 바이오마커의 mRNA 또는 그 단편)은 적어도 부분적으로 상보성인 프로브를 제조하기 위해 사용될 수 있다. 프로브는 이어서 PCR-기반 방법, 노던 블롯팅, 덤스틱 분석 등과 같은 임의의 적절한 분석을 이용하여 샘플에서 mRNA 서열을 검출하기 위해 이용될 수 있다.
- [0294] 샘플 내의 mRNA 발현의 정량을 위해 본 기술분야에 알려진 일반적으로 사용되는 방법은 노던 블롯팅 및 인 시추 하이브리드화(Parker & Barnes, *Methods in Molecular Biology* 106:247-283 (1999)); RNase 보호 분석(Hod, *Biotechniques* 13:852-854 (1992)); 및 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)(Weis et al., *Trends in Genetics* 8:263-264 (1992))을 포함한다. 대안적으로, DNA 듀플렉스, RNA 듀플렉스 및 DNA-RNA 하이브리드 듀플렉스 또는 DNA-단백질 듀플렉스를 비롯한 특정 듀플렉스를 인식할 수 있는 항체가 이용될 수 있다. 시퀀싱-기반 유전자 발현 분석을 위한 대표적인 방법은 유전자 발현의 연속 분석(SAGE), 및 대량 병렬 시그니처 시퀀싱(massively parallel signature sequencing)(MPSS)에 의한 유전자 발현 분석을 포함한다.
- [0295] 민감하고 유연한 정량 방법은 PCR이다. PCR 방법의 예는 문헌에서 찾을 수 있다. PCR 분석의 예는 그 전체가 참고로 본원에 포함되는 미국 특허 6,927,024호에서 찾을 수 있다. RT-PCR 방법의 예는 그 전체가 참고로 본원에 포함되는 미국 특허 7,122,799호에서 찾을 수 있다. 형광 인 시추 PCR 방법은 그 전체가 참고로 본원에 포함되는 미국 특허 7,186,507호에서 찾을 수 있다.
- [0296] 하지만, 다른 핵산 증폭 프로토콜(즉, PCR 외)이 또한 본 명세서에 개시된 핵산 분석 방법에서 사용될 수 있음이 주목된다. 예를 들어, 적합한 증폭 방법은 리가제 연쇄 반응(예를 들어, Wu & Wallace, *Genomics* 4:560-569, 1988 참고); 쇠 치환 분석(strand displacement assay)(예를 들어, Walker et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:392-396, 1992; 미국 특허 5,455,166호 참고); 및 미국 특허 5,437,990호; 5,409,818호; 및 5,399,491호에 개시된 방법을 비롯한 여러가지 전사-기반 증폭 시스템; 전사 증폭 시스템(TAS)(Kwoh et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 1173-1177, 1989); 및 자가-지속 서열 복제(3SR)(Guatelli et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 1874-1878, 1990; WO 92/08800호)를 포함한다. 대안적으로, Q-레플리카제 증폭(Kramer & Lizardi, *Nature* 339:401-402, 1989; Lomeli et al., *Clin. Chem.* 35: 1826-1831, 1989)과 같은 프로브를 검출가능한 수준으로 증폭시키는 방법이 이용될 수 있다. 공지된 증폭 방법의 리뷰는 예를 들어, *Current Opinion in Biotechnology* 4:41-47 (1993)에서 에이브람슨(Abramson) 및 메이어스(Myers)에 의해 제공된다.
- [0297] mRNA는 출발 조직 샘플로부터 분리될 수 있다. mRNA 추출을 위한 일반적인 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 Ausubel et al., *Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley and Sons (1997)을 비롯한 분자 생물학 표준 교과서에 개시된다. 구체적으로, RNA 분리는 제조사의 설명서에 따라, 퀴아젠(Qiagen)과 같은 상업적 제조사로부터의 정제 키트, 버퍼 세트 및 프로테아제를 이용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 배양액 중의 세포로부터의 총 RNA는 퀴아젠 RNeasy 미니-컬럼을 이용하여 분리될 수 있다. 다른 시판되는 RNA 분리 키트는 마스터퓨어(MASTERPURE)® 완전(Complete) DNA 및 RNA 정제 키트(에피센트레(EPICENTRE)®, 위스콘신주 매디슨), 및 파라핀 블록(paraffin block) RNA 분리 키트(엠비온, 인크.(Ambion, Inc.))를 포함한다. 조직 샘플로부터의 총 RNA는 RNA Stat-60(텔-테스트(Tel-Test))을 이용하여 분리될 수 있다. 종양으로부터 준비된 RNA는 예를 들어, 세슘 클로라이드 밀도 구배 원심분리에 의해 분리될 수 있다.
- [0298] 일부 실시형태에서, PCR에 의한 유전자 발현 프로파일링에서 첫번째 단계는 RNA 주형의 cDNA로의 역전사이며, 이어서 PCR 반응에서의 지수적 증폭이 이루어진다. 다른 실시형태에서, 조합된 역-전사-폴리머라제 연쇄 반응(RT-PCR) 반응이 예를 들어, 미국 특허 5,310,652호; 5,322,770호; 5,561,058호; 5,641,864호; 및 5,693,517호에 개시된 대로 이용될 수 있다. 두 가지 일반적으로 사용되는 역전사효소는 아빌로 미엘로블라스토시스 바이러스(avilo myeloblastosis virus) 역전사효소(AMV-RT) 및 몰로니 쥐과 백혈병 바이러스(Moloney murine leukemia virus) 역전사효소(MMLV-RT)이다. 역전사 단계는 전형적으로 환경 및 발현 프로파일링의 목w적에 따라, 특이적 프라이머, 무작위 핵사머, 또는 올리고-dT 프라이머를 이용하여 프라이밍된다. 예를 들어, 추출된 RNA는 제조사의 설명서에 따라 진앰프(GENEAMP)™ RNA PCR 키트(펄킨 엘머(Perkin Elmer), 미국 캘리포니아주)를 이용하여 역전사될 수 있다. 그 후 유도된 cDNA는 후속 PCR 반응에서 주형으로 사용될 수 있다.
- [0299] 일부 실시형태에서, 실시간 역전사-PCR(qRT-PCR)이 RNA 표적의 검출과 정량 둘 모두를 위하여 사용될 수 있다 (Bustin, et al., 2005, *Clin. Sci.*, 109:365-379). qRT-PCR-기반 방법의 예는 예를 들어, 그 전체가 참고로 본원에 포함되는 미국 특허 7,101,663호에서 찾을 수 있다. 어플라이드 바이오시스템즈 7500과 같은 실시간 PCR

을 위한 장비는 시판되며, 택맨 서열 검출 화학과 같은 시약도 그러하다.

- [0300] 예를 들어, 택맨[®] 유전자 발현 분석이 제조사의 설명서에 따라 이용될 수 있다. 이들 키트는 인간, 마우스 및 래트 mRNA 전사물의 신속하고 신뢰할 수 있는 검출 및 정량을 위한 사전-조제된 유전자 발현 분석이다. 미국 특허 5,210,015호; 5,487,972호; 및 5,804,375호; 및 Holland et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7276-7280에 개시된 대로, 택맨[®] 또는 5'-뉴클레아제 분석이 이용될 수 있다. 택맨[®] PCR은 그의 표적 앰플리콘에 결합된 하이브리드화 프로브를 가수분해하기 위하여 Taq 또는 Tth 폴리머라제의 5'-뉴클레아제 활성을 전형적으로 이용하지만, 동등한 5' 뉴클레아제 활성을 가진 임의의 효소가 이용될 수 있다. 2개의 올리고뉴클레오티드 프라이머가 PCR 반응의 전형적인 앰플리콘을 생성하기 위해 이용된다. 세번째 올리고뉴클레오티드, 즉 프로브는 두 PCR 프라이머 사이에 위치한 뉴클레오티드 서열을 검출하도록 설계된다. 프로브는 Taq DNA 폴리머라제 효소에 의해 연장가능하지 않으며, 리포터 형광 염료 및 켄칭 형광 염료로 라벨링된다. 리포터 염료로부터의 임의의 레이저-유도된 방출은 두 염료가 그들이 프로브 상에 있는 것처럼 함께 가까이 위치될 경우 켄칭 염료에 의해 중단된다. 증폭 반응 동안, Taq DNA 폴리머라제 효소는 주형-의존 방식으로 프로브를 절단한다. 생성되는 프로브 단편은 용액에서 해리하고, 방출된 리포터 염료로부터의 시그널은 두번째 형광단의 켄칭 효과로부터 자유롭다. 합성되는 각 새 분자에 대해 리포터 염료 한 분자가 방출되며, 켄칭되지 않은 리포터 염료의 검출은 데이터의 정량적 해석을 위한 기초를 제공한다.
- [0301] 분해 생성물을 검출하기에 적합한 임의의 방법이 5' 뉴클레아제 분석에서 이용될 수 있다. 종종, 검출 프로브는 두 가지 형광 염료로 라벨링되며, 그 중 하나는 다른 염료의 형광을 켄칭할 수 있다. 염료는 프로브에 부착되며, 바람직하게는 하나는 5' 말단에 부착되고 다른 하나는 내부 부위에 부착되어, 프로브가 비하이브리드화 상태에 있을 경우 켄칭이 발생하도록 하고 DNA 폴리머라제의 5'에서 3'으로의 엑소뉴클레아제 활성에 의한 프로브의 절단이 두 염료 사이에서 일어나도록 한다.
- [0302] 증폭은 켄칭의 제거와 함께 염료 사이의 프로브의 절단을 야기하며 처음에 켄칭된 염료로부터 관찰가능한 형광의 증가를 야기한다. 분해 생성물의 축적은 반응 형광의 증가를 측정하여 모니터링된다. 둘 모두 참고로 본원에 포함되는 미국 특허 5,491,063호 및 5,571,673호는 증폭에 수반되어 발생하는 프로브의 분해를 검출하는 대안적 방법을 개시한다. 5'-뉴클레아제 분석 데이터는 처음에는 Ct, 즉 역치 사이클로서 표현될 수 있다. 상기에 토의된 바처럼, 형광 값이 모든 사이클 동안 기록되며 증폭 반응에서 그 지점까지 증폭된 생성물의 양을 나타낸다. 형광 시그널이 통계적으로 유의한 것으로 처음 기록되는 지점이 역치 사이클(Ct)이다.
- [0303] 오차 및 샘플-대-샘플 변화의 효과를 최소화하기 위하여, PCR은 보통 내부 표준을 이용하여 수행된다. 이상적인 내부 표준은 상이한 조직 간에 일정한 수준으로 발현되며, 실험 처리에 의해 영향을 받지 않는다. 유전자 발현 패턴을 정규화하기 위해 가장 자주 사용되는 RNA는 하우스키핑 유전자 글리세르알데히드-3-포스페이트-데하이드로게나제(GAPDH) 및 P-액틴을 위한 mRNA이다.
- [0304] PCR 프라이머와 프로브는 증폭될 유전자에 존재하는 인트론 서열에 기초하여 설계된다. 이 실시형태에서, 프라이머/프로브 설계에서 첫 번째 단계는 유전자 내의 인트론 서열의 윤곽그리기이다. 이것은 Kent, W., Genome Res. 12(4):656-64 (2002)에 의해 개발된 DNA BLAT 소프트웨어와 같은 공중이 이용가능한 소프트웨어에 의해, 또는 그의 변형을 비롯한 BLAST 소프트웨어에 의해 이루어질 수 있다. 후속 단계는 잘 확립된 PCR 프라이머 및 프로브 설계 방법을 따른다.
- [0305] 비-특이적 시그널을 피하기 위하여, 프라이머와 프로브를 설계할 때 인트론 내의 반복 서열을 마스킹하는 것이 중요할 수 있다. 이것은 베일러 의과대학(Baylor College of Medicine)을 통해 온라인으로 이용가능한 반복 마스커(Repeat Masker) 프로그램을 이용하여 쉽게 이루어질 수 있으며, 이 프로그램은 반복 요소 라이브러리에 대해 DNA 서열을 스크린하고 반복 요소가 마스킹된 문의 서열을 돌려보낸다. 마스킹된 인트론 서열은 이어서 프라이머 익스프레스(Primer Express)(어플라이드 바이오시스템즈); MGB 설계에 의한 분석(MGB assay-by-design)(어플라이드 바이오시스템즈); Primer3(Rozen and Skaletsky (2000) Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S, Misener S (eds) Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. Humana Press, Totowa, N.J., pp 365-386)와 같은, 임의의 시판되는 또는 다르게는 공중이 이용가능한 프라이머/프로브 설계 패키지를 이용하여 프라이머와 프로브 서열을 설계하기 위해 이용될 수 있다.
- [0306] PCR 프라이머 설계에서 고려되는 인자는 프라이머 길이, 용융점(Tm), 및 G/C 함량, 특이성, 상보성 프라이머 서열 및 3'-말단 서열을 포함한다. 일반적으로, 적절한 PCR 프라이머는 17-30 염기 길이이며, 예를 들어, 약 50-60% G+C 염기와 같이, 약 20-80% G+C 염기를 함유한다. Tm은 50 내지 80°C, 예를 들어, 약 50 내지 70°C가 전

형적으로 바람직하다. PCR 프라이머 및 프로브 설계를 위한 추가의 가이드라인을 위해서는, 예를 들어, Dieffenbach et al., "General Concepts for PCR Primer Design" in: PCR Primer, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1995, pp. 133-155; Innis and Gelfand, "Optimization of PCRs" in: PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, CRC Press, London, 1994, pp. 5-11; 및 Plasterer, T. N. Primerselct: Primer and probe design. Methods Mol. Biol. 70:520- 527 (1997)를 참고하며, 그 전체 내용은 참고로 본원에 명백하게 포함된다.

[0307] 예시적인 PCR 프로그램은 예를 들어, 2분 동안 50°C, 10분 동안 95°C, 15초 동안 95°C의 40 사이클, 및 이어서 1분 동안 60°C이다. 특정 애플리콘 축적과 관련된 형광 시그널이 역치(CT로 칭함)를 넘는 사이클 수를 결정하기 위하여, 예를 들어, 비교 CT 상대적 정량 계산법을 이용하는 7500 실시간 PCR 시스템 서열 검출 소프트웨어 v1.3을 이용하여, 데이터를 분석할 수 있다. 이 방법을 이용하여, 산출물은 발현 수준의 배수-변화로써 표현된다. 일부 실시형태에서, 역치 수준은 소프트웨어에 의해 자동적으로 결정되도록 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 역치 수준은 기준선 보다 높지만 증폭 곡선의 지수 성장 영역 내에 있을만큼 충분히 낮도록 설정된다.

[0308] 전체 전사체 샷건 시퀀싱(Whole Transcriptome Shotgun Sequencing)(WTSS)으로도 불리는 RNA-Seq는 샘플의 RNA 내용에 대한 정보를 얻기 위하여 cDNA를 시퀀싱하기 위해 고처리 시퀀싱 기술을 이용하는 것을 말한다. RNA-Seq를 개시하는 간행물은 Wang et al., Nature Reviews Genetics 10 (1): 57-63 (January 2009); Ryan et al. BioTechniques 45 (1): 81-94 (2008); 및 Maher et al., Nature 458 (7234): 97-101 (January 2009)를 포함하며 이들은 그 전체가 본원에 포함된다.

[0309] 차이나는 유전자 발현은 또한 마이크로어레이 기술을 이용하여 동정되거나 확인될 수 있다. 이 방법에서는, 관심 폴리뉴클레오티드 서열(cDNA 및 올리고뉴클레오티드 포함)이 마이크로칩 기판 상에 플레이팅되거나 배열된다. 배열된 서열은 이어서 관심 세포 또는 조직으로부터의 특이적 DNA 프로브와 하이브리드화된다.

[0310] 마이크로어레이 기술의 실시형태에서, cDNA 클론의 PCR 증폭된 삽입체가 조밀 배열로 기판에 적용된다. 바람직하게는 적어도 10,000 뉴클레오티드 서열이 기판에 적용된다. 각각 10,000 요소로 마이크로칩 상에 고정된 미세 배열된 유전자가 엄격한 조건하에서의 하이브리드화를 위해 적합하다. 형광 라벨링된 cDNA 프로브는 관심 조직으로부터 추출된 RNA의 역전사에 의해 형광 뉴클레오티드의 통합을 통해 생성될 수 있다. 칩에 적용된 라벨링된 cDNA 프로브는 어레이 상의 DNA의 각 스팟에 특이성을 가지고 하이브리드화한다. 비특이적으로 결합된 프로브를 제거하기 위한 엄격한 세척 후, 칩은 공초점 레이저 현미경에 의해 또는 CCD 카메라와 같은 다른 검출 방법에 의해 스캔된다. 각각의 배열된 요소의 하이브리드화의 정량은 상응하는 mRNA 존재비(abundance)의 평가를 허용한다. 이중 색상 형광을 이용하여, 두 가지 RNA 공급원으로부터 생성된 별도로 라벨링된 cDNA 프로브는 어레이에 쌍으로 하이브리드화된다. 각각의 특정 유전자에 상응하는 두 공급원으로부터의 전사물의 상대적 존재비가 따라서 동시에 결정된다. 하이브리드화의 축소된 크기는 많은 수의 유전자를 위한 발현 패턴의 편리하고 신속한 평가를 허용한다. 그러한 방법은 세포 당 몇 카피로 발현되는 희소 전사물을 검출하는데 필요한 민감성을 가지며 발현 수준에서 적어도 대략 2배 차이를 재현성있게 검출하는 것으로 나타났다(Schena et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(2): 106-149 (1996)). 마이크로어레이 분석은 아피메트릭스 젠칩(Affymetrix GENCHIP)TM 기술 또는 인사이트(Incyte)의 마이크로어레이 기술을 이용하는 것과 같이, 제조사의 프로토콜을 따라 시판 장비에 의해 수행될 수 있다.

[0311] 유전자 발현의 연속 분석(SAGE)은 각 전사물을 위한 개별 하이브리드화 프로브를 제공할 필요없이, 많은 유전자 전사물의 동시 정량 분석을 허용하는 방법이다. 먼저, 태그가 각 전사물 내의 유일한 위치로부터 수득되기만 한다면, 전사물을 독특하게 동정하기에 충분한 정보를 함유하는 짧은 서열 태그(약 10-14 bp)가 생성된다. 그 후, 많은 전사물이 시퀀싱될 수 있는 긴 연속 분자를 형성하기 위해 함께 연결되어, 다수의 태그의 실체를 동시에 밝힌다. 임의의 전사물 집단의 발현 패턴은 개별 태그의 존재비를 결정하고 각 태그에 상응하는 유전자를 동정함으로써 정량적으로 평가될 수 있다. 보다 상세한 사항을 위하여, 예를 들어, Velculescu et al., Science 270:484- 487 (1995); 및 Velculescu et al., Cell 88:243-51 (1997)를 참고한다.

[0312] 매스어레이(시퀀놈, 캘리포니아주 샌디에고) 기술은 검출을 위하여 질량 분석법(MS)을 이용하는 유전자 발현 분석의 자동화 고처리 방법이다. 이 방법에 따라, RNA의 분리, 역전사 및 PCR 증폭에 이어, cDNA는 프라이머 연장된다. cDNA-유래 프라이머 연장 생성물은 정제되고, MALDI-TOF MS 샘플 제조를 위해 필요한 성분들로 사전-로딩되는 칩 어레이 상에 분배된다. 반응에 존재하는 다양한 cDNA는 수득된 질량 스펙트럼에서 피크 영역을 분석함으로써 정량된다.

[0313] mRNA 수준은 또한 하이브리드화에 기초한 분석에 의해 측정될 수 있다. 전형적인 mRNA 분석 방법은 1) 표면-결

합된 개체 프로브를 수득하는 단계; 2) 특이적 결합을 제공하기에 충분한 조건하에서 표면-결합된 프로브에의 mRNA 집단의 하이브리드화 단계, 3) 하이브리드화에서 결합되지 않은 핵산을 제거하기 위한 하이브리드화후 세척 단계; 및 4) 하이브리드화된 mRNA의 검출 단계를 함유할 수 있다. 이들 단계의 각각에서 사용되는 시약 및 그들의 사용 조건은 구체적인 응용에 따라 변할 수 있다.

[0314] 임의의 적합한 분석 플랫폼이 샘플 내의 mRNA 수준을 결정하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 분석은 덤스틱, 막, 칩, 디스크, 시험 스트립, 필터, 미소구체, 슬라이드, 다중웰 플레이트 또는 광학 섬유 형태일 수 있다. 분석 시스템은 mRNA에 상응하는 핵산이 부착되는 고체 지지체를 가질 수 있다. 고체 지지체는 예를 들어, 플라스틱, 규소, 금속, 수지, 유리, 막, 입자, 침전물, 젤, 중합체, 시트, 구체, 다당류, 모세관, 필름, 플레이트 또는 슬라이드를 가질 수 있다. 분석 성분은 mRNA를 검출하기 위한 키트로서 제조되고 함께 포장될 수 있다.

[0315] 원한다면, 핵산은 라벨링된 mRNA 집단을 만들기 위하여 라벨링될 수 있다. 일반적으로, 샘플은 본 기술 분야에 잘 알려진 방법을 이용하여 라벨링될 수 있다(예를 들어, DNA 리가제, 말단 트랜스피라제를 이용하여, 또는 RNA 백본을 라벨링시켜서, 등; 예를 들어, Ausubel, *et al.*, *Short Protocols in Molecular Biology*, 3rd ed., Wiley & Sons 1995 및 Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Third Edition, 2001 Cold Spring Harbor, N.Y. 참고). 일부 실시형태에서, 샘플은 형광 라벨로 라벨링된다. 예시적인 형광 염료는 잔틴 염료, 플루오르세인 염료, 로다민 염료, 플루오르세인 이소티오시아네이트(FITC), 6 카르복시플루오르세인 (FAM), 6 카르복시-2',4',7',4,7-헥사클로로플루오르세인(HEX), 6 카르복시 4', 5' 디클로로 2', 7' 디메톡시플루오르세인(JOE 또는 J), N,N,N',N' 테트라메틸 6 카르복시로다민(TAMRA 또는 T), 6 카르복시 X 로다민(ROX 또는 R), 5 카르복시로다민 6G (R6G5 또는 G5), 6 카르복시로다민 6G(R6G6 또는 G6), 및 로다민 110; 시아닌 염료, 예를 들어, Cy3, Cy5 및 Cy7 염료; 알렉사(Alexa) 염료, 예를 들어, 알렉사-플루오르-555; 쿠마린, 디에틸아미노쿠마린, 움벨리페론; 벤즈이미드 염료, 예를 들어, 핵스트(Hoechst) 33258; 페난트리딘 염료, 예를 들어, 텍사스 레드(Texas Red); 에티뒀 염료; 아크리딘 염료; 카르바졸 염료; 페녹사진 염료; 포르피린 염료; 폴리메틴 염료, 보디피(BODIPY) 염료, 퀴놀린 염료, 파이렌(Pyrene), 플루오르세인 클로로트리아지닐(Fluorescein Chlorotriazinyl), R110, 에오신(Eosin), 조(JOE), R6G, 테트라메틸로다민, 리사민(Lissamine), ROX, 나프토플루오르세인 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0316] 하이브리드화는 필요에 따라 엄격도가 변할 수 있는 적합한 하이브리드화 조건하에서 수행될 수 있다. 전형적인 조건은 상보성 결합 구성원 사이, 즉, 표면-결합된 개체 프로브와 샘플 내의 상보성 mRNA 사이에서 고체 표면상의 프로브/표적 복합체를 생성하기에 충분하다. 일부 실시형태에서, 엄격한 하이브리드화 조건이 이용될 수 있다.

[0317] 하이브리드화는 전형적으로 엄격한 하이브리드화 조건하에서 수행된다. (예를 들어, 샘플 내의 표적 mRNA의 프로브에의 특이적 결합을 제공하기에 충분한 조건하의) 표준 하이브리드화 기술은 Kallioniemi *et al.*, *Science* 258:818-821 (1992) 및 WO 93/18186호에 개시된다. 일반적인 기술에 대한 여러 가이드가 이용가능하며, 예를 들어, Tijssen, *Hybridization with Nucleic Acid Probes*, Parts I and II (Elsevier, Amsterdam 1993)가 있다. 인 시추 하이브리드화를 위해 적합한 기술의 설명을 위해서는, Gall *et al. Meth. Enzymol.*, 21:470-480 (1981); 및 Angerer *et al. in Genetic Engineering: Principles and Methods* (Setlow and Hollaender, Eds.) Vol 7, pgs 43-65 (Plenum Press, New York 1985)를 참고한다. 온도, 염 농도, 폴리뉴클레오티드 농도, 하이브리드화 시간, 세척 조건의 엄격도 등을 비롯한 적절한 조건의 선택은 샘플 공급원, 포획 체제의 실제, 예상되는 상보성 정도 등을 비롯한 실험 설계에 의존할 것이며, 당업자에게 일상적인 실험 문제로서 결정될 수 있다. 당업자는 대안적이지만 견줄만한 하이브리드화 및 세척 조건이 유사한 엄격도의 조건을 제공하기 위해 이용될 수 있음을 쉽게 인식할 것이다.

[0318] mRNA 하이브리드화 절차에 따라, 표면 결합된 폴리뉴클레오티드는 전형적으로는 미결합 핵산을 제거하기 위하여 세척된다. 세척은 임의의 편리한 세척 프로토콜을 이용하여 수행될 수 있으며, 세척 조건은 전형적으로 상기한 대로 엄격하다. 프로브에의 표적 mRNA의 하이브리드화가 이어서 표준 기술을 이용하여 검출된다.

[0319] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 방법 중 하나를 이용하여 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 바이오마커의 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 방법은 개체의 샘플로부터 KIR2DS2 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 방법은 개체의 샘플로부터 KIR2DL2 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 방법은 개체의 샘플로부터 KIR2DS5 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 방법은 개체의 샘플로부터 KIR2DL5 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시

형태에서, 본 방법은 개체의 샘플로부터 GZMM mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다.

- [0320] 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 mRNA 수준은 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 총 mRNA 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 mRNA 수준은 KIR2DL5A의 mRNA 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 mRNA 수준은 KIR2DL5B의 mRNA 수준이다.
- [0321] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 둘 이상의 바이오마커의 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 이들 바이오마커 중 셋 이상의 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 이들 바이오마커 중 넷 이상의 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 이들 5가지 바이오마커 전부의 mRNA 수준을 결정하는 것을 포함한다.
- [0322] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 개체 또는 암 환자로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 mRNA 수준을 결정하고, KIR2DS2의 mRNA 수준 대 KIR2DL2의 mRNA 수준의 비율(2DS2/2DL2 mRNA 비율)을 계산하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 추가로 개체 또는 암 환자로부터의 샘플에서 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 mRNA 수준을 결정하고, KIR2DS5의 mRNA 수준 대 KIR2DL5의 mRNA 수준의 비율(2DS5/2DL5 mRNA 비율)을 계산하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 개체 또는 암 환자로부터의 샘플에서 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 mRNA 수준 및 개체 또는 암 환자로부터의 샘플에서 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 mRNA 수준을 결정하고, 2DS2/2DL2 mRNA 비율 및 2DS5/2DL5 mRNA 비율 둘 모두를 계산하는 것을 포함한다.
- [0323] 일부 실시형태에서, KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 mRNA 수준은 qPCR, RT-PCR, RNA-seq, 마이크로어레이 분석, SAGE, 매스어레이 기술, 또는 FISH에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 mRNA 수준은 qPCR, 또는 RT-PCR에 의해 결정된다.
- [0324] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 바이오마커의 단백질 수준은 다양한 면역조직화학(IHC) 방법 또는 다른 면역분석 방법에 의해 검출될 수 있다.
- [0325] 조직 섹션의 IHC 염색은 샘플 내의 단백질의 존재를 평가하거나 검출하는 신뢰할만한 방법인 것으로 나타났다. 면역조직화학 기술은 프로브에 대한 항체를 이용하고 일반적으로 발색 또는 형광 방법에 의해 인 시추로 세포 항원을 가시화한다. 따라서, 각 마커에 대해 특이적인 항체 또는 항혈청, 바람직하게는 다클론 항혈청, 그리고 가장 바람직하게는 단클론 항체가 발현을 검출하기 위하여 이용된다. 하기에서 보다 상세히 토의되는 것처럼, 항체는 예를 들어, 방사성 라벨, 형광 라벨, 합텐 라벨, 예를 들어, 비오틴, 또는 호스래디쉬 퍼옥시다제 또는 알카라인 포스파타제와 같은 효소를 이용하여 항체 그 자체를 직접 라벨링함으로써 검출될 수 있다. 대안적으로, 비라벨링된 일차 항체는 일차 항체에 대해 특이적인 항혈청, 다클론 항혈청 또는 단클론 항체를 포함하는 라벨링된 이차 항체와 함께 이용된다. 면역조직화학 프로토콜 및 키트는 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 시판된다. 슬라이드 제조 및 IHC 프로세싱을 위한 자동화 시스템이 시판된다. 벤타나(Ventana)® 벤치마크(BenchMark) XT 시스템이 그러한 자동화 시스템의 예이다.
- [0326] 표준 면역학적 및 면역분석 절차는 *Basic and Clinical Immunology* (Stites & Terr eds., 7th ed. 1991)에서 찾을 수 있다. 또한, 면역분석은 *Enzyme Immunoassay* (Maggio, ed., 1980); 및 상기의 Harlow & Lane에서 광범위하게 검토되는, 여러 형태 중 어느 것으로 수행될 수 있다. 일반적 면역분석의 리뷰를 위해서는, 또한 *Methods in Cell Biology: Antibodies in Cell Biology*, volume 37 (Asai, ed. 1993); *Basic and Clinical Immunology* (Stites & Ten, eds., 7th ed. 1991)를 참고한다.
- [0327] 바이오마커의 단백질 수준을 검출하기 위하여 일반적으로 이용되는 분석은 비경쟁적 분석, 예를 들어, 샌드위치 분석, 및 경쟁적 분석을 포함한다. 전형적으로, ELISA 분석과 같은 분석이 이용될 수 있다. ELISA 분석은 예를 들어, 혈액, 혈장, 혈청 또는 골수를 비롯한 매우 다양한 조직과 샘플의 분석을 위하여 본 기술분야에서 알려져 있다.
- [0328] 그러한 분석 포맷을 이용하는 광범위한 면역분석 기술이 이용가능하며, 예를 들어, 미국 특허 4,016,043호, 4,424,279호, 및 4,018,653호를 참고하며 이들은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 이들은 비경쟁적 타입의 단일-부위 및 2-부위 또는 "샌드위치" 분석, 및 전통적인 경쟁적 결합 분석 둘 모두를 포함한다. 이들 분석은 또한 표적 바이오마커에의 라벨링된 항체의 직접 결합을 포함한다. 샌드위치 분석이 일반적으로 사용되는 분석이다. 샌드위치 분석 기술의 많은 변형이 존재한다. 예를 들어, 전형적인 진행(forward) 분석에서는, 비라벨링

항체가 고체 기판에 고정되고, 시험될 샘플이 결합된 분자와 접촉된다. 항체-항원 복합체의 형성을 가능하게 하기에 충분한 기간 동안, 적합한 항온처리 기간 후에, 검출가능한 시그널을 생산할 수 있는 리포터 분자로 라벨링된, 항원에 특이적인 이차 항체가 그 후 첨가되고 항체-항원-라벨링된 항체의 다른 복합체의 형성을 위해 충분한 시간을 허용하도록 항온처리된다. 임의의 미반응 물질은 세척하여 제거되고, 항원의 존재는 리포터 분자에 의해 생성된 시그널의 관찰에 의해 결정된다. 결과는 가시적 시그널의 단순 관찰에 의해 정성적일 수 있거나, 공지량의 바이오마커를 함유한 대조 샘플과의 비교에 의해 정량될 수 있다.

[0329] 진행 분석에서의 변화는 샘플과 라벨링된 항체 둘 모두가 결합된 항체에 동시에 첨가되는 동시 분석을 포함한다. 이들 기술은 쉽게 자명할 임의의 사소한 변화를 비롯하여, 당업자에게 잘 알려져 있다. 전형적인 진행 샌드위치 분석에서, 바이오마커에 대한 특이성을 가진 첫 번째 항체는 고체 표면에 공유적으로 또는 수동적으로 결합된다. 고체 표면은 유리 또는 중합체일 수 있으며, 가장 일반적으로 사용되는 중합체는 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드, 또는 폴리프로필렌이다. 고체 지지체는 튜브, 비드, 미세플레이트의 디스크, 또는 면역분석을 수행하기에 적합한 임의의 다른 표면의 형태일 수 있다. 결합 과정은 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 일반적으로 가교 공유 결합 또는 물리적 흡착으로 이루어지며, 중합체-항체 복합체는 시험 샘플을 위한 제조에서 세척된다. 시험될 샘플 분액이 이어서 고체상 복합체에 첨가되고 항체에 존재하는 임의의 서브유닛의 결합을 허용하기에 충분한 시간(예를 들어, 2-40분 또는 더 편하다면 밤새) 그리고 적합한 조건하에서(예를 들어, 실온 내지 40°C, 예를 들어, 25°C 내지 32°C) 항온처리된다. 항온처리 기간 후, 항체 서브유닛 고체상이 세척되고 건조되며 바이오마커의 일부에 대해 특이적인 이차 항체와 항온처리된다. 이차 항체는 분자 마커에의 이차 항체의 결합을 나타내기 위해 사용되는 리포터 분자에 연결된다.

[0330] 일부 실시형태에서, 유세포분석(FACS)은 바이오마커의 단백질 수준을 검출하기 위하여 사용될 수 있다. (KIR과 같은) 표면 단백질은 특정 바이오마커에 대한 항체를 이용하여 검출될 수 있다. 유세포분석기는 형광색소-태그를 가진 항체의 강도를 검출하고 보고하며, 이는 바이오마커의 발현 수준을 나타낸다. 비-형광 세포질 단백질이 또한 투과성이 된 세포를 염색함으로써 관찰될 수 있다. 염색은 일부 분자에 결합할 수 있는 형광 화합물, 또는 선택 분자에 결합하기 위한 형광색소-태그를 가진 항체일 수 있다.

[0331] 대안적인 방법은 샘플 내의 표적 바이오마커를 고정시킨 후 고정된 표적을 리포터 분자로 라벨링되거나 라벨링되지 않을 수 있는 특이적 항체에 노출시키는 것에 관련된다. 표적의 양 및 리포터 분자 시그널의 강도에 따라, 결합된 표적은 항체를 이용한 직접 라벨링에 의해 검출가능할 수 있다. 대안적으로, 1차 항체에 특이적인, 라벨링된 2차 항체가 표적-1차 항체 복합체에 노출되어 표적-1차 항체-2차 항체 삼원 복합체를 형성한다. 이 복합체는 라벨링된 리포터 분자에 의해 방출되는 시그널에 의해 검출된다.

[0332] 효소 면역분석의 경우에는, 효소가 일반적으로 글루타르알데히드 또는 페리오데이트에 의해 2차 항체에 접합된다. 하지만, 쉽게 인식될 것처럼, 당업자에게 쉽게 이용가능한 매우 광범위한 상이한 접합 기술이 존재한다. 일반적으로 이용되는 효소는 호스래디쉬 퍼옥시다제, 글루코스 옥시다제, 베타-갈락토시다제, 및 알카라인 포스파타제를 포함하며, 다른 것들도 본 명세서에서 토의된다. 특정 효소와 사용될 기질은 일반적으로 상응하는 효소에 의한 가수분해시에, 검출가능한 색상 변화를 생산하도록 선택된다. 적합한 효소의 예는 알카라인 포스파타제 및 퍼옥시다제를 포함한다. 상기에 개시한 발색 기질이 아닌 형광 생성물을 생산하는 형광원성 기질을 이용하는 것도 가능하다. 모든 경우에, 효소-라벨링된 항체는 1차 항체-분자 마커 복합체에 첨가되어 결합되며, 그 후 과량의 시약은 세척하여 제거된다. 적절한 기질을 함유한 용액이 그 후 항체-항원-항체의 복합체에 첨가된다. 기질은 2차 항체에 연결된 효소와 반응하여, 정량적인 시각적 시그널을 생성할 것이며, 이는 보통 분광광도법에 의해 추가로 정량되어, 샘플 내에 존재하는 바이오마커의 양의 지표를 제공한다. 다르게는, 플루오르세인과 로다민과 같은 형광 화합물이 항체의 결합 능력의 변경없이 항체에 화학적으로 결합될 수 있다. 특정 파장의 빛으로 조사하여 활성화될 경우, 형광색소-라벨링된 항체는 광 에너지를 흡수하여, 분자에서 상태를 여기로 유도하며, 이어서 광현미경으로 시각적으로 검출가능한 특징적 색상의 빛의 방출이 이어진다. EIA에서처럼, 형광 라벨링된 항체는 1차 항체-분자 마커 복합체에 결합하게 된다. 미결합 시약을 세척하여 제거한 후, 나머지 삼원 복합체는 그 후 적절한 파장의 빛에 노출되고, 관찰된 형광은 관심 분자 마커의 존재를 나타낸다. 면역형광 및 EIA 기술은 본 기술분야에서 둘 모두 잘 확립되어 있으며 본 명세서에서 개시된다.

[0333] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에서 알려진 방법 중 하나를 이용하여 개체 또는 암 환자로부터의 샘플에서 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 바이오마커의 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 방법은 개체 또는 암 환자의 샘플로부터 KIR2DS2 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명 방법은 개체 또는 암 환자의 샘플로부터 KIR2DL2 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실

시형태에서, 본 방법은 개체 또는 암 환자의 샘플로부터 KIR2DS5 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 방법은 개체 또는 암 환자의 샘플로부터 KIR2DL5 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 방법은 개체 또는 암 환자의 샘플로부터 GZMM 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다.

[0334] 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 단백질 수준은 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 전체 단백질 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 단백질 수준은 KIR2DL5A의 단백질 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 단백질 수준은 KIR2DL5B의 단백질 수준이다.

[0335] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 이들 바이오마커 중 둘 이상의 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 이들 바이오마커 중 셋 이상의 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 이들 바이오마커 중 넷 이상의 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 이들 바이오마커 다섯 가지의 단백질 수준을 결정하는 것을 포함한다.

[0336] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 단백질 수준을 결정하고, KIR2DS2의 단백질 수준 대 KIR2DL2의 단백질 수준의 비율(2DS2/2DL2 단백질 비율)을 계산하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 단백질 수준을 결정하고, KIR2DS5의 단백질 수준 대 KIR2DL5의 단백질 수준의 비율(2DS5/2DL5 단백질 비율)을 계산하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 단백질 수준 및 개체 또는 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 단백질 수준을 결정하고, 2DS2/2DL2 단백질 비율 및 2DS5/2DL5 단백질 비율 둘 모두를 계산하는 것을 추가로 포함한다.

[0337] 일부 실시형태에서, KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 단백질 수준은 면역블롯팅(웨스턴 블롯), ELISA, 면역조직화학, 유세포분석, 혈구계산 비드 어레이(cytometric bead array) 또는 질량 분광학에 의해 결정된다. 일부 실시형태에서, KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 바이오마커의 단백질 수준은 ELISA에 의해 결정된다.

[0338] **3.3. 샘플**

[0339] 일부 실시형태에서, KIR 타이핑, HLA 타이핑 방법 또는 하나 이상의 바이오마커의 mRNA 수준 또는 단백질 수준을 결정하는 방법은 개체로부터 샘플을 획득하는 것을 추가로 포함한다. 개체는 포유동물, 예를 들어, 인간일 수 있다. 개체는 남성 또는 여성일 수 있으며, 성인, 아동 또는 유아일 수 있다. 개체는 환자일 수 있다. 환자는 암 환자일 수 있다. 샘플은 암(예를 들어, 림프종, MDS, 또는 백혈병)의 활성 단계동안 한 시점에서, 또는 암이 불활성일 때 분석될 수 있다. 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서, 개체로부터 하나 보다 많은 샘플이 획득될 수 있다.

[0340] 일부 실시형태에서, KIR 타이핑, HLA 타이핑 방법 또는 하나 이상의 바이오마커의 mRNA 수준 또는 단백질 수준을 결정하는 방법은 FTI 치료에 대한 동반 진단으로서 수행된다. 동반 진단은 개체가 치료되는 병원에서 수행될 수 있다. 동반 진단은 또한 개체가 치료되는 병원으로부터 떨어진 곳에서 수행될 수 있다.

[0341] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 개체로부터의 체액을 포함한다. 체액의 비제한적인 예는 혈액(예를 들어, 말초 전혈, 말초 혈액), 혈액 혈장, 골수, 양수, 방수, 담즙, 림프액, 월경, 월경, 소변, 뇌와 척수를 둘러싸는 뇌척수액, 골관절을 둘러싸는 윤활액을 포함한다.

[0342] 일 실시형태에서, 샘플은 골수 샘플이다. 골수 생검 및 골수 흡입을 포함하며 이에 제한되지 않는 골수 샘플을 획득하기 위한 절차는 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 골수는 유체 부분과 보다 고체인 부분을 가진다. 골수 생검에서는 고체 부분의 샘플이 취해진다. 골수 흡입에서는 유체 부분의 샘플이 취해진다. 골수 생검 및 골수 흡입은 동시에 이루어질 수 있으며 골수 검사로 불린다.

[0343] 일부 실시형태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 혈액 샘플은 예를 들어, Innis *et al*, editors, PCR Protocols (Academic Press, 1990)에 개시된 대로 종래 기술을 이용하여 획득될 수 있다. 백혈구는 종래 기술 또는 시판 키트, 예를 들어, 로제트셋(RosetteSep) 키트(스테인 셀 테크놀로지스(Stein Cell Technologies), 캐나다 밴쿠버)를 이용하여 혈액 샘플로부터 분리될 수 있다. 백혈구의 하위-집단, 예를 들어, 단핵세포, NK 세포, B 세포, T 세포, 단핵구, 과립구 또는 림프구는 종래 기술, 예를 들어, 자기적 활성화 세포 분류(MACS)(밀테니 바이오텍(Miltenyi Biotec), 캘리포니아주 오번) 또는 형광 활성화 세포 분류(FACS)(백톤 디킨슨(Becton Dickinson), 캘리포니아주 샌호세)를 이용하여 추가로 분리될 수 있다.

- [0344] 일 실시형태에서, 혈액 샘플은 약 0.1 mL 내지 약 10.0 mL, 약 0.2 mL 내지 약 7 mL, 약 0.3 mL 내지 약 5 mL, 약 0.4 mL 내지 약 3.5 mL, 또는 약 0.5 mL 내지 약 3 mL이다. 다른 실시형태에서, 혈액 샘플은 약 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 또는 10.0 mL이다.
- [0345] 일부 실시형태에서, 본 방법에서 사용되는 샘플은 생검(예를 들어, 종양 생검)을 포함한다. 생검은 임의의 기관 또는 조직, 예를 들어, 피부, 간, 폐, 심장, 결장, 신장, 골수, 치아, 림프절, 모발, 비장, 뇌, 유방, 또는 다른 기관으로부터 올 수 있다. 당업자에게 알려진 임의의 생검 기술이 개체로부터 샘플을 분리하기 위해 이용될 수 있으며, 예를 들어, 개방 생검, 폐쇄 생검(close biopsy), 총 생검(core biopsy), 절개 생검, 절제 생검, 또는 세침흡인생검이 있다.
- [0346] 일 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 개체가 질병 또는 질환을 위한 치료를 받기 전에 개체로부터 획득된다. 다른 실시형태에서, 샘플은 개체가 질병 또는 질환을 위한 치료를 받는 동안 개체로부터 획득된다. 다른 실시형태에서, 샘플은 개체가 질병 또는 질환을 위한 치료를 받은 후 개체로부터 획득된다. 다양한 실시형태에서, 치료는 개체에게 FTI를 투여하는 것을 포함한다.
- [0347] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 복수개의 세포를 포함한다. 그러한 세포는 임의의 타입의 세포, 예를 들어, 줄기 세포, 혈액 세포(예를 들어, PBMC), 림프구, NK 세포, B 세포, T 세포, 단핵구, 과립구, 면역 세포 또는 종양 또는 암 세포를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 개체 또는 암 환자의 혈액 샘플 또는 골수 샘플로부터의 복수개의 농축 NK 세포를 포함한다. 구체적 세포 집단은 시판되는 항체의 조합을 이용하여 획득될 수 있다(예를 들어, 퀘스트 다이아그노스틱(Quest Diagnostic)(캘리포니아주 샌 후안 카피스트라노); 다코(Dako)(덴마크)).
- [0348] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 질병 조직으로부터 오며, 예를 들어, 암(예를 들어, 림프종, MDS 또는 백혈병)을 가진 개인으로부터 온다. 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서, 세포는 종양 생검 또는 종양 외식편과 같은, 종양 또는 암세포 또는 종양 조직으로부터 획득될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 세포의 수는 단일 세포 내지 약 10^9 세포 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 세포의 수는 약 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 또는 5×10^8 이다.
- [0349] 개체로부터 수집된 세포의 수와 타입은 예를 들어, 유세포분석, 세포 분류, 면역세포화학(예를 들어, 조직 특이적 또는 세포-마커 특이적 항체를 이용한 염색), 형광 활성화 세포 분류(FACS), 자기 활성화 세포 분류(MACS)와 같은 표준 세포 검출 기술을 이용한 형태 변화 및 세포 표면 마커 측정에 의해, 광 또는 공초점 현미경을 이용한 세포 형태 검사에 의해, 및/또는 PCR 및 유전자 발현 프로파일링과 같은 본 기술분야에 잘 알려진 기술을 이용한 유전자 발현 변화 측정에 의해, 모니터링될 수 있다. 이들 기술은 또한 하나 이상의 특정 마커에 대해 양성인 세포를 동정하기 위해 이용될 수 있다. 형광 활성화 세포 분류(FACS)는 입자의 형광 특성에 기초하여, 세포를 비롯한 입자를 분리하는 잘 알려진 방법이다(Kamarch, 1987, Methods Enzymol, 151:150-165). 개별 입자에서 형광 모이어티의 레이저 여기는 작은 전하를 야기하여 혼합물로부터 양성 및 음성 입자의 전자기적 분리를 가능하게 한다. 일 실시형태에서, 세포 표면 마커-특이적 항체 또는 리간드는 구별되는 형광 라벨로 라벨링된다. 세포는 세포 분류기를 통해 처리되어, 그들이 이용된 항체에 결합하는 능력에 기초하여 분리된다. FACS 분류된 입자는 분리 및 클로닝을 촉진하기 위하여 96-웰 또는 384-웰 플레이트의 개별 웰 내로 직접적으로 침착될 수 있다.
- [0350] 일부 실시형태에서, 세포 서브셋이 본 발명에서 제공되는 방법에서 이용된다. 특정 세포 집단을 분류하고 분리하는 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 세포 크기, 형태 또는 세포내 또는 세포외 마커에 기초할 수 있다. 그러한 방법은 유세포분석, 유동 분류(flow sorting), FACS, 비드 기반 분류, 예를 들어, 자기 세포 분류, 크기-기반 분리(예를 들어, 체, 장애물 어레이, 또는 필터), 미소유체역학 장치에서 분류, 항체-기반 분리, 칩강, 친화성 흡착, 친화성 추출, 밀도 구배 원심분리, 레이저 포획 미세해부 등을 포함하며 이에 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 샘플은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 하나 이상의 방법에 의해 분류된 농축 NK 세포를 포함한다. 일 실시형태에서, 농축 NK 세포는 KIR 타이핑, HLA 타이핑 또는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 바이오마커의 발현 수준의 분석을 거치기 전에 인 비트로에서 추가로 증식된다.
- [0351] 샘플은 전혈 샘플, 골수 샘플, 부분 정제 혈액 샘플, PBMC, 또는 조직 생검일 수 있다. 일부 실시형태에서, 샘플

플은 암 환자로부터의 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 암 환자로부터의 PBMC이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 골수, 전혈 또는 부분 정제 혈액으로부터의 농축 NK 세포이다. 일부 실시형태에서, NK 세포는 인 비트로에서 추가로 증식된다. 개체로부터 샘플을 수득하는 방법 및 하나 이상의 바이오마커의 mRNA 수준 또는 단백질 수준을 결정하기 위해 샘플을 제조하는 방법은 본 기술분야에서 잘 알려져 있다.

3.4. 기준 수준 및 기준 비율

본 발명은 KIR 타이핑, KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어진 군으로부터 선택된 개별 바이오마커 중 하나 이상의 발현 수준(mRNA 수준 또는 단백질 수준) 또는 바이오마커 간의 발현 수준의 비율(2DS2/2DL2 비율; 2DS5/2DL5 비율)중 하나 또는 둘 모두에 기초하여, FTI의 치료적 유효량으로 개체를 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 만일 암 환자가 KIR2DS2 또는 KIR2DS5, 또는 둘 모두의 보유자이면 암 환자는 FTI 치료를 위해 선별된다. 일부 실시형태에서, 암 환자는 만일

(i) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;

(ii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;

(iii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;

(iv) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;

(v) 개체로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나;

(vi) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는

(vii) 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는 (i)-(vii)의 임의의 조합이면 FTI 치료를 위해 선별된다.

본 발명에서 제공되는 방법은 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 각 개별 바이오마커의 기준 발현 수준, 또는 기준 2DS2/2DL2 비율 및 기준 2DS5/2DL5 비율을 비롯한, 바이오마커의 발현 수준 간의 기준 비율을 결정하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 기준 발현 수준은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 바이오마커의 발현 수준, 또는 한 사람 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수의 샘플 내의 바이오마커의 평균 또는 중앙값 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 기준 발현 수준은 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50명 또는 그보다 많은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 바이오마커의 평균 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 기준 발현 수준은 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50명 또는 그보다 많은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 바이오마커의 중앙값 발현 수준이다.

일부 실시형태에서, KIR2DS2의 기준 발현 수준은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준, 또는 한명 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수 샘플 내의 KIR2DS2의 평균 또는 중앙값 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL2의 기준 발현 수준은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준, 또는 한명 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수 샘플 내의 KIR2DL2의 평균 또는 중앙값 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DS5의 기준 발현 수준은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준, 또는 한명 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수 샘플 내의 KIR2DS5의 평균 또는 중앙값 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 기준 발현 수준은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준, 또는 한명 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수 샘플 내의 KIR2DL5의 평균 또는 중앙값 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, GZMM의 기준 발현 수준은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준, 또는 한명 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수 샘플 내의 GZMM의 평균 또는 중앙값 발현 수준이다.

일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 2DS2/2DL2 기준 발현 비율 또는 2DS5/2DL5 기준 발현 비율과 같은, 두 바이오마커의 발현 수준 간의 기준 비율을 결정하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 바이오마커의 기준 발현 비율은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 바이오마커의 발현 비율, 또는 한 사람 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수의 샘플 내의 바이오마커의 평균 또는 중앙값 발현 비율이다. 일부 실시형태에서, 두 바이오마커의 기준 발현 비율은 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50명 또는 그보다 많은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 바이오마커의 평균 발현 비율이다. 일부 실시형태에서, 두 바이오마커의 기준 발현 비율은 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50명 또는 그보다 많은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 바이오마커의 중앙값 발현 비율이다.

- [0364] 일부 실시형태에서, 기준 2DS2/2DL2 비율은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율, 또는 한명 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수 샘플 내의 평균 또는 중앙값 2DS2/2DL2 비율이다. 일부 실시형태에서, 기준 2DS5/2DL5 비율은 건강한 개인으로부터의 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율, 또는 한명 또는 다수의 건강한 개인으로부터의 다수 샘플 내의 평균 또는 중앙값 2DS5/2DL5 비율이다.
- [0365] 일부 실시형태에서, 바이오마커의 기준 발현 수준 또는 두 바이오마커의 발현 수준 간의 기준 비율은 환자 그룹의 바이오마커의 발현 수준 또는 바이오마커 간의 발현 수준의 비율 뿐만 아니라, 환자 그룹의 결과, 즉, FTI 치료에 대한 환자의 반응성을 비롯한 이전의 임상 시험으로부터의 데이터의 통계적 분석에 기초하여 결정될 수 있다. 특정 치료에 대한 환자의 반응성을 예측하거나 특정 치료를 위한 환자를 계층화하기 위해 이용될 경우 하나 이상의 바이오마커의 기준 수준(또는 "컷오프 값"으로 불림)을 결정하기 위한 많은 통계적 방법이 본 기술분야에 잘 알려져 있다.
- [0366] 본 발명의 한 방법은 하나 이상의 바이오마커를 위한 기준 발현 수준을 결정하기 위하여 비반응자로부터 반응자를 구별하는 본 발명에서 동정된 바이오마커를 위한 유전자 발현 프로파일을 분석하는 것을 포함한다. 반응자와 비반응자 사이의 비교는 맨-윌트니(Mann-Whitney) U-테스트, 카이-제곱(Chi-square) 테스트, 또는 피셔 정확(Fisher's Exact) 테스트를 이용하여 수행될 수 있다. 기술 통계학 및 비교의 분석은 시그마스타트 소프트웨어(SigmaStat Software)(시스타트 소프트웨어 인크.(Systat Software, Inc.), 미국 캘리포니아주 샌호세)를 이용하여 수행할 수 있다.
- [0367] 일부 실시형태에서, 분류 회귀 트리(classification and regression tree) (CART) 분석이 기준 수준을 결정하기 위하여 채택될 수 있다. CART 분석은 이진 반복 분할 알고리즘(binary recursive partitioning algorithm)에 기초하며 다중 선형 회귀와 같은 보다 전통적인 방법에서 명백하지 않을 수 있는 복잡한 예측 변인 상호작용(complex predictor variable interaction)의 발견을 가능하게 한다. 이진 반복 분할은 1)이진법이어서, 두 가지 가능한 결과 변수, 즉, "반응자" 및 "비반응자"가 있으며 환자를 2 그룹으로 분할하는 효과를 가짐을 의미하며; 2) 반복성이어서, 분석이 여러번 수행될 수 있음을 의미하며; 그리고 3) 분할되어, 전체 데이터 세트가 섹션들로 분할될 수 있음을 의미하는 분석을 말한다. 이 분석은 또한 성능이 열등한 예측 변인을 제거하는 능력을 가진다. 분류 트리는 샬포드 예측 모델러(Salford Predictive Modeler) v6.6 (샬포드 시스템즈(Salford Systems), 미국 캘리포니아주 샌디에고)를 이용하여 구축할 수 있다.
- [0368] 본 발명의 제품은 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 데 유용한 유전자 발현 프로파일을 나타내며 이는 컴퓨터 판독가능한 매체(자기, 광학 등)와 같이 자동적으로 판독될 수 있는 매체가 된다. 본 제품은 또한 그러한 매체 내의 유전자 발현 프로파일을 평가하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 제품은 상기에 개시한 바이오마커의 유전자 발현 프로파일을 비교하기 위한 컴퓨터 설명서를 가진 CD-ROM을 포함할 수 있다. 본 제품은 또한 그안에 디지털로 기록된 유전자 발현 프로파일을 가져서 그들은 환자 샘플로부터의 유전자 발현 데이터와 비교될 수 있다. 대안적으로, 프로파일은 상이한 표현 포맷으로 기록될 수 있다. 상기에 언급된 "옵니비즈(OMNIVIZ)" 및 "트리 뷰(TREE VIEW)" 컴퓨터 프로그램에 포함된 것과 같은 클러스터링 알고리즘이 그러한 데이터의 시각화에서 가장 도움이 될 수 있다.
- [0369] 수신자 조작 특성(Receiver Operator Characteristic)(ROC) 분석은 기준 발현 수준, 또는 기준 발현 비율을 결정하기 위하여, 또는 개별 유전자 및/또는 다수유전자 분류자의 전체 예측 값을 시험하기 위하여 이용될 수 있다. ROC 분석의 리뷰는 Soreide, J Clin Pathol 10.1136 (2008)에서 찾을 수 있으며, 이는 그 전체가 참고로 본원에 포함된다.
- [0370] 기준 수준은 고 민감성과 고 특이성 둘 모두를 보장하기 위하여 훈련 세트의 ROC 곡선으로부터 결정될 수 있다. 얼마나 많은 바이오마커가 예측자에 포함되어야 하는지를 결정하기 위하여, 단일 잔류 교차 검증(leave-one-out cross validation)(LOOCV)이 사용될 수 있다. 상이한 수의 유전자에 기초한 '버려진(left-out)' 샘플을 위한 반응 점수가 기록된다. 상이한 수의 유전자를 가진 예측자의 성능은 분류 오류 오차율, 민감성, 특이성, 예측된 두 그룹의 카프란-메이어 곡선(Kaplan-Meier) 곡선의 분리를 측정하는 p-값에 기초하여 평가될 수 있다.
- [0371] Geman et al. (2004)에 의해 처음 소개된 탑 스코어링 페어(Top Scoring Pair)(TSP) 알고리즘이 이용될 수 있다. 본질적으로, 이 알고리즘은 클래스 C1 내지 C2 간에 샘플에서 유전자 i가 유전자 j보다 더 높은 발현 값을 갖는 경우의 빈도에서의 절대적 차이(Dij)에 기초하여 모든 유전자 쌍(유전자 i 및 j)을 순위를 평가한다. 다수의 최고 수준 쌍이 있는 경우(모두 동일한 Dij를 공유함), 유전자 발현 수준의 역전이 유전자 쌍 내의 한 클래스로부터 다른 클래스로 일어나는 양을 측정하는 2차 순위 점수에 의한 최고 쌍이 선택된다. 모든 샘플에서 > 2 배인 절대 Dij의 최고 빈도를 가진 최고 쌍이 후보 쌍으로 선별될 것이다. 후보 쌍은 그 후 독립적인 시험 데이

터 세트에서 평가될 수 있다. 단일 잔류 교차 검증(LOOCV)은 알고리즘이 어떻게 수행하는지를 평가하기 위하여 훈련 데이터 세트에서 수행될 수 있다. 예측자의 성능은 최대 분류오류 오차율에 기초하여 평가될 수 있다. 모든 통계적 분석은 R (R Development Core Team, 2006)을 이용하여 이루어질 수 있다.

- [0372] 기준 수준을 결정하기 위해 유용한 방법과 통계적 수단의 리뷰는 James Westgard, Ph.D., Basic Methods Validation, 3d edition (2008)에서 찾을 수 있으며, 이는 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 구체적으로 Chapter 9 ("How is reportable range of a method determined") 및 Chapter 15 ("How is a reference interval verified")를 참고한다.
- [0373] 임상적 보고가능 범위(Clinically reportable range)(CRR)는 방법이 측정할 수 있는 분석물 값의 범위이며, 직접적인 분석적 측정 범위를 확장하기 위해 사용되는 시료 회석, 농축, 또는 다른 전처리를 가능하게 한다. 웨스트가드 박사(Dr. Westgard)에 의한 기본 검증 방법(Basic Methods Validation)에서 제공되는 바처럼, 수행될 실험은 종종 "직선성 실험"으로 불리지만, 2-점 교정이 사용되고 있지 않으면 기술적으로 방법이 선형 반응을 제공할 필요는 없다. 이 범위는 또한 방법을 위한 "선형 범위", "분석 범위" 또는 "작업 범위"로 불릴 수 있다.
- [0374] 보고가능 범위는 선형성 그래프의 검사에 의해 평가된다. 이 검사는 점들의 선형 부분을 통해 최선의 직선을 수동으로 그리거나, 모든 점들을 통해 점-대-점 선을 그린 후 최선의 직선과 비교하거나, 선형 범위 내의 점들을 통해 회귀선을 피팅시키는 것에 관련될 수 있다. 분석 방법의 선형성을 평가하기 위한 임상 검사 표준 연구원 (Clinical Laboratory Standards Institute)(CLSI)의 EP-6 프로토콜과 같은, 일부 가이드라인에서 권장되는 더욱 복잡한 통계적 계산이 있다. 그러나, 보고가능 범위가 "시각적" 평가로부터, 즉, 시리즈에서 최저 점들에 맞는 최선의 직선을 수동으로 그림으로써, 적절하게 결정될 수 있음이 일반적으로 수용된다. 임상 검사 표준 연구원(CLSI)은 최소로 적어도 4가지-바람직하게는 5가지-상이한 수준의 농도를 권장한다. 특히 만일 보고가능 범위의 상한이 최대화될 필요가 있다면, 5가지보다 많이 사용될 수 있지만, 5가지 수준이 편리하며 거의 항상 충분하다.
- [0375] 기준 간격은 전형적으로 주의깊게 정의된 기준을 충족하는 개인(기준 샘플 그룹)으로부터 수득된 시료를 분석함으로써 확립된다. 국제 임상 화학회(International Federation of Clinical Chemistry)(IFCC) 기준 값 이론에 대한 전문가 패널(Expert Panel on Theory of Reference Values) 및 CLSI의 프로토콜과 같은 프로토콜이 기준 간격을 확립하기 위하여 주의깊게 선택된 기준 샘플 그룹을 이용하는 포괄적인 체계적 과정을 설명한다. 이들 프로토콜은 전형적으로 특징규명이 필요한 각 그룹(또는 서브그룹)을 위해 최소 120명의 기준 개인을 필요로 한다.
- [0376] CLSI 승인 가이드라인 C28-A2는 확립된 기준 간격의 개별 실험실로의 전이를 실험실이 입증하는 상이한 방식을 개시하며, 이는 1. 실험실이 제출된 정보를 간단히 검토하고 기준 간격이 채택하는 실험실의 환자 개체군 및 시험 방법에 적용가능함을 주관적으로 검증하는, 예측 판단(Divine judgment); 2. 기준 샘플 개체군을 대표하는 20명의 개인으로부터 시료를 수집하고 분석함으로써 실험적 검증이 수행되는, 20개 샘플을 이용한 검증; 3. 기준 샘플 개체군을 대표하는 20명의 개인으로부터 시료를 수집하고 분석함으로써 실험적 검증이 수행되며, 실제 기준 간격이 추정되고 두 개체군의 평균과 표준편차를 비교하는 통계식을 이용하여 청구되거나 보고된 간격에 비교되는, 60개 샘플을 이용한 추정; 및 4. 관찰된 방법론적 편향 및 사용되는 분석 방법 간에 입증된 수학적 관계를 기초로 청구되거나 보고된 기준 간격을 조정하거나 교정할 수 있는, 비교 방법으로부터의 계산을 포함한다.
- [0377] 당업자는 본 명세서에 개시된 바이오마커의 기준 발현 수준 및 두 바이오마커 사이의 기준 비율이 본 발명에서 제공되는 하나 이상의 방법 또는 본 기술분야에 알려진 다른 방법에 의해 결정될 수 있음을 이해할 것이다.
- [0378] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은
- [0379] a) KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, GZMM으로 이루어진 군으로부터 선택된 바이오마커의 기준 발현 수준을 결정하고;
- [0380] b) 만일
- [0381] (i) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0382] (ii) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0383] (iii) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;

- [0384] (iv) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0385] (v) 암 환자로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 (i)-(v)의 임의의 조합이면, 암 환자에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.
- [0386] 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 전체 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5A의 발현 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 발현 수준은 KIR2DL5B의 발현 수준이다.
- [0387] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은
- [0388] a) KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, GZMM으로 이루어진 군으로부터 선택된 바이오마커의 기준 mRNA 수준을 결정하고;
- [0389] b) 만일
- [0390] (i) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 mRNA 수준이 KIR2DS2의 기준 mRNA 수준보다 높거나;
- [0391] (ii) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 mRNA 수준이 KIR2DL2의 기준 mRNA 수준보다 낮거나;
- [0392] (iii) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 mRNA 수준이 KIR2DS5의 기준 mRNA 수준보다 높거나;
- [0393] (iv) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 mRNA 수준이 KIR2DL5의 기준 mRNA 수준보다 낮거나;
- [0394] (v) 암 환자로부터의 샘플 내의 GZMM의 mRNA 수준이 GZMM의 기준 mRNA 수준보다 높거나; (i)-(v)의 임의의 조합이면, 암 환자에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.
- [0395] 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 mRNA 수준은 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 전체 mRNA 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 mRNA 수준은 KIR2DL5A의 mRNA 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 mRNA 수준은 KIR2DL5B의 mRNA 수준이다.
- [0396] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은
- [0397] a) KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, GZMM으로 이루어진 군으로부터 선택된 바이오마커의 기준 단백질 수준을 결정하고;
- [0398] b) 만일
- [0399] (i) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 단백질 수준이 KIR2DS2의 기준 단백질 수준보다 높거나;
- [0400] (ii) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 단백질 수준이 KIR2DL2의 기준 단백질 수준보다 낮거나;
- [0401] (iii) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 단백질 수준이 KIR2DS5의 기준 단백질 수준보다 높거나;
- [0402] (iv) 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 단백질 수준이 KIR2DL5의 기준 단백질 수준보다 낮거나;
- [0403] (v) 암 환자로부터의 샘플 내의 GZMM의 단백질 수준이 GZMM의 기준 단백질 수준보다 높거나; 또는 (i)-(v)의 임의의 조합이면, 암 환자에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.
- [0404] 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 단백질 수준은 KIR2DL5A 및 KIR2DL5B의 전체 단백질 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 단백질 수준은 KIR2DL5A의 단백질 수준이다. 일부 실시형태에서, KIR2DL5의 단백질 수준은 KIR2DL5B의 단백질 수준이다.
- [0405] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은
- [0406] a) 기준 2DS2/2DL2 비율 또는 기준 2DS5/2DL5 비율을 결정하고;
- [0407] b) 만일
- [0408] (i) 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율이 기준 2DS2/2DL2 비율보다 높거나; 또는
- [0409] (ii) 암 환자로부터의 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율이 기준 2DS5/2DL5 비율보다 높거나; 또는 (i)과 (ii) 둘 모두이면, 치료적 유효량의 FTI를 암 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0410] 일부 실시형태에서, 2DS2/2DL2 비율은 KIR2DS2 mRNA 수준 대 KIR2DL2 mRNA 수준의 비율이다. 일부 실시형태에서, 2DS2/2DL2 비율은 KIR2DS2 단백질 수준 대 KIR2DL2 단백질 수준의 비율이다. 2DS5/2DL5 비율은 KIR2DS5

mRNA 수준 대 KIR2DL5 mRNA 수준의 비율이다. 일부 실시형태에서, 2DS5/2DL5 비율은 KIR2DS5 단백질 수준 대 KIR2DL5 단백질 수준의 비율이다.

[0411] **3.5. 암**

[0412] 본 발명은 FTI로 개체에서 암을 치료하는 방법 및 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 암은 조혈 암 또는 고형 종양일 수 있다. 본 발명은 또한 FTI로 개체에서 전암 상태를 치료하는 방법, 및 FTI 치료를 위한 전암 상태를 가진 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0413] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI로 개체에서 조혈 암을 치료하는 방법 및 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 조혈 암은 혈액 또는 골수의 암이다. 혈액(또는 조혈성) 암의 예는 백혈병, 림프종, 및 골수이형성 증후군(MDS)을 포함한다.

[0414] 백혈병은 혈액-형성 조직의 악성 신생물을 말한다. 다양한 형태의 백혈병이 예를 들어, 미국 특허 7,393,862호 및 2002년 5월 17일에 출원된 미국 특허 출원 60/380,842호에 개시되며, 그 전체는 참고로 본원에 포함된다. 바이러스가 동물에서 여러 형태의 백혈병을 야기하는 것으로 보고되었지만, 인간에서 백혈병의 원인은 대부분 알려져 있지 않다. *The Merck Manual*, 944-952 (17th ed. 1999). 악성종양으로의 전환은 전형적으로 두 단계 이상을 통해 단일 세포에서 발생하며 증식과 클론 확장이 후속된다. 일부 백혈병에서는, 특정 염색체 전좌가 일관된 백혈병 세포 형태 및 특별한 임상 특징에서 확인되었다(예를 들어, 만성 골수성 백혈병에서 9 및 22의 전좌, 및 급성 전골수성 백혈병에서 15 및 17의 전좌). 급성 백혈병은 주로 미분화 세포 집단이며 만성 백혈병은 더욱 성숙된 세포 형태이다.

[0415] 급성 백혈병은 림프구성(ALL) 및 비-림프구성(ANLL) 타입으로 나뉜다. *The Merck Manual*, 946-949 (17th ed. 1999). 그들은 프랑스-미국-영국(FAB) 분류에 따라 또는 그들의 타입과 분화 정도에 따라 그들의 형태 및 세포 화학적 외관에 의해 추가로 세분된다. 특정 B- 및 T-세포 및 골수-항원 단클론 항체의 이용이 분류에 가장 도움이 된다. ALL은 주로 실험실 발견 및 골수 검사에 의해 확립되는 아동기 질병이다. 급성 골수성 백혈병 또는 AML로도 알려진 ANLL은 모든 연령에서 발생하며 성인에서 보다 일반적인 급성 백혈병이며; 보통 원인 체제로서 조사와 연관된 형태이다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI로 AML 환자를 치료하는 방법, 또는 FTI 치료를 위한 환자를 선별하는 방법을 제공한다.

[0416] AML 환자를 치료하는 표준 절차는 보통 2 화학요법(케모(chemo)) 단계를 포함한다: 관해 유도(또는 유도) 및 공고요법(관해 후 요법). 치료의 첫번째 부분(관해 유도)은 가능한 많은 백혈병 세포를 제거하는 것을 목표로 한다. 치료의 강도는 사람의 연령과 건강에 의존할 수 있다. 강한 화학요법은 종종 60세 이하의 사람들에게 주어진다. 건강 상태가 좋은 일부 더 나이 많은 환자들은 유사하거나 약간 덜 강한 치료에서 효과를 볼 수 있다. 훨씬 더 나이가 많거나 건강이 나쁜 사람은 강한 화학요법에 적합하지 않다.

[0417] 60세 미만의 환자와 같은 더 젊은 환자에서는, 유도는 종종 2가지 화학요법 약물, 시타라빈(아라-C) 및 안트라사이클린 약물, 예를 들어, 다우노루비신(다우노마이신) 또는 이다루비신으로 치료하는 것에 관련된다. 때로는 세번째 약물인 클라드리빈(류스타틴(Leustatin), 2-CdA)이 또한 주어진다. 화학요법은 보통 병원에서 주어지며 약 1주일 지속된다. 백혈병이 뇌 또는 척수로 퍼진 드문 경우에는, 화학요법이 또한 뇌척수액(CSF) 내로 주어질 수 있다. 방사선 요법이 또한 사용될 수 있다.

[0418] 만일 관해가 이루어지면 유도는 성공한 것으로 간주된다. 하지만, 일부 환자에서 AML은 유도에 대해 불응성일 수 있다. 유도에 반응하는 환자에서는, 이어서 남은 백혈병 세포를 파괴하고 재발 방지를 돕기 위하여 추가 치료가 주어지며, 이는 공고 요법으로 불린다. 더 젊은 환자의 경우, 공고 요법을 위한 주요 옵션은 여러 사이클의 고-투여량 시타라빈(아라-C) 화학요법(때로는 HiDAC으로 알려짐); 동종이계 (공여체) 줄기 세포 이식; 및 자가 줄기 세포 이식이다.

[0419] 만성 백혈병은 림프구성(CLL) 또는 골수성(CML)으로 개시된다. *The Merck Manual*, 949-952 (17th ed. 1999). CLL은 혈액, 골수 및 림프 기관에서 성숙 림프구의 출현을 특징으로 한다. CLL의 특징은 지속적이고 절대적인 림프구증가증(> 5,000/ μ L) 및 골수에서 림프구 증가이다. 대부분의 CLL 환자는 또한 B-세포 특징을 가진 림프구의 클론 확장을 갖는다. CLL은 중년 또는 노령의 질병이다. CML에서, 특징적인 특성은 혈액, 골수, 간, 비장 및 다른 기관에서 모든 분화 단계의 과립구 세포의 우위이다. 진단시에 증상이 있는 환자에서는, 전체 백혈구(WBC) 수가 보통 약 200,000/ μ L이지만, 1,000,000/ μ L에 이를 수 있다. CML은 필라델피아 염색체의 존재 때문에 상대적으로 진단이 용이하다. 골수 기질 세포는 CLL 질병 진행 및 화학요법에 대한 저항성을 지원하는 것

로 잘 알려져 있다. CLL 세포와 기질 세포 간의 상호작용을 파괴하는 것은 CLL 화학요법의 추가적인 표적이다.

- [0420] 부가적으로, 다른 형태의 CLL은 전림프구성 백혈병(PLL), 대형 과립 림프구성(LGL) 백혈병, 모양 세포성 백혈병(HCL)을 포함한다. PLL의 암세포는 전림프구로 불리는 정상 세포와 유사하다- B 림프구(B-PLL) 또는 T 림프구(T-PLL)의 미성숙 형태. B-PLL 및 T-PLL 둘 모두가 일반적 CLL 타입 보다 더욱 공격적인 경향이 있다. LGL의 암세포는 크며 T 세포 또는 NK 세포의 특징을 가진다. 대부분의 LGL 백혈병은 느리게-성장하지만, 소수는 더욱 공격적이다. HCL은 느리게 진행되는 경향이 있으며 모든 백혈병의 약 2%를 차지하는 다른 림프구 암이다. 암 세포는 B 림프구 타입이지만 CLL에서 나타나는 것과는 상이하다.
- [0421] 만성 골수단핵구 백혈병(CMML)은 조혈 종양의 2008 세계 보건 기구 분류에 의해 골수이형성/골수증식성 신생물로서 분류된다. CMML 환자는 그들의 혈액에서 높은 수의 단핵구를 가진다(적어도 $1,000/mm^3$). 두 부류-골수이형성 및 골수증식성-는 백혈구 수의 수준을 기초로 구별되었다(역치 13 G/L). 종종, 단핵구 수가 훨씬 높아져, 그들의 총 백혈구 수 또한 매우 높아 지도록 한다. 보통 골수에 비정상 세포가 있으나, 아세포의 양은 20% 미만이다. CMML 환자의 약 15% 내지 30%가 급성 골수성 백혈병으로 발달한다. CMML의 진단은 골수에서의 형태적, 조직병리학적 그리고 염색체 이상의 조합에 의존한다. 마요(Mayo) 예상 모델은 CMML 환자를 증가된 절대적 단핵구 수, 순환 아세포의 존재, 헤모글로빈 $<10\text{ gm/dL}$ 및 혈소판 $<100 \times 10^9/L$ 에 기초하여 세 가지 위험 그룹으로 분류하였다. 중앙값 생존기간은 각각 저, 중간 및 고-위험 그룹에서 32개월, 18.5개월 및 10개월이었다. 그룹 프랑코폰 데(Groupe Francophone des)(GFM) 점수는 CMML 환자를 >65 세의 연령, $WBC >15 \times 10^9/L$, 빈혈, 혈소판 $<100 \times 10^9/L$, 및 ASXL1 돌연변이 상태에 기초하여 세 가지 위험 그룹으로 분리하였다. 2.5년의 중앙값 추적 후, 생존기간은 저-위험 그룹에서의 미도달 내지 고-위험 그룹에서의 14.4개월 범위였다.
- [0422] 림프종은 림프계에서 기원하는 암을 말한다. 림프종은 림프구 - B 림프구(B 세포 림프종), T 림프구(T-세포 림프종), 및 천연 킬러 세포(NK 세포 림프종)의 악성 신생물을 특징으로 한다. 림프종은 일반적으로 림프절 또는 위 또는 장을 포함하며 이에 제한되지 않는 기관 내의 림프 조직 집합물에서 시작한다. 림프종은 골수 그리고 일부 경우에는 혈액에 관련될 수 있다. 림프종은 신체의 한 부위에서 다른 부분으로 퍼질 수 있다.
- [0423] 다양한 형태의 림프종의 치료는 예를 들어, 미국 특허 7,468,363호에 개시되며, 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 그러한 림프종은 호지킨 림프종(Hodgkin's lymphoma), 비-호지킨 림프종, 피부 B-세포 림프종, 활성화 B-세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 외투 세포 림프종(MCL), 여포성 림프종(FL; FL 등급 I, FL 등급 II를 포함하지만 이에 제한되지 않음), 여포성 중앙 림프종(follicular center lymphoma), 변형 림프종(transformed lymphoma), 중간 분화의 림프구 림프종(lymphocytic lymphoma of intermediate differentiation), 중간 림프구 림프종(intermediate lymphocytic lymphoma)(ILL), 미만성 분화 불량 림프구 림프종(diffuse poorly differentiated lymphocytic lymphoma)(PDL), 중심소엽성 림프종(centrocytic lymphoma), 미만성 소-절단 세포 림프종(diffuse small-cleaved cell lymphoma)(DSCCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 피부 T-세포 림프종(CTCL) 및 외투부 림프종(mantle zone lymphoma) 및 저 등급 여포성 림프종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0424] 비-호지킨 림프종(NHL)은 미국에서 남성과 여성 모두에 대해 다섯 번째로 가장 흔한 암이며, 2007년에 63,190건의 새 케이스와 18,660건의 사망이 추정되었다. Jemal A, *et al.*, *CA Cancer J Clin* 2007; 57(1):43-66. NHL에 걸릴 확률은 나이에 따라 증가하며 노인들에서 NHL의 발생은 과거 십년 동안 꾸준히 증가하여, 미국 인구의 노화 경향에서 근심을 야기하였다. *Id.* Clarke C A, *et al.*, *Cancer* 2002; 94(7):2015-2023.
- [0425] DLBCL은 비-호지킨 림프종의 대략 1/3을 차지한다. 일부 DLBCL 환자가 전통적인 화학요법으로 치유되지만, 나머지는 이 병으로 사망한다. 항암 약물은 아마도 성숙 T 및 B 세포에서 직접적인 어팍토시스 유도에 의해, 신속하고 지속적인 림프구의 고갈을 야기한다. K. Stahnke. *et al.*, *Blood* 2001, 98:3066-3073을 참고한다. 절대 림프구 수(ALC)는 여포성 비-호지킨 림프종에서 예후 인자로 나타났으며 최근의 결과는 진단시에 ALC가 DLBCL에서 중요한 예후 인자임을 제안하였다.
- [0426] DLBCL은 그들의 유전자 프로파일링 패턴에 따라 구별되는 분자 서브타입으로 나눌 수 있다: 배-중심 B-세포-유사(germinal-center B-cell-like) DLBCL(GCB-DLBCL), 활성화 B-세포-유사 DLBCL(ABC-DLBCL), 및 원발성 종격동 B-세포 림프종(primary mediastinal B-cell lymphoma)(PMBL) 또는 미분류 타입. 이들 서브타입은 생존기간, 화학요법-반응성 및 시그널링 경로 의존성, 특히 NK- κ B 경로에서의 뚜렷한 차이를 특징으로 한다. D. Kim *et al.*, *Journal of Clinical Oncology*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (June

20 Supplement), 2007: 8082를 참고한다. Bea S, *et al.*, *Blood* 2005; 106: 3183-90; Ngo V.N. *et al.*, *Nature* 2011; 470: 115-9를 참고한다. 그러한 차이는 DLBCL에서 보다 효과적이고 서브타입-특이적 치료 전략에 대한 조사를 촉진하였다. 급성 및 만성 카테고리화에 더하여, 신생물은 또한 전구체 또는 말초대로 그러한 질환을 야기하는 세포에 기초하여 카테고리화된다. 예를 들어, 미국 특허 공개 2008/0051379호를 참고하며, 그 내용은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 전구체 신생물은 ALL 및 림프모구 림프종을 포함하며 그들이 T- 또는 B-세포로 분화되기 전에 림프구에서 발생한다. 말초 신생물은 T- 또는 B-세포로 분화된 림프구에서 발생하는 것들이다. 그러한 말초 신생물은 B-세포 CLL, B-세포 전림프구성 백혈병, 림프형질세포성 림프종, 외투 세포 림프종, 여포성 림프종, 점막-관련 림프 조직의 결절의 변연부 B-세포 림프종, 결절 변연부 림프종, 비장 변연부 림프종, 모양 세포 백혈병, 형질세포종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및 버킷 림프종(Burkitt lymphoma)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. CLL 케이스의 95% 초과에서, 클론 확장은 B 세포 계통이다. *Cancer: Principles & Practice of Oncology (3rd Edition) (1989) (pp. 1843-1847)*를 참고한다. 5% 미만의 CLL 케이스에서, 중앙 세포는 T-세포 표현형을 가진다. 하지만, 이들 분류에도 불구하고, 정상 조혈작용의 병리학적인 손상이 모든 백혈병의 특징이다.

[0427] PTCL은 성숙 T-세포로부터 발달하는 희귀하고 보통은 공격적인(신속-성장) NHL 그룹으로 이루어진다. PTCL은 총괄하여 모든 NHL 케이스의 약 4 내지 10%를 차지하여, 미국에서 매년 2,800 - 7,200명 환자의 발생에 해당한다. 일부 추정에 의해, PTCL의 발생은 유의하게 성장하고 있으며, 증가하는 발생률은 노화 인구에 의해 이루어질 수 있다. PTCL은 다양한 서브타입으로 하위분류되며, 그 각각은 전형적으로 그들의 뚜렷한 임상적 차이에 기초하여 별도의 질병인 것으로 고려된다. 이들 서브타입 대부분은 드물며: 달리 특정되지 않으면 세 가지 가장 일반적인 서브타입의 PTCL인, 역형성 큰-세포 림프종, 즉 ALCL 및 혈관면역모구 T-세포 림프종이 미국에서 모든 PTCL의 대략 70%를 차지한다. ALCL은 피부 ALCL 또는 전신성 ALCL일 수 있다.

[0428] 대부분의 PTCL 서브타입의 경우, 1차 치료 요법은 전형적으로는 CHOP(시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 프레드니손), EPOCH (에토포시드, 빈크리스틴, 독소루비신, 시클로포스파미드, 프레드니손), 또는 다른 다중-약물 요법과 같은 조합 화학요법이다. 재발하거나 1차 치료에 대해 불응성인 환자는 전형적으로 GND로 불리는 요법에서의 비노벨빈(나벨빈(Navelbine)[®]) 및 독소루비신(독실(Doxil)[®])을 비롯한, 다른 화학요법과 조합된 겐시타빈, 또는 DHAP(텍사메타손, 시타라빈, 시스플라틴) 또는 ESHAP(에토포시드, 메틸프레드니솔론, 시타라빈 및 시스플라틴)과 같은 다른 화학치료 요법으로 치료된다.

[0429] PTCL을 가진 대부분의 환자가 재발하므로, 일부 종양학자는 고-투여량의 화학요법을 제공한 후 그들의 초기 화학요법에 우수한 반응을 가진 일부 환자에게 자가 줄기 세포 이식을 하는 것을 권한다. 최근에는, 프라라트렉세이트(포르토티[®]), 로미넵신(이스토닥스[®]) 및 베리노스타트(베레오닥[®])과 같은, 재발되거나 불응성인 PTCL에 대해 승인된 비-세포독성 치료법이 상대적으로 낮은 목표 반응률(25-27% 전체적 반응률, 즉 ORR) 및 상대적으로 짧은 반응 기간(8.2-9.4개월)과 연관된다. 따라서, 재발된/불응성 PTCL의 치료는 충족되지 못한 의학적 요구가 남아 있다.

[0430] 다발성 골수종(MM)은 골수에서의 형질 세포의 암이다. 정상적으로는, 형질 세포는 항체를 생산하며 면역 기능에서 중요한 역할을 한다. 하지만, 이들 세포의 제어되지 않은 성장은 뼈 통증 및 골절, 빈혈, 감염, 및 기타 합병증을 야기한다. 다발성 골수종은 두번째로 가장 일반적인 혈액암이지만, 다발성 골수종의 정확한 원인은 알려져 있지 않다. 다발성 골수종은 혈액, 소변 및 기관에서, M-단백질 및 다른 면역글로불린(항체), 알부민 및 베타-2-마이크로글로불린을 포함하지만 이에 제한되지 않는 고수준의 단백질을 야기한다. 과라단백질로도 알려진, 단클론 단백질을 위한 약자인 M-단백질이 골수종 형질 세포에 의해 생산된 특히 비정상인 단백질이며 다발성 골수종을 가진 거의 모든 환자의 혈액 또는 소변에서 발견될 수 있다.

[0431] 뼈 통증을 비롯한 골격 증상은 다발성 골수종의 임상적으로 가장 중요한 증상 중 하나이다. 악성 형질 세포는 뼈로부터 칼슘이 침출되도록 야기하여 용해성 병변을 야기하는 과골세포 자극 인자(IL-1, IL-6 및 TNF 포함)를 방출하며; 고칼슘혈증이 또 다른 증상이다. 사이토카인으로도 불리는 과골세포 자극 인자는 골수종 세포의 어팍토시스 또는 사멸을 방지할 수 있다. 환자의 50%는 진단시에 방사선으로 검출가능한 골수종-관련 골격 병변을 가진다. 다발성 골수종을 위한 다른 일반적인 임상 증상은 다발성신경염, 빈혈, 과점도, 감염 및 신부전을 포함한다.

[0432] 골수 기질 세포는 다발성 골수종 질병 진행 및 화학요법에 대한 저항성을 지원하는 것으로 잘 알려져 있다. 다발성 골수종 세포와 기질 세포 간의 상호작용을 파괴하는 것은 다발성 골수종 화학요법의 추가적인 표적이다.

- [0433] 골수이형성증후군(MDS)은 조혈 줄기 세포 질환의 다양한 그룹을 말한다. MDS는 손상된 형태와 성숙(골수조혈 손상)을 가진 모수(cellular marrow), 낮은 혈구 수 또는 혈구감소증을 유도하는 비효율적인 혈구 생산, 또는 조혈작용, 및 비효율적인 혈구 생산으로부터 야기되는 급성 골수성 백혈병으로의 진행의 고위험을 특징으로 할 수 있다. The Merck Manual 953 (17th ed. 1999) 및 List *et al.*, 1990, *J Clin. Oncol.* 8:1424를 참고한다.
- [0434] 상당한 질병이환과 사망을 가진 조혈 줄기 세포 암의 그룹으로서, MDS는 매우 이질적인 질병이며, 증상의 심각성 및 질병 진행은 환자 간에 광범위하게 변할 수 있다. 위험 계층화 및 치료 옵션을 평가하기 위한 현재의 표준 임상 도구는 개정 국제 예후 점수 시스템(International Prognostic Scoring System), 즉 IPSS-R이다. IPSS-R은 환자를 세포유전학의 평가, 골수에서 아세포(미분화된 혈구)의 백분율, 헤모글로빈 수준 및 혈소판과 호중구 수에 기초하여 5가지 위험 그룹(초저, 저, 중간, 고, 초고)으로 나눈다. WHO는 또한 del(5q) 비정상에 의해 MDS 환자를 계층화하는 것을 제안하였다.
- [0435] ACS에 따라, MDS의 연간 발병률은 미국에서 대략 13,000명의 환자이며, 그 대다수는 60세 이상이다. 추정된 유병률은 미국에서 60,000명의 환자를 넘는다. 환자의 대략 75%가 종합적으로 보다 저 위험 MDS로 알려진 초저, 저 및 중간의 IPSS-R 위험 카테고리내에 해당한다.
- [0436] 초기 조혈 줄기 세포 손상은 세포독성 화학요법, 방사선, 바이러스, 화학적 노출, 및 유전적 소인과 같은 그러나 이에 제한되지 않는 요인들로부터 올 수 있다. 클론 돌연변이가 골수에 비해 우세하여, 건강한 줄기 세포를 억제한다. MDS의 초기 단계에서, 혈구감소증의 주요 원인은 증가된 프로그래밍된 세포 사멸(어팍토시스)이다. 질병이 진행되고 백혈병으로 전환됨에 따라, 유전자 돌연변이는 드물게 발생하며 백혈병 세포의 증식이 건강한 골수를 제압한다. 질병 과정은 상이하여, 일부 경우는 지연형 질병으로 거동하고 다른 경우는 매우 짧은 임상 과정으로 공격적으로 거동하여 급성 백혈병 형태로 전환한다.
- [0437] 국제 혈액학자 단체인 프랑스-미국-영국(FAB) 협력 그룹(Cooperative Group)은 MDS 질환을 AML로부터 구별되는, 5가지 서브그룹으로 분류하였다. *The Merck Manual* 954 (17th ed. 1999); Bennett J. M., *et al.*, *Ann. Intern. Med.* 1985 October, 103(4): 620-5; 및 Besa E. C., *Med. Clin. North Am.* 1992 May, 76(3): 599-617. 환자의 골수 세포에서 근본적인 삼계통 이형성 변화(trilineage dysplastic change)가 모든 서브타입에서 발견된다.
- [0438] 골수에서 5% 이하의 골수아세포를 특징으로 하는 불응성 빈혈의 두 가지 서브그룹이 있다: (1) 불응성 빈혈(RA) 및; (2) 미토콘드리아에서 비정상적인 철 축적을 반영하여, 비정상 환상철아구를 가진 적혈구 세포 15%를 갖는 것으로 형태학적으로 정의되는, 환상철아구를 가진 RA(RARS). 둘 모두 연장된 임상 과정 및 급성 백혈병으로의 낮은 진행률을 가진다. Besa E. C., *Med. Clin. North Am.* 1992 May, 76(3): 599-617.
- [0439] 5% 초과 골수아세포를 가진 불응성 빈혈의 서브그룹이 두 가지 있다: (1) 6-20% 골수아세포로서 정의된, 과다한 아세포를 가진 RA(RAEB), 및 (2) 21-30% 골수아세포를 가진, 형질전환을 동반한 RAEB(RAEB-T). 골수아세포의 백분율이 높을수록, 임상 과정이 더 짧고 질병이 급성 골수성 백혈병에 더 가깝다. 초기 단계에서 보다 진행된 단계로의 환자 이행은 이들 서브타입이 구별되는 실체가 아니라 단지 질병의 단계들임을 나타낸다. 삼계통 이형성증 및 30% 초과 골수아세포를 가진 MDS를 가지며 급성 백혈병으로 진행되는 노인 환자는 종종 나쁜 예후를 갖는 것으로 생각되며, 그 이유는 화학요법에 대한 그들의 반응률이 처음부터 급성 골수성 백혈병인 환자보다 낮기 때문이다. 분류하기 가장 어려운 다섯번째 MDS 타입은 CMML이다. 이 서브타입은 임의의 백분율의 골수아세포를 가질 수 있으나 1000/dL 이상의 단구증가증을 가진다. 이것은 비장비대증과 관련될 수 있다. 이 서브타입은 골수증식성 질환과 중복되며 중간 임상 과정을 가질 수 있다. 이것은 음성 Ph 염색체를 특징으로 하는 전통적 CML로부터 구별된다.
- [0440] MDS는 주로 노인의 질병이며, 발병 중앙값은 수명의 70대이다. 이들 환자의 중앙 연령은 65세이며, 연령은 30대 초반부터 80세 이상의 범위이다. 이 증후군은 소아 개체군을 비롯한 어느 연령 그룹에서든 발생할 수 있다. 방사선요법과 함께, 또는 방사선요법없이, 알킬화제를 이용한 암 치료에서 생존하는 환자는 MDS 또는 이차적 급성 백혈병을 일으킬 가능성이 높다. 환자의 약 60-70%가 MDS에 대한 명백한 노출 또는 원인을 갖지 않으며, 원발성 MDS 환자로서 분류된다.
- [0441] MDS의 치료는 질병 과정의 특정 시기에서 우위를 차지하는 질병의 단계 및 기전에 기초한다. 골수 이식은 예후가 나쁘거나 후기-단계 MDS를 가진 환자에서 사용되었다. Epstein and Sleasne, 1985, *Surg. Ann.* 17:125. MDS를 위한 치료법에 대한 대안적 접근법은 조혈 성장 인자 또는 사이토카인을 이용하여 수용체에서 혈구 발달을 자극하는 것이다. Dexter, 1987, *J. Cell Sci.* 88:1; Moore, 1991, *Annu. Rev. Immunol.* 9:159; 및 Besa E. C., *Med. Clin. North Am.* 1992 May, 76(3): 599-617. 면역조절 화합물을 이용하여 MDS를 치료하는 것이 미국

특허 7,189,740호에 개시되며, 그 전체가 참고로 본원에 포함된다.

- [0442] 치료 옵션은 보조 케어 치료법, 저강도 및 고강도 치료법을 비롯한 세 가지 카테고리에 해당한다. 보조 케어 치료법은 혈구수를 개선하기 위하여 적혈구 및 혈소판 수혈 및 적혈구생성 자극 제제 또는 콜로니 자극 인자와 같은 조혈 사이토카인을 이용하는 것을 포함한다. 저강도 치료법은 아자시티딘(비다자(Vidaza)[®]) 및 데시타빈(다코겐(Dacogen)[®])과 같은 저메틸화 제제, 레나리도미드(레브리미드(Revlimid)[®])와 같은 생물 반응 개질제, 사이클로스포린 A 또는 항흉선세포 글로블린과 같은 면역억제 치료를 포함한다. 고강도 치료법은 이다루비신, 아자시티딘, 플루다라빈 및 토포테칸과 같은 화학요법제, 및 조혈 줄기 세포 이식 즉 HSCT를 포함한다.
- [0443] 미국 종합 암 네트워크(National Comprehensive Cancer Network), 즉 NCCN 가이드라인은 보다 저위험 환자(IPSS-R 그룹 초저, 저, 중간)는 주요 치료 목표를 혈액학적 개선, 즉 HI로 하여 보조 케어 치료법 또는 저강도 치료법을 받는 것을 권장한다. NCCN 가이드라인은 보다 고위험 환자(IPSS-R 그룹 고, 초고)는 고강도 치료법을 이용한 보다 공격적인 치료를 받는 것을 권장한다. 일부 경우에, 고위험 환자는 화학요법을 견딜 수 없으며, 더 낮은 강도의 요법을 선택할 수 있다. 현재 이용가능한 치료에도 불구하고, 상당 부분의 MDS 환자는 효과적인 치료법이 부족하며 NCCN 가이드라인은 추가적인 치료 옵션으로서 임상 시험을 권한다. MDS의 치료는 상당한 충족되지 못한 요구가 남아 있어서 새로운 치료법의 개발을 요한다.
- [0444] 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 조혈 암을 치료하거나, FTI 치료를 위한 조혈 암 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 조혈 암 환자는 KIR2DS2의 보유자 또는 KIR2DS5의 보유자이거나 둘 모두의 보유자이거나; 또는
- [0445] (i) 조혈 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0446] (ii) 조혈 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0447] (iii) 조혈 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0448] (iv) 조혈 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0449] (v) 조혈 암 환자로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0450] (vi) 조혈 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는
- [0451] (vii) 조혈 암 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는 (i)-(vii)의 임의의 조합이다.
- [0452] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 조혈 암을 치료하거나, FTI 치료를 위한 조혈 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 혈액 암은 급성 백혈병(예를 들어, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수세포 백혈병, 급성 골수성 백혈병 및 골수아세포, 전골수구, 골수단핵구, 단핵구 및 적 백혈병), 만성 백혈병(예를 들어, 만성 골수세포(과립구) 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수(myeloic) 백혈병, 및 만성 림프구성 백혈병), 만성 골수단핵구 백혈병, 연소성 골수단핵구 백혈병을 비롯한 백혈병, 진성적혈구 증가증, NK 세포 백혈병, 림프종, NK 세포 림프종, 호지킨병, 비-호지킨 림프종(지연성 및 고등급 형태), 다발성 골수종, 말초 T-세포 림프종, 피부 T-세포 림프종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증(Waldenstrom's macroglobulinemia), 중쇄 질환, 골수이형성증, 원인불명 골수화생(agnogenic myeloid metaplasia), 가족성 적혈구포식성 림프조직구증식증(familial erythrophagocytic lymphohistiocytosis), 모양 세포 백혈병 및 척수형성이상증을 포함한다.
- [0453] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료될 조혈 암은 AML, MDS, CMML, NK 세포 림프종, NK 세포 백혈병, CTCL, PTCL, CML일 수 있다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 AML이다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 MDS이다. 일부 실시형태에서, MDS는 보다 저위험 MDS이다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 CMML이다. CMML은 저위험 CMML, 중간 위험 CMML, 또는 고위험 CMML일 수 있다. CMML은 골수이형성 CMML 또는 골수증식성 CMML일 수 있다. 일부 실시형태에서, CMML은 NRAS/KRAS 야생형 CMML이다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 NK 림프종이다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 NK 백혈병이다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 CTCL이다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 PTCL이다. 일부 실시형태에서, PTCL은 불응성이거나 재발된 PTCL이다.
- [0454] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 MDS를 치료하거나, FTI 치료를 위한 MDS 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 MDS 환자는 KIR2DS2, KIR2DS5, 또는 HLA-C2 또는 임의의 그 조합의 보유자이거나; 또

는

- [0455] (i) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0456] (ii) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0457] (iii) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0458] (iv) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0459] (v) MDS 환자로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0460] (vi) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는
- [0461] (vii) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이다.
- [0462] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 보다 저위험 MDS를 치료하거나, FTI 치료를 위한 보다 저위험 MDS 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 보다 저위험 MDS 환자는 KIR2DS2, KIR2DS5, 또는 HLA-C2 또는 임의의 그 조합의 보유자이거나; 또는
- [0463] (i) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0464] (ii) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0465] (iii) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0466] (iv) MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0467] (v) MDS 환자로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0468] (vi) 보다 저위험 MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는
- [0469] (vii) 보다 저위험 MDS 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이다.
- [0470] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 AML을 치료하거나, FTI 치료를 위한 AML 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 AML 환자는 KIR2DS2, KIR2DS5, 또는 HLA-C2 또는 임의의 그 조합의 보유자이거나; 또는
- [0471] (i) AML 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0472] (ii) AML 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0473] (iii) AML 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0474] (iv) AML 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0475] (v) AML 환자로부터의 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0476] (vi) AML 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율이 KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는
- [0477] (vii) AML 환자로부터의 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 비율이 KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5의 발현 수준의 기준 비율보다 높거나; 또는 임의의 그 조합이다.
- [0478] 일부 실시형태에서, AML 환자는 관해 유도 후이다. 일부 실시형태에서, AML 환자는 이식 후이다. 일부 실시형태에서, AML 환자는 60세가 넘었거나 다르게는 관해 유도에 적합하지 않다. 일부 실시형태에서, AML 환자는 65, 70, 또는 75세 초과이다. 일부 실시형태에서, AML 환자는 표준 화학요법에 불응성이다. 일부 실시형태에서, AML 환자는 재발된 환자이다.
- [0479] 일부 실시형태에서, 본 발명은 고형 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 고형 종양은 보통 낭종 또는 액체 영역을 함유하지 않는 비정상 조직 덩어리이다. 고형 종양은 양성 또는 악성일 수 있다. 상이한 타입의 고형 종양은

그들을 형성하는 세포 타입을 따라 명명된다(예를 들어, 육종, 암종 및 림프종). 본 발명의 방법으로 치료될 고형 종양은 육종 및 암종일 수 있으며, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종 및 기타 육종, 활막종, 증피종, 유잉종양, 평활근종양, 횡문근육종, 결장 암종, 악성 림프종, 췌장암, 유방암, 폐암, 난소암, 전립선암, 간세포 암종, 편평세포 암종, 기질세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 갑상선 수질암, 유두갑상선암종, 갈색세포종 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간암종, 담관 암종, 용모암, 율름 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 정상피종, 방광 암종, 흑색종, 및 CNS 종양(예를 들어, 신경교종(예를 들어, 뇌간 교종 및 혼합 신경교종), 교모세포종(다형성 신경교아종으로도 알려짐), 성상세포종, CNS 림프종, 배아종, 수모세포종, 신경초종 두개인두종(Schwannoma craniopharyngioma), 상의세포종, 송과체부종양, 혈관모세포종, 청신경종, 핏지교종, 뇌수막종, 신경아세포종, 망막아세포종 및 뇌전이)를 포함한다.

[0480] 일부 실시형태에서, 본 발명은 고형 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 이때 고형 종양은 악성 흑색종, 부신 암종, 유방 암종, 신장 세포암, 췌장의 암종, 비소세포 폐 암종(NSCLC) 또는 원발 부위 불명암이다. 다양한 타입 또는 단계의 고형 종양을 가진 환자에게 일반적으로 투여되는 약물은 세레브렉스, 에토포시드, 시클로포스파미드, 도세탁셀, 아페시타빈, IFN, 타목시펜, IL-2, GM-CSF, 또는 그 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0481] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료될 고형 종양은 갑상선암, 두경부암, 요로암, 침샘 암(salivary cancer), 상부 소화관의 암, 방광암, 유방암, 난소암, 뇌암, 위암, 전립선암, 폐암, 결장암, 피부암, 간암 및 췌장암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 방광암은 이행 세포 암종일 수 있다.

[0482] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 고형 종양은 암종, 흑색종, 육종 또는 만성 육아종 병으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0483] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 전암 상태는 광선입술염, 바렛 식도(Barrett's esophagus), 위축성 위염, 유관상피내암, 선천성 이상각화증, 철부족성 연하곤란, 편평 태선, 경구 점막하 섬유증, 일광탄력 섬유증, 자궁경부 이형성, 폴립, 백반증, 홍반증, 편평 상피내 병변, 전암 질환, 또는 전암 면역 증식성 질환일 수 있다.

[0484] **3.6. 예시적인 FTI 및 투여량**

[0485] 일부 실시형태에서, 개체에서 암을 치료하는 방법은 개체를 KIR 타이핑하고, 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며, 이때 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이거나, KIR2DS2 및 KIR2DS5 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 또한 HLA-C2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 개체에게 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0486] 일부 실시형태에서, 개체에서 암을 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 발현 수준을 결정하고,

[0487] (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;

[0488] (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;

[0489] (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;

[0490] (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;

[0491] (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 (i)-(v)의 임의의 조합인 개체에게 티피파르닙의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0492] 부가적으로, 개체에서 암을 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하고

[0493] (i) 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율이 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높거나; 또는

- [0494] (ii) 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율이 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높거나; 또는 (i)과 (ii) 둘 모두인 개체에 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0495] 일부 실시형태에서, 개체에서 혈액암을 치료하는 방법은 개체를 KIR 타이핑하고, 개체에 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며, 이때 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이거나 KIR2DS2 및 KIR2DS5 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 또한 HLA-C2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 개체에 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0496] 일부 실시형태에서, 개체에서 혈액암을 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 발현 수준을 결정하고,
- [0497] (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0498] (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0499] (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0500] (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0501] (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 (i)-(v)의 임의의 조합인 개체에 티피파르닙의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0502] 일부 실시형태에서, 개체에서 혈액암을 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하고
- [0503] (i) 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율이 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높거나; 또는
- [0504] (ii) 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율이 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높거나; 또는 (i)과 (ii) 둘 모두인 개체에 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0505] 일부 실시형태에서, 개체에서 보다 저위험 MDS를 치료하는 방법은 개체를 KIR 타이핑하고, 개체에 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며, 이때 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이거나 KIR2DS2 및 KIR2DS5 둘 모두의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 개체는 또한 HLA-C2의 보유자이다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 개체에 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0506] 일부 실시형태에서, 개체에서 보다 저위험 MDS를 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 발현 수준을 결정하고,
- [0507] (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0508] (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0509] (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0510] (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0511] (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 (i)-(v)의 임의의 조합인 개체에

티피파르닙의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0512] 부가적으로, 개체에서 보다 저위험 MDS를 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하고
- [0513] (i) 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율이 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높거나; 또는
- [0514] (ii) 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율이 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높거나; 또는 (i)과 (ii) 둘 모두인 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0515] 일부 실시형태에서, FTI는 경구로, 비경구로, 직장으로, 또는 국소로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 경구로 투여된다.
- [0516] 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 경구로, 비경구로, 직장으로, 또는 국소로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 경구로 투여된다.
- [0517] 일부 실시형태에서, FTI는 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다.
- [0518] 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다.
- [0519] 일부 실시형태에서, FTI는 치료 사이클로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 격주로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.
- [0520] 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 치료 사이클로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 격주로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.
- [0521] 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 3 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 6사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 최대 12 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 3 사이클 동안 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.
- [0522] 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 3 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 6 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 최대 12 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 3 사이클동안 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.
- [0523] 일부 실시형태에서, 개체에서 보다 저위험 MDS를 치료하는 방법은 개체를 KIR 타이핑하고, 개체에게 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며, 이때 개체는 KIR2DS2 또는 KIR2DS5의 보유자이거나 KIR2DS2 및 KIR2DS5 둘 모두의 보유자이며, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 개체는 또한 HLA-C2의 보유자이다.
- [0524] 일부 실시형태에서, 개체에서 보다 저위험 MDS를 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오마커의 발현 수준을 결정하고,
- [0525] (i) 샘플 내의 KIR2DS2의 발현 수준이 KIR2DS2의 기준 발현 수준보다 높거나;

- [0526] (ii) 샘플 내의 KIR2DL2의 발현 수준이 KIR2DL2의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0527] (iii) 샘플 내의 KIR2DS5의 발현 수준이 KIR2DS5의 기준 발현 수준보다 높거나;
- [0528] (iv) 샘플 내의 KIR2DL5의 발현 수준이 KIR2DL5의 기준 발현 수준보다 낮거나;
- [0529] (v) 샘플 내의 GZMM의 발현 수준이 GZMM의 기준 발현 수준보다 높거나; 또는 (i)-(v)의 임의의 조합인 개체에 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며; 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두 번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.
- [0530] 부가적으로, 개체에서 보다 저위험 MDS를 치료하는 방법은 개체로부터의 샘플 내의 KIR2DS2 및 KIR2DL2, 또는 KIR2DS5 및 KIR2DL5의 발현 수준을 결정하고
- [0531] (i) 샘플 내의 2DS2/2DL2 비율이 기준 2DS2/2DL2 비율 보다 높거나; 또는
- [0532] (ii) 샘플 내의 2DS5/2DL5 비율이 기준 2DS5/2DL5 비율 보다 높거나; 또는 (i)과 (ii) 둘 모두인 개체에 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며; 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두 번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.
- [0533] **3.7. 키트**
- [0534] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체를 KIR 타이핑하기 위한 키트를 제공한다. 일부 실시형태에서, 키트는 하나 이상의 KIR 유전자의 게놈 DNA, cDNA, 또는 mRNA에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 프로브를 포함한다. KIR 유전자는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIRDL5, 또는 임의의 그 조합을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트는 HLA 타이핑을 위한 제제를 추가로 포함할 수 있다. HLA 타이핑을 위한 제제는 하나 이상의 HLA 유전자의 게놈 DNA, cDNA, 또는 mRNA에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 프로브일 수 있다. HLA 유전자는 HLA-C1, HLA-C2, 또는 둘 모두를 포함할 수 있다.
- [0535] 일부 실시형태에서, 키트는 세척 용액을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 게놈 DNA 분리 또는 정제 수단을 위한 시약, 검출 수단, 및 양성 및 음성 대조군을 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 키트를 이용하기 위한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 FTI 또는 FTI를 가진 약리학 적 조성물을 추가로 포함한다. 키트는 가정내 용도, 병원 용도 또는 연구 용도를 위해 맞춰질 수 있다.
- [0536] 일부 실시형태에서, 본 발명은 하나 이상의 바이오마커의 mRNA 수준을 검출하기 위한 키트를 제공한다. 하나 이상의 바이오마커는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIRDL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 키트는 하나 이상의 바이오마커의 mRNA에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 프로브를 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 세척 용액을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 하이브리드화 분석을 수행하기 위한 시약, mRNA 분리 또는 정제 수단, 검출 수단, 및 양성 및 음성 대조군을 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 키트를 이용하기 위한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 FTI 또는 FTI를 가진 약리학 적 조성물을 추가로 포함한다. 키트는 가정내 용도, 병원 용도 또는 연구 용도를 위해 맞춰질 수 있다.
- [0537] 일부 실시형태에서, 본 발명은 하나 이상의 바이오마커의 단백질 수준을 검출하기 위한 키트를 제공한다. 하나 이상의 바이오마커는 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIRDL5, 및 GZMM으로 이루어지는 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 키트는 단백질 바이오마커를 인식하는 항체로 코팅된 덩스틱, 세척 용액, 분석을 수행하기 위한 시약, 단백질 분리 또는 정제 수단, 검출 수단, 및 양성 및 음성 대조군을 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 키트를 이용하기 위한 설명서를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 키트는 FTI 또는 FTI를 가진 약리학 적 조성물을 추가로 포함한다. 키트는 가정내 용도, 병원 용도 또는 연구 용도를 위해 맞춰질 수 있다.
- [0538] 본 발명에서 제공되는 키트는 예를 들어, 덩스틱, 막, 칩, 디스크, 시험 스트립, 필터, 미소구체, 슬라이드, 다중웰 플레이트 또는 광학 섬유를 이용할 수 있다. 키트의 고체 지지체는 예를 들어, 플라스틱, 규소, 금속, 수지, 유리, 막, 입자, 침전물, 젤, 중합체, 시트, 구체, 다당류, 모세관, 필름, 플레이트, 또는 슬라이드일 수 있다. 샘플은 예를 들어, 혈액 샘플, 골수 샘플, 세포 배양물, 세포주, 조직, 구강 조직, 위장 조직, 기관, 세포기관, 생물 유체, 소변 샘플, 또는 피부 샘플일 수 있다. 생물 샘플은 예를 들어, 림프절 생검, 골수 생검, 또는 말초 혈액 중앙 세포의 샘플일 수 있다.
- [0539] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 키트는 하나 이상의 용기 및 RT-PCR, qPCR, 딥 시퀀싱(deep sequencing), NGS, 또는 마이크로어레이를 수행하기 위한 성분을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제

공되는 키트는 유세포분석 또는 면역형광에 의해 바이오마커의 발현을 검출하기 위한 수단을 이용한다. 다른 실시형태에서, 바이오마커의 발현은 ELISA-기반 방법 또는 본 기술분야에 알려진 다른 유사한 방법에 의해 측정된다.

[0540] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 키트는 단백질을 분리하기 위한 성분을 포함한다. 다른 구체적 실시형태에서, 약학 또는 분석 키트는 용기내에, FTI 또는 FTI를 가진 약학 조성물을 포함하며, 하나 이상의 용기에 유세포분석 또는 ELISA를 수행하기 위한 성분을 추가로 포함한다.

[0541] 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 일부 유전자의 존재, 또는 상기 유전자 또는 유전자(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5 이상 유전자)의 서브세트의 유전자 생성물 중 하나 이상의 존재비를 측정하는데 필요한 물질을 제공하는, 바이오마커를 측정하기 위한 키트를 제공한다. 그러한 키트는 DNA, RNA 또는 단백질을 측정하는데 필요한 물질 및 시약을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 그러한 키트는 마이크로어레이를 포함하며, 마이크로어레이는 본 발명에서 제공된 바이오마커의 유전자 중 하나 이상 또는 유전자의 서브세트 또는 임의의 그 조합의 DNA 또는 mRNA 전사물 중 하나 이상에 하이브리드화하는 올리고뉴클레오티드 및/또는 DNA 및/또는 RNA 단편으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 그러한 키트는 유전자 또는 유전자의 서브세트의 DNA, RNA 생성물 또는 RNA 생성물의 cDNA 카피의 PCR을 위한 프라이머를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 그러한 키트는 정량적 PCR을 위한 프로브뿐만 아니라 PCR을 위한 프라이머를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 그러한 키트는 다수의 프라이머와 다수의 프로브를 포함할 수 있으며, 프로브의 일부는 유전자 생성물의 다수 생성물 또는 다수 유전자 생성물의 멀티플렉싱을 허용하기 위하여 상이한 형광단을 갖는다. 일부 실시형태에서, 그러한 키트는 샘플로부터 분리된 RNA로부터 cDNA를 합성하기 위한 재료 및 시약을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 그러한 키트는 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 또는 유전자의 서브세트의 단백질 생성물에 대해 특이적인 항체를 포함할 수 있다. 그러한 키트는 생물 샘플로부터 RNA 및/또는 단백질을 분리하기 위한 재료 및 시약을 부가적으로 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 그러한 키트는 환자가 FTI에 임상적으로 민감성인지 여부를 예측하기 위한 컴퓨터 판독 매체 상에 내장된 컴퓨터 프로그램 제품을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 키트는 설명서와 함께 컴퓨터 판독 매체상에 내장된 컴퓨터 프로그램 제품을 포함할 수 있다.

[0542] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 또는 유전자 서브세트의 하나 이상의 핵산 서열의 발현을 측정하기 위한 키트가 제공된다. 구체적 실시형태에서, 그러한 키트는 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 또는 유전자 서브세트와 연합된 하나 이상의 핵산 서열의 발현을 측정한다. 이 실시형태에 따라, 키트는 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 또는 유전자 서브세트의 특정 핵산 서열 생성물의 발현을 측정하기 위해 필요한 재료 및 시약을 포함할 수 있다. 예를 들어, 마이크로어레이 또는 RT-PCR 키트는 특정 조건을 위해 생산될 수 있으며 환자에서의 혈액암이 화합물에 임상적으로 민감성인지 여부를 예측하기 위하여 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 또는 유전자 서브세트의 특정 RNA 전사물 생성물의 수준을 측정하기 위해 필요한 시약과 재료만을 함유할 수 있다. 대안적으로, 일부 실시형태에서, 키트는 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 어느 특정 유전자의 특정 핵산 서열의 발현을 측정하기 위해 요구되는 것에 제한되지 않는 재료 및 시약을 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 외의 다른 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 35, 적어도 40, 적어도 45, 적어도 50 또는 그보다 많은 유전자의 발현 수준을 측정하기 위해 필요한 시약 및 재료에 더하여, 본 발명에 제공되는 바이오마커 중 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 발현 수준을 측정하기 위해 필요한 재료 및 시약을 포함한다. 다른 실시형태에서, 키트는 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 중 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5 또는 그보다 많은 유전자, 및 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자가 아닌 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 300, 350, 400, 450, 또는 그보다 많은 유전자, 또는 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자가 아닌 1-10, 1-100, 1-150, 1-200, 1-300, 1-400, 1-500, 1-1000, 25-100, 25-200, 25-300, 25-400, 25-500, 25-1000, 100-150, 100-200, 100-300, 100-400, 100-500, 100-1000 또는 500-1000 유전자의 발현 수준을 측정하기 위해 필요한 시약과 재료를 함유한다.

[0543] 핵산 마이크로어레이 키트의 경우, 키트는 일반적으로 고체 지지체 표면에 부착된 프로브를 포함한다. 한 가지 그러한 실시형태에서, 프로브는 올리고뉴클레오티드 또는 150 뉴클레오티드 길이 내지 800 뉴클레오티드 길이 범위의 프로브를 비롯한 더 긴 길이의 프로브일 수 있다. 프로브는 검출가능한 라벨에 부착될 수 있다. 구체적 실시형태에서, 프로브는 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 생성물 중 하나 이상에 대해 특이적이다. 마이크로어레이 키트는 분석 수행 및 분석 수행으로부터 얻어진 데이터를 해석하고 분석하는 방법을 위한 설명

서를 포함할 수 있다. 구체적 실시형태에서, 키트는 환자에서 혈액암이 FTI에 임상적으로 민감인지 여부를 예측하기 위한 설명서를 포함한다. 키트는 또한 하이브리드화 시약 및/또는 표적 핵산 서열에 프로브가 하이브리드화될 때 생산되는 시그널을 검출하기 위해 필요한 시약을 포함할 수 있다. 일반적으로, 마이크로어레이 키트를 위한 재료와 시약은 하나 이상의 용기내에 있다. 키트의 각 성분은 일반적으로 그 자신의 적합한 용기내에 있다.

[0544] 일부 실시형태에서, 핵산 마이크로어레이 키트는 본 발명에서 제공된 바이오마커의 동정된 유전자 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 또는 그보다 많은 유전자 또는 그 조합의 발현 수준을 측정하기 위해 필요한 재료와 시약을, 본 발명에서 제공되는 바이오마커의 유전자 외의 다른 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 35, 적어도 40, 적어도 45, 적어도 50 또는 그보다 많은 유전자의 발현 수준을 측정하기 위해 필요한 시약 및 재료에 더하여, 포함한다. 다른 실시형태에서, 핵산 마이크로어레이 키트는 본 발명에서 제공된 바이오마커의 유전자 중 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 15, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 30, 적어도 35, 적어도 40, 적어도 45, 적어도 50 또는 그보다 많은 유전자 또는 임의의 그 조합, 및 본 발명에서 제공된 바이오마커의 유전자가 아닌 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 300, 350, 400, 450 이상 유전자, 또는 본 발명에서 제공된 바이오마커의 유전자가 아닌 1-10, 1-100, 1-150, 1-200, 1-300, 1-400, 1-500, 1-1000, 25-100, 25-200, 25-300, 25-400, 25-500, 25-1000, 100-150, 100-200, 100-300, 100-400, 100-500, 100-1000 또는 500-1000 유전자의 발현 수준을 측정하기 위해 필요한 시약과 재료를 함유한다.

[0545] 정량적 PCR을 위해, 키트는 특정 핵산 서열에 대해 특이적인 사전-선별된 프라이머를 포함할 수 있다. 정량적 PCR 키트는 또한 핵산 증폭에 적합한 효소(예를 들어, Taq과 같은 폴리머라제), 및 증폭을 위한 반응 혼합물을 위해 필요한 데옥시뉴클레오티드 및 버퍼를 포함할 수 있다. 정량적 PCR 키트는 또한 조건과 관련되거나 조건을 나타내는 핵산 서열에 대해 특이적인 프로브를 포함할 수 있다. 프로브는 형광단으로 라벨링될 수 있다. 프로브는 또한 켄처 분자로 라벨링될 수 있다. 일부 실시형태에서 정량적 PCR 키트는 또한 역전사 반응에 필요한 데옥시뉴클레오티드 및 버퍼와 함께 역전사를 위한 효소(예를 들어, AMV, MMLV 등과 같은 역전사효소) 및 프라이머를 비롯하여 RNA를 역전사하기에 적합한 성분들을 포함한다. 정량적 PCR 키트의 각 성분은 일반적으로 그 자신의 적합한 용기내에 있다. 따라서, 이들 키트는 일반적으로 각 개별 시약, 효소, 프라이머 및 프로브에 적합한 구별되는 용기를 포함한다. 추가로, 정량적 PCR 키트는 분석을 수행하고 분석 수행으로부터 얻어지는 데이터를 해석 및 분석하는 방법을 위한 설명서를 포함할 수 있다. 구체적 실시형태에서, 키트는 환자에서 혈액암이 화합물에 임상적으로 민감한지 여부를 예측하기 위한 설명서를 함유한다.

[0546] 항체기반 키트의 경우, 키트는 예를 들어, (1) 관심 폴리펩티드 또는 단백질에 결합하는 제1 항체; 및 선택적으로 (2) 폴리펩티드 또는 단백질 또는 제1 항체에 결합하며 검출가능한 라벨(예를 들어, 형광 라벨, 방사성 동위원소 또는 효소)에 접합되는 제2의 상이한 항체를 포함할 수 있다. 제1 항체는 고체 지지체에 부착될 수 있다. 구체적 실시형태에서, 관심 폴리펩티드 또는 단백질은 본 발명에서 제공되는 바이오마커이다. 항체-기반 키트는 또한 면역침전을 수행하기 위한 비드를 포함할 수 있다. 항체-기반 키트의 각 성분은 일반적으로 그 자신의 적합한 용기내에 있다. 따라서, 이들 키트는 일반적으로 각 항체에 대해 적합한 구별되는 용기를 포함한다. 추가로, 항체-기반 키트는 분석을 수행하고 분석 수행으로부터 얻어지는 데이터를 해석 및 분석하는 방법을 위한 설명서를 포함할 수 있다. 구체적 실시형태에서, 키트는 환자에서 혈액암이 화합물에 임상적으로 민감한지 여부를 예측하기 위한 설명서를 함유한다.

[0547] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 키트는 본 발명에서 제공되는 FTI, 또는 FTI를 가진 약학 조성물을 포함한다. 키트는 DNA-저메틸화 제제, 암항원에 특이적으로 결합하는 치료 항체, 조혈 성장 인자, 사이토카인, 항암제, 항생제, cox-2 억제제, 면역조절제, 항-흉선세포 글로불린, 면역억제제 또는 코르티코스테로이드와 같은, 본 명세서에 개시된 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는 추가의 활성 제제를 더 포함할 수 있다.

[0548] 본 발명에서 제공되는 키트는 FTI 또는 다른 활성 성분을 투여하기 위해 사용되는 장치를 추가로 포함할 수 있다. 그러한 장치의 예는 시린지, 드립 백(drip bag), 패치 및 흡입기를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0549] 키트는 하나 이상의 활성 성분을 투여하기 위해 사용될 수 있는 약학적 허용 비히클 뿐만 아니라 이식을 위한 세포 또는 혈액을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 만일 활성 성분이 비경구 투여를 위해 재구성되어야 하는 고체 형태로 제공되면, 키트는 활성 성분이 비경구 투여에 적합한 무미립자 멸균 용액을 형성하기 위해 용해될

수 있는 적합한 비히클의 밀봉된 용기를 포함할 수 있다. 약학적 허용 비히클의 예는 주사용수 USP; 소듐 클로라이드 주사액, 링거 주사액, 텍스트로스 주사액, 텍스트로스 및 소듐 클로라이드 주사액, 및 락테이트화 링거 주사액과 같은 그러나 이에 제한되지 않는 수성 비히클; 에틸 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜과 같은 그러나 이에 제한되지 않는 수혼화성 비히클; 및 옥수수유, 면화씨유, 땅콩유, 참기름, 에틸 올리에이트, 이소프로필 미리스테이트 및 벤질 벤조에이트와 같은 그러나 이에 제한되지 않는 비수성 비히클을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

- [0550] 본 발명에서 제공되는 방법과 키트의 일부 실시형태에서, 고체상 지지체는 단백질 정제, 샘플 라벨링 또는 고체상 분석 수행을 위해 이용된다. 본 명세서에 개시된 방법을 수행하기에 적합한 고체상의 예는 비드, 입자, 콜로이드, 단일 표면, 튜브, 다중웰 플레이트, 미세역가 플레이트, 슬라이드, 막, 젤 및 전극을 포함한다. 고체상이 미립자 물질(예를 들어, 비드)인 경우, 일 실시형태에서, 이것은 다중웰 플레이트에서 분배되어 고체상 지지체의 평행한 프로세싱을 가능하게 한다.
- [0551] 본 발명의 키트는 보조 시약을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 보조 시약은 2차 항체, 검출 시약, 검출 버퍼, 고정화 버퍼, 희석 버퍼, 세척 버퍼 또는 임의의 그 조합일 수 있다.
- [0552] 2차 항체는 단클론 또는 다클론 항체일 수 있다. 2차 항체는 소, 마우스, 래트, 햄스터, 염소, 낙타, 닭, 토끼 및 기타를 비롯한 임의의 포유동물 유기체로부터 유래될 수 있다. 2차 항체는 예를 들어, 항-인간 IgA 항체, 항-인간 IgD 항체, 항-인간 IgE 항체, 항-인간 IgG 항체, 또는 항-인간 IgM 항체를 포함할 수 있다. 2차 항체는 효소(예를 들어, 호스래디슈 퍼옥시다제(HRP), 알카라인 포스파타제(AP), 루시페라제 등) 또는 염료(예를 들어, 비색 염료, 형광 염료, 형광 공명 에너지 전달(FRET)-염료, 시간-분해(TR)-FRET 염료 등)에 접합될 수 있다. 일부 실시형태에서, 2차 항체는 HRP-접합된 다클론 토끼-항-인간 IgG 항체이다.
- [0553] 본 기술분야에 알려진 임의의 검출 시약이 본 발명의 키트에 포함될 수 있다. 일부 실시형태에서, 검출 시약은 비색 검출 시약, 형광 검출 시약, 또는 화학발광 검출 시약이다. 일부 실시형태에서, 비색 검출 시약은 PNPP(p-니트로페닐 포스페이트), ABTS (2,2'-아지노-비스(3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산)) 또는 OPD(o-페닐렌디아민)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 형광 검출 시약은 콰타블루(QuantaBlu)™ 또는 콰타레드(QuantaRed)™(써모 사이언티픽(Thermo Scientific), 매사추세츠주 윌덤)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 발광 검출 시약은 루미놀 또는 루시페린을 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 시약은 트리거(trigger)(예를 들어, H2O2) 및 트레이서(tracer)(예를 들어, 이소루미놀-접합체)를 포함한다.
- [0554] 본 기술분야에 알려진 임의의 검출 버퍼가 본 발명의 키트에 포함될 수 있다. 일부 실시형태에서 검출 버퍼는 시트레이트-포스페이트 버퍼(예를 들어, 약 pH 4.2)이다.
- [0555] 본 기술분야에 알려진 임의의 중지 용액은 본 발명의 키트에 포함될 수 있다. 본 발명의 중지 용액은 검출 시약 및 상응하는 분석 시그널의 추가 발생을 종결하거나 지연시킨다. 중지 용액은 예를 들어, 저-pH 버퍼(예를 들어, 글리신-버퍼, pH 2.0), 카오트로픽 제제(chaotropic agent)(예를 들어, 구아니디늄 클로라이드, 소듐-도데실설페이트(SDS)) 또는 환원제(예를 들어, 디티오프레이톨, 머캅토에탄올) 등을 포함할 수 있다.
- [0556] 일부 실시형태에서, 보조 시약은 공유 및 비-공유 고정 시약을 비롯한, 본 기술분야에 알려진 임의의 고정 시약일 수 있는 고정 시약이다. 공유 고정 시약은 펩티드 또는 핵산을 표면 상에 공유적으로 고정시키기 위해 사용될 수 있는 임의의 화학 또는 생물 시약을 포함할 수 있다. 공유 고정 시약은 예를 들어, 카르복실-대-아민 반응성기(예를 들어, EDC 또는 DCC와 같은 카르보디이미드), 아민 반응성 기(예를 들어, N-하이드록시석신이미드(NHS) 에스테르, 이미도에스테르), 설프하이드릴-반응성 가교제(예를 들어, 말레이미드, 할로아세틸, 피리딜 디설파이드), 카르보닐-반응성 가교제 그룹(예를 들어, 하이드라지드, 알콕시아민), 광반응성 가교제(예를 들어, 아릴 아지드, 디지린), 또는 화학선택적 결합 그룹(예를 들어, 스타우딩거(Staudinger) 반응 쌍)을 포함할 수 있다. 비-공유 고정 시약은 친화성 태그(예를 들어, 비오틴) 또는 포획 시약(예를 들어, 스트렙타비딘 또는 항-태그 항체, 예를 들어, 항-His6 또는 항-Myc 항체)와 같은, 표면 상에 비-공유적으로 펩티드 또는 핵산을 고정하기 위해 사용될 수 있는 임의의 화학 또는 생물 시약을 포함한다.
- [0557] 본 발명의 키트는 고정 시약의 조합을 포함할 수 있다. 그러한 조합은 예를 들어, EDC 및 NHS를 포함하며, 이들은 예를 들어, 카르복실화 텍스트란 매트릭스와 같은 표면 상에(예를 들어, 비아코어(BIAcore)™ CM5 칩 또는 텍스트란-기반 비드 상에) 본 발명의 단백질을 고정하기 위해 사용될 수 있다. 고정 시약의 조합은 사전혼합 시약 조합으로서 저장되거나 조합의 하나 이상의 고정 시약이 다른 고정 시약과 별도로 저장될 수 있다.
- [0558] 많은 선택할 수 있는 세척 버퍼가 본 기술 분야에 알려져 있으며, 예를 들어, 트리스(하이드록시메틸)아미노메

탄 (트리스)-기반 버퍼(예를 들어, 트리스-완충 염수, TBS) 또는 포스페이트 버퍼(예를 들어, 포스페이트-완충 염수, PBS)가 있다. 세척 버퍼는 이온 또는 비이온 계면활성제와 같은 계면활성제를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 세척 버퍼는 트윈@20(예를 들어, 약 0.05% 트윈@20)을 포함하는 PBS 버퍼(예를 들어, 약 pH 7.4)이다.

[0559] 본 기술분야에 알려진 임의의 희석 버퍼가 본 발명의 키트에 포함될 수 있다. 희석 버퍼는 담체 단백질(예를 들어, 소 혈청 알부민, BSA) 및 계면활성제(예를 들어, 트윈@20)를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 희석 버퍼는 BSA(예를 들어, 약 1% BSA) 및 트윈@20(예를 들어, 약 0.05% 트윈@20)을 포함하는 PBS (예를 들어, 약 pH 7.4)이다 .

[0560] 일부 실시형태에서, 본 발명의 키트는 자동화 분석 시스템을 위한 세정 시약을 포함한다. 자동화 분석 시스템은 임의의 제조사에 의한 시스템을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 자동화 분석 시스템은 예를 들어, 바이오-플래쉬(BIO-FLASH)™, 베스트(BEST) 2000™, DS2™, ELx50 와셔(WASHER), ELx800 와셔, 및 ELx800 리더(READER)를 포함한다. 세정 시약은 본 기술분야에 알려진 임의의 세정 시약을 포함할 수 있다.

[0561] 예를 들어, 제한없이, 핵산 프라이머, 고체 지지체 등과 같은 하나 이상의 시약에 대하여, 상기-열거된 실시형태의 임의의 조합이 또한 본 발명에서 제공되는 다양한 방법 및/또는 키트 중 어느 것에 관련하여 고려됨을 주목한다.

[0562]

[0563] **4. FTI 치료를 위한 바이오마커로서 야생형 K-Ras 및 N-Ras**

[0564] 본 발명은 FTI를 이용한 치료를 위한 암 환자의 선별 방법을 제공하며, 상기 방법은 Ras에서의 돌연변이 상태가 FTI의 임상 효과와 연관되며 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위해 사용될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다. 따라서, 본 발명은 환자로부터의 샘플에서 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 암 환자 개체군 선별 방법, 및 치료적 유효량의 FTI로 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

[0565] **4.1. Ras 돌연변이 상태**

[0566] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras, N-Ras, 또는 둘 모두의 돌연변이 상태에 기초하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.

[0567] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 K-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정된다.

[0568] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다.

[0569] 일부 실시형태에서, K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, K-Ras 돌연변이는 K_B-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras 돌연변이와 K_B-Ras 돌연변이의 조합이다. K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras, K_B-Ras, 또는 둘 모두의 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택된 코돈에서의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, K_A-Ras 돌연변이는 아미노산 치환 G12C, G12D, G12A, G12V, G12S, G12F, G12R, G12N, G13C, G13D, G13R, G13S, G13N, Q61 K, Q61 H, Q61 L, Q61 P, Q61 R 및 A146V로 이루어지는 군으로부터 선택된 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, K_B-Ras 돌연변이는 아미노산 치환 G12C, G12D, G12A, G12V, G12S, G12F, G12R, G12N, G13C, G13D, G13R, G13S, G13N, Q61 K, Q61 H, Q61 L, Q61 P, Q61 R 및 A146V로 이루어지는 군으로부터 선택된 돌연변이를 포함할 수 있다. .

[0570] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이는 N-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12, G13, G15, G60 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택된 코돈에서 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시

태에서, N-Ras 돌연변이는 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12C, G12D, G12F, G12S, G12A, G12V, G12R, G13C, G13R, G13A, G13D, G13V, G15W, G60E, Q61P, Q61L, Q61R, Q61K, Q61H 및 Q61E의 아미노산 치환으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다.

- [0571] 일부 실시형태에서, 샘플은 K-Ras의 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환을 갖지 않으며 또한 N-Ras의 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환을 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 어떤 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이도 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다.
- [0572] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 개체로부터의 샘플에서 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.
- [0573] 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이는 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서의 돌연변이다. 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이는 G12R, G12V, G13C, G13R, Q61L 및 Q61R의 아미노산 치환으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 돌연변이일 수 있다.
- [0574] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras 및 N-Ras의 돌연변이 상태에 기초하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 개체로부터의 샘플에서 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 어떤 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이도 갖지 않으면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 만일 샘플이 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 가지면 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 방법은 H-Ras의 돌연변이 상태를 결정하고, 이어서 만일 개체의 샘플이 어떤 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이도 갖지 않지만 H-Ras 돌연변이를 가지면 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. .
- [0575] 본 발명은 개체로부터의 샘플에서 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 암 환자 개체군 선별 방법, 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 치료를 시작하기 전에 개체로부터의 샘플에서 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 것을 포함한다. K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 갖지 않는 종양 또는 암은 환자가 FTI 치료에 반응성일 가능성이 있음을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 환자는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI 치료를 위해 선별된다. 일부 실시형태에서, 환자는 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI 치료를 위해 선별된다. 일부 실시형태에서, 환자는 H-Ras 돌연변이의 존재를 기초로 추가로 선별된다. Ras의 돌연변이 상태는 핵산 또는 단백질 수준에서 검출될 수 있다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득된 핵산을 분석함으로써 결정된다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득된 단백질을 분석함으로써 결정된다.
- [0576] 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용될 수 있는 기술은 방사성동위원소 또는 형광단-라벨링된 프로브를 이용한 시추 하이브리드화(Stoler, *Clin. Lab. Med.* 12:215- 36 (1990)); 폴리머라제 연쇄 반응(PCR); 정량적 서던 블롯팅, 닛 블롯팅 및 개별 유전자를 정량하기 위한 다른 기술을 포함한다. 일부 실시형태에서, 유전자 증폭 평가를 위해 선별된 프로브 또는 프라이머는 밀접하게 관련된 상동성 유전자를 검출하는 것을 피하기 위하여 고도로 특이적이다. 대안적으로, DNA 듀플렉스, RNA 듀플렉스, 및 DNA-RNA 하이브리드 듀플렉스 또는 DNA-단백질 듀플렉스를 비롯하여, 특정 듀플렉스를 인식할 수 있는 항체가 이용될 수 있다. 항체는 다시 라벨링될 수 있으며 분석은 듀플렉스가 표면에 결합되고 표면 상에 듀플렉스가 형성되면 듀플렉스에 결합된 항체의 존재가 검출될 수 있도록 수행될 수 있다.
- [0577] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득된 핵산을 분석함으로써 결정된다. 핵산은 시험 개체로부터의 mRNA 또는 게놈 DNA 분자일 수 있다. 핵산을 분석함으로써 Ras 돌연변이 상태를 결정하는 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석, 변성 고-성능 액체 크로마토그래피(DHPLC), 또는 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석을 포함한다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 예를 들어, 생거(Sanger) 시퀀싱, 차세대 시퀀싱(NGS)을 비롯한 표준 시퀀싱 방법을 이용하여 결정된다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 MS를 이용하여 결정된다.
- [0578] 일부 실시형태에서, 본 방법은 PCR에 의해 샘플로부터의 Ras 핵산을 증폭시켜 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를

결정하는 것을 포함한다. 예를 들어, 사용될 수 있는 PCR 기술 및 프라이머쌍이 당업자에게 알려져 있다. (예를 들어, Chang *et al.*, *Clinical Biochemistry*, 43 (2010), 296-301; W02015144184호 참고). 예를 들어, 멀티플렉스 PCR은 엑손 2와 3을 위한 유니버설 프라이머 두쌍을 이용하여 N-, H-, 또는 K-Ras 유전자의 엑손 2의 코돈 12와 13 및 엑손 3의 코돈 61을 증폭시키기 위해 이용될 수 있다. 예를 들어, 하기 프라이머가 이용될 수 있다:

서열 번호	엑손	프라이머 서열
21	2	5'-CYKRBKDRMRATGACKGARTAYAARCTKGTGGT -3'
22	2	5'-ACCTCTATDGTKGGRTCRTATTC -3'
23	3	5'-CAGGATTCYTACMGRAARCARGT -3'
24	4	5' - TTKATGGCAAAYACACAVAGRAAGC -3'

[0579]

[0580]

본 명세서에서 사용될 때, 문자는 IUPAC 표기법에 따라 사용되며, 예를 들어, "Y"는 피리미딘을 나타내고, "K"는 케토, 예를 들어, G 또는 C를 나타내며, "R"은 퓨린을 나타내고, "B"는 C, G, 또는 T를 나타내며, "D"는 A, G, 또는 T를 나타내고, "M"은 A, C를 나타내며, "V"는 A, C, 또는 G를 나타낸다.

[0581]

멀티플렉스 PCR 증폭에 이어, 생성물은 PCR-M™ 클린 업 시스템(Clean Up System)(비오진바이오텍 코.(Viogenebiotek Co.), 미국 캘리포니아주 서니베일)을 이용하여 프라이머와 비특이적 데옥시뉴클레오타이드 트리포스페이트를 제거하기 위해 정제될 수 있다. 정제된 DNA는 그 후 0.5X TBE에서 1% 아가로스 젤 상에서 반정량되고 에티듐 브로마이드를 이용한 염색에 의해 가시화될 수 있다. 그 후 생성물은 예를 들어, 하기와 같은, Chang *et al.*, *Clinical Biochemistry* 43 (2010), 296-301에 개시된 프라이머를 이용하여 프라이머 연장 분석을 거칠 수 있다:

서열 번호	RAS	프라이머 서열
25	K	5' -AACTTGTGGTAGTTGGAGCT
26	K	5' -ACTGAATATAAACTTGTGGTAGTTGGAGCTG
27	K	5' -TGAAAATGACTGAATATAAACTTGT GGTAGTTGGAGCTGGT
28	K	5' -GCCTGCTGAAAATGACTGAA TATAAACTTGTGGTAGTTGGAGCTGGTG
29	K	5' -GCAAGTAGTAATTGATGGAGAA ACCTGTCTCTTGGATATTCTCGACACAGCAGGT
30	K	5' -GGAAGCAAGTAGTAATTGATGGAGA AACCTGTCTCTTGGATATTCTCGACACAGCAGGTC
31	K	5' -T ₄₅ ATTCTCGACACAGCAGGTCA
32	N	5' -AACTGGTGGTGGTTGGAGCA-3'
33	N	5' -T ₇ AACTGGTGGTGGTTGGAGCAG-3'
34	N	5' -T ₁₄ CAGTGCCTTTTCCCAACAC-3'
35	N	5' -T ₂₂ GTGGTGGTGGAGCAGGTG-3'

[0582]

36	N	5' -T ₂₉ CTCATGGCACTGTACTCTTCT-3'
37	N	5' -T ₃₆ CTCATGGCACTGTACTCTTCT-3'
38	N	5' -T ₄₃ CTCTCATGGCACTGTACTCTTC-3'
39	H	5' -AGCTGGTGGTGGTGGGCGCC-3'
40	H	5' -T ₇ AGCTGGTGGTGGTGGGCGCCG-3'
41	H	5' -T ₁₄ TGGTGGTGGTGGGCGCCGGC-3'
42	H	5' -T ₂₂ GTGGTGGTGGGCGCCGGCG-3'
43	H	5' -T ₂₉ ACATCCTGGATAACCGCCGGC-3'
44	H	5' -T ₃₆ ACATCCTGGATAACCGCCGGCC-3'
45	H	5' -T ₄₃ CGCATGGCGCTGTACTCCTC-3'

[0583]

[0584]

1.5 μ l의 정제된 PCR 생성물, 및 앰플리타크(AmpliTaq)[®] DNA 폴리머라제 및 형광 라벨링된 디데옥시뉴클레오티드 트리포스페이트(ddNTP)(RGG-라벨링된 디데옥시아데노신 트리포스페이트, TAMRA-라벨링된 디데옥시시티딘 트리포스페이트, ROX-라벨링된 디데옥시티미딘 트리포스페이트, 및 R1 10-라벨링된 디데옥시구아노신 트리포스페이트)를 함유하는 4 μ l의 ABI 프리즘 스냅샷 멀티플렉스 키트(PRISM SNaPshot Multiplex Kit)(어플라이드 바이오시스템즈, 캘리포니아주 포스터 시티)를 함유하는 반응에서 코돈 12, 13 또는 61을 위한 다양한 농도의 프로브가 이용될 수 있다(예를 들어, 0.03 - 0.6 μ M). 이어서, 각 10- μ l 혼합물은 10s 동안 96°C에서의 변성 단계 및 35s 동안 55°C에서 프라이머 어닐링 및 연장으로 이루어지는 25 단일-염기 연장 사이클을 거칠 수 있다. 사이클 연장 후, 비통합 형광 ddNTP는 이어서 1 μ l의 새우 알카라인 포스파타제(유나이티드 스테이츠 바이오케미컬 코.(United States Biochemical Co.), 미국 클리브랜드)와 1h 동안 37°C에서 항온처리 된 후, 15분 동안 75°C에서 효소 불활성화될 수 있다. 프라이머 연장 반응 생성물은 그 후 모세관전기영동 플랫폼에서의 자동화 모세관 전기영동에 의해 분리될 수 있으며, 예를 들어, 14 μ l의 Hi-Di[™] 포름아미드(어플라이드 바이오시스템즈) 및 0.28 μ l의 진스캔(GeneScan)[™]-120LIZ[®] 크기 표준(어플라이드 바이오시스템즈)이 6 μ l의 프라이머 연장 생성물에 첨가되었다. 그 후 모든 샘플이 예를 들어, ABI 프리즘(Prism) 310 DNA 유전자 분석기(어플라이드 바이오시스템즈)에서 진스캔[™] 3.1 (어플라이드 바이오시스템즈)을 이용하여 제조사의 설명서에 따라 분석될 수 있다.

[0585]

본 발명은 FTI 치료로부터 효과를 볼 가능성이 있는 암 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 환자의 종양 샘플로부터 Ras 핵산을 증폭시키고 증폭된 핵산을 시퀀싱하여 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하는 것을 포함한다. 따라서, Ras 핵산은 상기에 개시된 프라이머를 이용하여 증폭되고 시퀀싱될 수 있다. 예를 들어, K-Ras, N-Ras 및 H-Ras 핵산은 상기에 개시된 대로 PCR에 의해 증폭된 후, 예를 들어, 시퀀싱을 위해 토포(TOPO) TA 클로닝 키트(인비트로젠(Invitrogen))를 이용하여 서브클로닝될 수 있다.

[0586]

상기 방법에서, RAS 핵산은 당업자에게 알려진 임의의 방법에 의해 환자의 종양 샘플로부터 수득될 수 있다. 예를 들어, 큐램프(Qlamp) DNA 미니 키트, 또는 알앤이지(RNeasy) 미니 키트(퀴아젠(Qiagen), 독일 힐텐)와 같은 임의의 시판 키트가 게놈 DNA 또는 mRNA를 종양 샘플로부터 분리하기 위하여 이용될 수 있다. 예를 들어, 만일 mRNA가 환자의 종양 샘플로부터 분리되었다면, 본 기술분야에 알려진 임의의 기술에 따라, 본 명세서에 개시된 방법 이전에 cDNA 합성이 수행될 수 있다.

[0587]

예를 들어, 종양으로부터 분리될 핵산은 예를 들어, 게놈 DNA, 전체 RNA, mRNA 또는 폴리(A)+ mRNA 중 하나일 수 있다. 예를 들어, 만일 mRNA가 환자의 종양 샘플로부터 분리되었다면, mRNA(전체 mRNA 또는 폴리(A)+ mRNA)는 예를 들어, 수퍼스크립트(Superscript)[®] III 퍼스트 스트랜드(First Strand) 합성 키트와 같은 시판 cDNA 합성 키트에서 제공되는 것과 같은, 선행 기술에서 잘 확립된 기술에 따라 cDNA 합성을 위해 이용될 수 있다. 그 후 cDNA는 예를 들어, PCR에 의해 추가로 증폭될 수 있으며, 이어서 RAS 유전자, 예를 들어, H-RAS, N-RAS 또는 KRAS의 예를 들어, 코돈 12 및 13의 뉴클레오티드 서열을 결정하기 위하여, 예를 들어, 생거 시퀀싱 또는 파이로-시퀀싱(pyro-sequencing)에 의한 시퀀싱을 거칠 수 있다. 대안적으로, PCR 생성물은 예를 들어, 시퀀싱

을 위해 TA 토포 클로닝 벡터내로 서브클로닝될 수 있다. Ras 돌연변이의 부재 또는 존재를 결정하기 위하여 시퀀싱 외의 다른 기술이 본 발명에서 제공되는 방법에서 이용될 수 있으며, 예를 들어, 단일 뉴클레오티드 프라이머 연장(SNPE)(PLoS One. 2013 Aug 21 ;8(8):e72239); DNA 마이크로어레이, 질량 분석법(MS)(예를 들어, 매트릭스-보조 레이저 탈착/이온화 시간비행(MALDI-TOF) 질량 분석법), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP), 변성 고-성능 액체 크로마토그래피(DHPLC), 또는 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석이 있다.

[0588] 예를 들어, 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석이 샘플 내의 Ras 돌연변이 상태를 결정하기 위해 사용될 수 있다. SNP 분석은 제조사에 의해 제공되는 대립유전자 구별 분석 프로토콜에 따라, 어플라이드 바이오시스템즈로부터의 HT7900에서 수행될 수 있다. Ras 돌연변이 상태는 또한 DHPLC 또는 RFLP, 또는 본 기술분야에 알려진 임의의 다른 방법에 의해 결정될 수 있다. Bowen *et al.*, *Blood*, 106:2113-2119 (2005); Bowen *et al.*, *Blood*, 101:2770-2774 (2003); Nishikawa *et al.*, *Clin Chim Acta.*, 318:107-112 (2002); Lin SY *et al.*, *Am J Clin Pathol.* 100:686-689 (1993); O'Leary JJ *et al.*, *J Clin Pathol.* 51:576-582 (1998).

[0589] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득된 단백질을 분석함으로써 결정된다. 돌연변이된 Ras 단백질은 다양한 면역조직화학(IHC) 방법 또는 본 기술분야에 알려진 다른 면역분석 방법에 의해 검출될 수 있다. 조직 섹션의 IHC 염색은 샘플 내의 단백질의 존재를 평가하거나 검출하는 신뢰성있는 방법인 것으로 나타났다. 면역조직화학 기술은 프로브에 대한 항체를 이용하며 일반적으로 발색 또는 형광 방법에 의해 세포 항원을 인 시추로 가시화한다. 따라서, 돌연변이 K-Ras 또는 N-Ras를 특이적으로 표적화하는, 항체 또는 항혈청, 바람직하게는 다클론 항혈청, 그리고 가장 바람직하게는 단클론 항체가 발현을 검출하기 위해 이용될 수 있다. 하기에 보다 상세히 개시되는 바처럼, 항체는 예를 들어, 방사성 라벨, 형광 라벨, 비오티인과 같은 합텐 라벨 또는 호스래디쉬 퍼옥시다제 또는 알카라인 포스파타제와 같은 효소로 항체 자신을 직접 라벨링함으로써 검출될 수 있다. 대안적으로, 라벨링되지 않은 1차 항체가 1차 항체에 대해 특이적인 항혈청, 다클론 항혈청 또는 단클론 항체를 포함하는 라벨링된 2차 항체와 함께 이용된다. 면역조직화학 프로토콜 및 키트는 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 시판된다. 슬라이드 제조 및 IHC 프로세싱을 위한 자동화 시스템이 시판된다. 벤타나® 벤치마크 XT 시스템이 그러한 자동화 시스템의 예이다.

[0590] 표준 면역학적 및 면역분석 절차는 *Basic and Clinical Immunology* (Stites & Terr eds., 7th ed. 1991)에서 찾을 수 있다. 또한, 면역분석은 여러 형태 중 어느 것으로 수행될 수 있으며, *Enzyme Immunoassay* (Maggio, ed., 1980); 및 상기 Harlow & Lane에서 광범위하게 리뷰된다. 일반적인 면역분석의 리뷰를 위해서는, *Methods in Cell Biology: Antibodies in Cell Biology*, volume 37 (Asai, ed. 1993); *Basic and Clinical Immunology* (Stites & Ten, eds., 7th ed. 1991)를 참고한다.

[0591] K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 검출하기 위한 분석은 비경쟁 분석, 예를 들어, 샌드위치 분석, 및 경쟁 분석을 포함한다. 전형적으로, ELISA 분석과 같은 분석이 이용될 수 있다. ELISA 분석은 예를 들어, 혈액, 혈장, 혈청 또는 골수를 비롯한 매우 다양한 조직 및 샘플의 분석에 대해 본 기술분야에 잘 알려져 있다.

[0592] 그러한 분석 포맷을 이용하는 광범위한 면역분석 기술이 이용가능하며, 예를 들어, 미국 특허 4,016,043호, 4,424,279호, 및 4,018,653호를 참고하며 그들 전체가 참고로 본원에 포함된다. 이들은 전통적 경쟁 결합 분석에서 뿐만 아니라, 비-경쟁 타입의 단일-부위 및 2-부위 또는 "샌드위치" 분석을 포함한다. 이들 분석은 또한 표적 돌연변이 Ras 단백질에 대한 라벨링된 항체의 직접 결합을 포함한다. 샌드위치 분석이 일반적으로 이용된 분석이다. 샌드위치 분석 기술의 많은 변형이 존재한다. 예를 들어, 전형적인 진행 분석에서는, 라벨링되지 않은 항체가 고체 기질 상에 고정되고, 시험될 샘플이 결합된 분자와 접촉된다. 항체-항원 복합체의 형성을 허용하기에 충분한 시간 동안 적절한 항온처리 기간 후에, 검출가능한 시그널을 생산할 수 있는 리포터 분자로 라벨링된, 항원에 특이적인 2차 항체가 첨가되고 항체-항원-라벨링된 항체의 또 다른 복합체의 형성에 충분한 시간을 허용하면서 항온처리된다. 임의의 미반응 물질은 세척하여 제거되고, 항원의 존재는 리포터 분자에 의해 생산된 시그널의 관찰에 의해 결정된다. 결과는 가시적 시그널의 단순 관찰에 의해 정량적이거나, 대조군 샘플과의 비교에 의해 정량될 수 있다.

[0593] 진행 분석에 대한 변화는 샘플과 라벨링된 항체 둘 모두가 결합된 항체에 동시에 첨가되는 동시 분석을 포함한다. 이들 기술은 용이하게 명백할 임의의 작은 변화를 비롯하여 당업자에게 잘 알려져 있다. 전형적인 진행 샌드위치 분석에서는, 돌연변이 Ras 단백질에 대한 특이성을 가진 제1 항체가 고체 표면에 공유적으로 또는 수동적으로 결합된다. 고체 표면은 유리 또는 중합체일 수 있으며, 가장 일반적으로 사용되는 중합체는 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드, 또는 폴리프로필렌이다. 고체 지지체는 튜브, 비드, 미세플레이트의 디스크, 또는 면역분석을 수행하기에 적합한 임의의 다른 표면의 형태일 수 있다. 결합 과

정은 본 기술분야에서 잘 알려져 있으며 일반적으로 가교, 공유 결합 또는 물리적 흡착으로 이루어지며, 중합체-항체 복합체는 시험 샘플 제조에서 세척된다. 시험될 샘플 분액이 그 후 고체상 복합체에 첨가되고 항체에 존재하는 임의의 서브유닛의 결합을 허용하기에 충분한 시간(예를 들어, 2-40분 또는 더 편리하면 밤새)동안 그리고 적합한 조건하에서(예를 들어, 25°C 내지 32°C와 같은 실온 내지 40°C)에서 항온처리된다. 항온처리 기간 후, 항체 서브유닛 고체상은 세척되고 건조되고 돌연변이 Ras 단백질 부분에 대해 특이적인 2차 항체로 항온처리된다. 2차 항체는 돌연변이 Ras 단백질에의 2차 항체의 결합을 나타내기 위해 사용되는 리포터 분자에 연결된다.

[0594] 일부 실시형태에서, 유세포분석(FACS)은 돌연변이 K-Ras 또는 N-Ras를 특이적으로 표적화하는 항체를 이용하여 돌연변이 K-Ras 또는 N-Ras를 검출하기 위하여 사용될 수 있다. 유세포분석기는 돌연변이 K-Ras 또는 N-Ras의 존재를 나타내는 형광색소-태그를 가진 항체의 강도를 검출하고 보고한다. 비-형광 세포질 단백질 또한 투과성이 된 세포의 염색에 의해 관찰될 수 있다. 염색은 일부 분자에 결합할 수 있는 형광 화합물, 또는 선택 분자에 결합하는 형광색소-태그를 가진 항체일 수 있다.

[0595] 대안적 방법은 샘플 내의 표적 Ras 단백질을 고정시킨 후, 고정된 표적을 리포터 분자로 라벨링되거나 라벨링되지 않을 수 있는 돌연변이 특이적 항체에 노출시키는 것을 포함한다. 표적의 양 및 리포터 분자 시그널의 강도에 따라, 결합된 표적은 항체를 이용한 직접 라벨링에 의해 검출가능할 수 있다. 대안적으로, 1차 항체에 특이적인, 라벨링된 2차 항체가 표적-제1 항체 복합체에 노출되어 표적-1차 항체-2차 항체 3원 복합체를 형성한다. 복합체는 라벨링된 리포터 분자에 의해 방출되는 시그널에 의해 검출된다.

[0596] 효소 면역분석의 경우에, 효소는 일반적으로 글루타르알데히드 또는 페리오데이트에 의해, 2차 항체에 접합된다. 하지만, 쉽게 인식될 것처럼, 매우 다양한 상이한 접합 기술이 존재하며, 당업자가 용이하게 이용 가능하다. 일반적으로 사용되는 효소는 호스래디쉬 퍼옥시다제, 글루코스 옥시다제, 베타-갈락토시다제 및 알카라인 포스파타제를 포함하며, 다른 것들이 본 명세서에서 토의된다. 특정 효소와 사용될 기질은 일반적으로 상응하는 효소에 의한 가수분해시에 검출가능한 색상 변화의 생산을 위해 선택된다. 적합한 효소의 예는 알카라인 포스파타제 및 퍼옥시다제를 포함한다. 상기에 개시한 발색 기질이 아닌 형광 생성물을 생성하는 형광원 기질을 이용하는 것도 가능하다. 모든 경우에, 효소-라벨링된 항체가 1차 항체-분자 마커 복합체에 첨가되어 결합된 후, 과량의 시약은 세척하여 제거된다. 적절한 기질을 함유한 용액이 그 후 항체-항원-항체의 복합체에 첨가된다. 기질은 2차 항체에 연결된 효소와 반응하여, 정성적인 시각 시그널을 생성할 것이며, 이는 보통 분광광도법에 의해 추가로 정량되어 샘플 내에 존재했던 돌연변이 Ras 단백질의 양의 지표를 제공할 수 있다. 대안적으로, 플루오르세인 및 로다민과 같은 형광 화합물이 항체의 결합 성능의 변경없이 항체에 화학적으로 결합될 수 있다. 특정 파장의 광의 조사에 의해 활성화될 경우, 형광색소-라벨링된 항체는 광에너지를 흡착하여, 분자내의 상태가 여기된 후 광현미경으로 시각적으로 검출가능한 특징적 색상의 빛의 방출을 유도한다. EIA에서처럼, 형광 라벨링된 항체는 1차 항체-분자 마커 복합체에 결합하게 된다. 미결합 시약의 세척 후, 나머지 3원 복합체는 그 후 적절한 파장의 빛에 노출되며, 관찰된 형광은 관심 분자 마커의 존재를 나타낸다. 면역형광 및 EIA 기술은 본 기술분야에서 잘 확립되어 있으며 본 명세서에서 개시된다.

[0597] 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태의 결정은 FTI 치료에 대한 동반 진단으로서 수행된다. 동반 진단은 개체가 치료되는 병원에서 수행될 수 있다. 동반 진단은 또한 개체가 치료되는 병원으로부터 떨어진 곳에서 수행될 수 있다.

[0598] 당업자가 이해할 것처럼, 본 발명에서 제공되는 방법은 환자로부터의 샘플 내의 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 암 환자 개체군의 선별 방법, 및 치료적 유효량의 FTI로 개체에서 암을 치료하는 방법이다. Ras의 돌연변이 상태를 결정하기 위한 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 임의의 방법이 본 방법에서 적용될 수 있다.

[0599] **4.2. 샘플**

[0600] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 개체로부터 샘플을 수득하는 것을 포함한다. 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 개체로부터의 체액을 포함한다. 체액의 비제한적인 예는 혈액(예를 들어, 말초 전혈, 말초 혈액), 혈액 혈장, 골수, 양수, 방수, 담즙, 림프액, 월경, 혈청, 소변, 뇌와 척수를 둘러싸는 뇌척수액, 골관절을 둘러싸는 윤활액을 포함한다.

[0601] 일 실시형태에서, 샘플은 골수 샘플이다. 골수 생검 및 골수 흡입을 포함하며 이에 제한되지 않는 골수 샘플을 수득하기 위한 절차는 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 골수는 유체 부분과 보다 고체인 부분을 가진다. 골수 생

검에서는 고체 부분의 샘플이 취해진다. 골수 흡입에서는, 유체 부분의 샘플이 취해진다. 골수 생검 및 골수 흡입은 동시에 이루어질 수 있으며 골수 검사로 불린다.

- [0602] 일부 실시형태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 혈액 샘플은 예를 들어, Innis *et al*, editors, PCR Protocols (Academic Press, 1990)에 개시된 대로 종래 기술을 이용하여 수득될 수 있다. 백혈구는 종래 기술 또는 시판 키트, 예를 들어, 로제트셉 키트(스테인 셀 테크놀로지스, 캐나다 밴쿠버)를 이용하여 혈액 샘플로부터 분리될 수 있다. 백혈구의 하위-집단, 예를 들어, 단핵 세포, NK 세포, B 세포, T 세포, 단핵구, 과립구 또는 림프구는 종래 기술, 예를 들어, 자기적 활성화 세포 분류(MACS)(밀테니 바이오텍, 캘리포니아주 오번) 또는 형광 활성화 세포 분류(FACS)(백톤 디킨슨, 캘리포니아주 샌호세)를 이용하여 추가로 분리될 수 있다.
- [0603] 일 실시형태에서, 혈액 샘플은 약 0.1 mL 내지 약 10.0 mL, 약 0.2 mL 내지 약 7 mL, 약 0.3 mL 내지 약 5 mL, 약 0.4 mL 내지 약 3.5 mL, 또는 약 0.5 mL 내지 약 3 mL이다. 다른 실시형태에서, 혈액 샘플은 약 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 또는 10.0 mL이다.
- [0604] 일부 실시형태에서, 본 방법에서 사용되는 샘플은 생검(예를 들어, 종양 생검)을 포함한다. 생검은 임의의 기관 또는 조직, 예를 들어, 피부, 간, 폐, 심장, 결장, 신장, 골수, 치아, 림프절, 모발, 비장, 뇌, 유방, 또는 다른 기관으로부터 올 수 있다. 당업자에게 알려진 임의의 생검 기술이 개체로부터 샘플을 분리하기 위해 이용될 수 있으며, 예를 들어, 개방 생검, 폐쇄 생검, 총 생검, 절개 생검, 절제 생검, 또는 세침흡인생검이 있다.
- [0605] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 복수개의 세포를 포함한다. 그러한 세포는 임의의 타입의 세포, 예를 들어, 줄기 세포, 혈액 세포(예를 들어, PBMC), 림프구, NK 세포, B 세포, T 세포, 단핵구, 과립구, 면역 세포 또는 종양 또는 암 세포를 포함할 수 있다. 구체적 세포 집단은 시판되는 항체의 조합을 이용하여 수득될 수 있다(예를 들어, 퀘스트 다이아그노스틱(캘리포니아주 샌 후안 카피스트라노); 다코(덴마크)).
- [0606] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 질병 조직으로부터 오며, 예를 들어, 암(예를 들어, 림프종, MDS 또는 백혈병)을 가진 개인으로부터 온다. 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서, 세포는 종양 생검 또는 종양 외식편과 같은, 종양 또는 암세포 또는 종양 조직으로부터 수득될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 세포의 수는 단일 세포 내지 약 10^9 세포 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 세포의 수는 약 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 또는 5×10^8 이다.
- [0607] 개체로부터 수집된 세포의 수와 타입은 예를 들어, 유세포분석, 세포 분류, 면역세포화학(예를 들어, 조직 특이적 또는 세포-마커 특이적 항체를 이용한 염색), 형광 활성화 세포 분류(FACS), 자기 활성화 세포 분류(MACS)와 같은 표준 세포 검출 기술을 이용한 형태 변화 및 세포 표면 마커 측정에 의해, 광 또는 공초점 현미경을 이용한 세포 형태 검사에 의해, 및/또는 PCR 및 유전자 발현 프로파일링과 같은 본 기술분야에 잘 알려진 기술을 이용한 유전자 발현 변화 측정에 의해, 모니터링될 수 있다. 이들 기술은 또한 하나 이상의 특정 마커에 대해 양성인 세포를 동정하기 위해 이용될 수 있다. 형광 활성화 세포 분류(FACS)는 입자의 형광 특성에 기초하여, 세포를 비롯한 입자를 분리하는 잘 알려진 방법이다(Kamarch, 1987, Methods Enzymol, 151:150-165). 개별 입자에서 형광 모이어티의 레이저 여기는 작은 전하를 야기하여 혼합물로부터 양성 및 음성 입자의 전자기적 분리를 가능하게 한다. 일 실시형태에서, 세포 표면 마커-특이적 항체 또는 리간드는 구별되는 형광 라벨로 라벨링된다. 세포는 세포 분류기를 통해 처리되어, 그들이 이용된 항체에 결합하는 능력에 기초하여 세포가 분리된다. FACS 분류된 입자는 분리 및 클로닝을 촉진하기 위하여 96-웰 또는 384-웰 플레이트의 개별 웰 내로 직접적으로 침착될 수 있다.
- [0608] 일부 실시형태에서, 세포 서브셋이 본 발명에서 제공되는 방법에서 이용된다. 특정 세포 집단을 분류하고 분리하는 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 세포 크기, 형태 또는 세포내 또는 세포외 마커에 기초할 수 있다. 그러한 방법은 유세포분석, 유동 분류(flow sorting), FACS, 비드 기반 분류, 예를 들어, 자기 세포 분류, 크기-기반 분리(예를 들어, 체, 장애물 어레이, 또는 필터), 미소유체역학 장치에서 분류, 항체-기반 분리, 침강, 친화성 흡착, 친화성 추출, 밀도 구배 원심분리, 레이저 포획 미세해부 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0609] 샘플은 전혈 샘플, 골수 샘플, 부분 정제 혈액 샘플, 또는 PBMC일 수 있다. 샘플은 조직 생검 또는 종양 생검일

수 있다. 일부 실시형태에서, 샘플은 암 환자로부터의 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 암 환자로부터의 PBMC이다.

[0610] **4.3 암**

[0611] 본 발명은 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI를 이용하여 개체에서 암을 치료하는 방법 및 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 암은 조혈 암 또는 고형 종양일 수 있다. 본 발명은 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI를 이용하여 개체에서 전암 상태를 치료하는 방법 및 FTI 치료를 위한 전암 상태 환자를 선별하는 방법을 제공한다.

[0612] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI를 이용하여 고형 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 고형 종양은 보통 낭종 또는 액체 영역을 함유하지 않는 비정상 조직 덩어리이다. 고형 종양은 양성 또는 악성일 수 있다. 상이한 타입의 고형 종양은 그들을 형성하는 세포 타입을 따라 명명된다(예를 들어, 육종, 암종 및 림프종). 본 발명의 방법으로 치료될 고형 종양은 육종 및 암종일 수 있으며 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종 및 기타 육종, 활막종, 증피종, 유잉종양, 평활근종양, 횡문근육종, 결장 암종, 악성 림프종, 췌장암, 유방암, 폐암, 난소암, 전립선암, 간세포 암종, 편평세포 암종, 기질세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 갑상선 수질암, 유두갑상선암종, 갈색세포종 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간암종, 담관 암종, 용모암, 윌름 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 정상피종, 방광 암종, 흑색종, 및 CNS 종양(예를 들어, 신경교종(예를 들어, 뇌간 교종 및 혼합 신경교종), 교모세포종(다형성 신경교아종으로도 알려짐), 성상세포종, CNS 림프종, 배아종, 수모세포종, 신경초종 두개인두종, 상의세포종, 송과체부종양, 혈관모세포종, 청신경종, 핏지교종, 뇌수막종, 신경아세포종, 망막아세포종 및 뇌전이)를 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0613] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI를 이용하여 고형 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 이때 고형 종양은 악성 흑색종, 부신 암종, 유방 암종, 신장 세포암, 췌장의 암종, 비소세포 폐 암종(NSCLC) 또는 원발 부위 불명암이다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 다양한 타입 또는 단계의 고형 종양을 가진 환자에게 일반적으로 투여되는 약물은 세레브렉스, 에토포시드, 시클로포스파미드, 도세탁셀, 아페시타빈, IFN, 타목시펜, IL-2, GM-CSF, 또는 그 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0614] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료될 고형 종양은 갑상선암, 두경부암, 요로암, 침샘암, 상부 소화관의 암, 방광암, 유방암, 난소암, 뇌암, 위암, 전립선암, 폐암, 결장암, 피부암, 간암 및 췌장암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 방광암은 이행 세포 암종일 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0615] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 고형 종양은 암종, 흑색종, 육종 또는 만성 육아종 병으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0616] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 전암 상태는 광선입술염, 바렛 식도, 위축성 위염, 유관상피내암, 선천성 이상각화증, 철부족성 연하곤란, 편평 태선, 경구 점막하 섬유증, 일광탄력 섬유증, 자궁경부 이형성, 폴립, 백반증, 홍반증, 편평 상피내 병변, 전암 질환, 또는 전암 면역증식성 질환일 수 있다.

[0617] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI를 이용하여 개체에서 조혈 암을 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 조혈 암은 혈액 또는 골수의 암이다. 혈액(또는 조혈성) 암의 예는 골수증식성 신생물(MPN), 골수이형성 증후군(MDS), 백혈병, 및 림프종을 포함한다. 일부 실시형태에서, 암은 급성 골수성 백혈병 (AML), 천연킬러 세포 림프종(NK 림프종), 천연킬러 세포 백혈병(NK 백혈병), 피부 T-세포 림프종(CTCL), 연소성 골수단핵구성 백혈병(JMML), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML)이다. 일부 실시형태에서, 암은 CMML이다. 일부 실시형태에서, 암은 JMML이다.

[0618] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 결핍에 기초하여 FTI를 이용하여 개체에서 CMML을 치료하거나 FTI 치료를 위한 CMML 환자를 선별하는 방법을 제공한다. CMML은 조혈 종양의 2008 세계 보건 기구 분류에 의해 골수이형성/골수증식성 신생물로서 분류된다. CMML은 골수이형성 CMML 또는 골수증식성 CMML일 수 있다. CMML 환자는 그들의 혈액에서 높은 수의 단핵구를 가진다(적어도 1,000/mm³). 두 부류-골수이형성 및 골수증식성-는 백혈구 수 수준을 기초로 구별되었다(역치 13 G/L). 종종, 단핵구 수가 훨씬 높아져, 그

들의 총 백혈구 수 또한 매우 높게 되도록 한다. 보통 골수에 비정상 세포가 있으나, 아세포의 양은 20% 미만이다. CMML 환자의 약 15% 내지 30%가 급성 골수성 백혈병으로 발달한다. CMML의 진단은 골수에서의 형태적, 조직 병리학적 그리고 염색체 이상의 조합에 의존한다. 마요(Mayo) 예상 모델은 CMML 환자를 증가된 절대적 단핵구 수, 순환 아세포의 존재, 헤모글로빈 <math><10\text{ gm/dL}</math> 및 혈소판 <math><100 \times 10^9/L</math>에 기초하여 세 가지 위험 그룹으로 분류하였다. 중앙값 생존기간은 각각 저, 중간 및 고-위험 그룹에서 32개월, 18.5개월 및 10개월이었다. 그룹 프랑코폰 데(GFM) 점수는 CMML 환자를 >65세의 연령, WBC >math>15 \times 10^9/L</math>, 빈혈, 혈소판 <math><100 \times 10^9/L</math>, 및 ASXL1 돌연변이 상태에 기초하여 세 가지 위험 그룹으로 분리하였다. 2.5년의 중앙값 추적 후, 생존기간은 저-위험 그룹에서의 미도달 내지 고-위험 그룹에서의 14.4개월 범위였다.

[0619] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 만일 샘플이 K-Ras 돌연변이가 결핍되고 N-Ras 돌연변이가 결핍되는 것으로 결정되면 개체에 대해 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다.

[0620] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 K-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 만일 샘플이 K-Ras 돌연변이가 결핍되는 것으로 결정되면 개체에 대해 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정된다.

[0621] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 만일 샘플이 N-Ras 돌연변이가 결핍되는 것으로 결정되면 개체에 대해 치료적 유효량의 FTI를 투여함으로써 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다.

[0622] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 만일 샘플이 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정되면 개체에 대해 티피파르닙을 투여함으로써 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0623] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 MDS를 치료하거나 FTI 치료를 위한 MDS 환자를 선별하는 방법을 제공한다. MDS는 조혈 줄기 세포 질환의 다양한 그룹을 말한다. MDS는 손상된 형태와 성숙(골수조혈 손상)을 가진 모수, 낮은 혈구 수 또는 혈구감소증(빈혈, 백혈구감소증 및 혈소판감소증 포함)을 유도하는 비효율적인 혈구 생산, 또는 조혈작용, 및 비효율적인 혈구 생산으로부터 야기되는 급성 골수성 백혈병으로의 진행의 고위험을 특징으로 할 수 있다. The Merck Manual 953 (17th ed. 1999) 및 List *et al.*, 1990, *J Clin. Oncol.* 8:1424를 참고한다.

[0624] MDS는 적어도 1) 증가된 수의 아세포가 골수 또는 혈액에 존재하는지 여부 및 골수 또는 혈액의 몇 퍼센트가 이들 아세포로 이루어지는지; 2) 골수가 단지 한 가지 타입의 혈액 세포에서(단일계통 이형성) 또는 하나 보다 많은 혈액 세포 타입에서(다중계통 이형성) 비정상적 성장(이형성)을 나타내는지; 및 3) 골수 세포에 염색체 이상이 있는지 여부 그리고 만일 있다면, 어떤 타입의 이상인지에 따라 많은 서브타입으로 나뉠 수 있다. MDS는 또한 암세포의 표면 마커에 기초하여 분류될 수 있다. 세계 보건 기구에 따르면, MDS 서브타입은 불응성 빈혈, 불응성 호중구감소증 또는 불응성 혈소판감소증으로도 알려진, 단일계통 이형성(RCUD)을 가진 불응성 혈구감소증; 환상철적혈모구를 가진 불응성 빈혈(RARS); 만일 다중계통 이형성 및 환상철적혈모구 둘 모두가 존재한다면 RCMD-RS를 포함하는, 다중계통 이형성을 가진 불응성 혈구감소증(RCMD); 과다 아세포-1을 가진 불응성 빈혈(RAEB-1) 및 과다 아세포-2를 가진 불응성 빈혈(RAEB-2)(이들 서브타입은 환자가 적어도 5% (RAEB-1) 또는 적어도 10%(RAEB-2) 그러나 20% 미만인 아세포를 그들의 골수에 가짐을 의미함); 염색체 5의 분리된 비정상과 연합된 MDS[del(5q)]; 및 분류불가능한 MDS(MDS-U)를 포함한다.

[0625] 상당한 질병이환과 사망을 가진 조혈 줄기 세포 암의 그룹으로서, MDS는 매우 이질적인 질병이며, 증상의 심각성 및 질병 진행은 환자 간에 광범위하게 변할 수 있다. 위험 계층화 및 치료 옵션을 평가하기 위한 현재의 표준 임상 도구는 개정 국제 예후 점수 시스템, 즉 IPSS-R이다. IPSS-R은 환자를 세포유전학, 골수에서 아세포(미분화된 혈구)의 백분율, 헤모글로빈 수준 및 혈소판과 호중구 수에 기초하여 5가지 위험 그룹(초저, 저, 중간, 고, 초고)으로 나눈다. WHO는 또한 del(5q) 비정상에 의해 MDS 환자를 계층화하는 것을 제안하였다.

[0626] ACS에 따라, MDS의 연간 발병률은 미국에서 대략 13,000명의 환자이며, 그 대다수는 60세 이상이다. 추정된 유행률은 미국에서 60,000명의 환자를 넘는다. 환자의 대략 75%가 종합적으로 보다 저위험 MDS로 알려진 초저, 저

및 중간의 IPSS-R 위험 카테고리내에 해당한다.

- [0627] 초기 조혈 줄기 세포 손상은 세포독성 화학요법, 방사선, 바이러스, 화학적 노출, 및 유전적 소인과 같은 그러나 이에 제한되지 않는 요인들로부터 올 수 있다. 클론 돌연변이가 골수에 비해 우세하여, 건강한 줄기 세포를 억제한다. MDS의 초기 단계에서, 혈구감소증의 주요 원인은 증가된 프로그램된 세포 사멸(어팍토시스)이다. 질병이 진행되고 백혈병으로 전환됨에 따라, 유전자 돌연변이는 드물게 발생하며 백혈병 세포의 증식이 건강한 골수를 제압한다. 질병 과정은 상이하여, 일부 경우는 지연형 질병으로 거동하고 다른 경우는 매우 짧은 임상 과정으로 공격적으로 거동하여 급성 백혈병 형태로 전환한다.
- [0628] 국제 혈액학자 단체인 프랑스-미국-영국(FAB) 협력 그룹은 MDS 질환을 AML로부터 구별되는, 5가지 서브그룹으로 분류하였다. *The Merck Manual* 954 (17th ed. 1999); Bennett J. M., et al., *Ann. Intern. Med.* 1985 October, 103(4): 620-5; 및 Besa E. C., *Med. Clin. North Am.* 1992 May, 76(3): 599-617. 환자의 골수 세포에서 근본적인 삼계통 이형성 변화가 모든 서브타입에서 발견된다.
- [0629] 골수에서 5% 이하의 골수아세포를 특징으로 하는 불응성 빈혈의 두 가지 서브그룹이 있다: (1) 불응성 빈혈(RA) 및; (2) 미토콘드리아에서 비정상적인 철 축적을 반영하여, 비정상 환상적철모구를 가진 적혈구 세포 15%를 갖는 것으로 형태학적으로 정의되는, 환상적철모구를 가진 RA(RARS). 둘 모두 연장된 임상 과정 및 낮은 급성 백혈병으로의 진행률을 가진다. Besa E. C., *Med. Clin. North Am.* 1992 May, 76(3): 599-617.
- [0630] 5% 초과 골수아세포를 가진 불응성 빈혈의 서브그룹이 두 가지 있다: (1) 6-20% 골수아세포로서 정의된, 과다한 아세포를 가진 RA(RAEB), 및 (2) 21-30% 골수아세포를 가진, 형질전환을 동반한 RAEB(RAEB-T). 골수아세포의 백분율이 높을수록, 임상 과정이 더 짧고 질병이 급성 골수성 백혈병에 더 가깝다. 초기 단계에서 보다 진행된 단계로의 환자 이행은 이들 서브타입이 구별되는 실체가 아니라 단지 질병의 단계들임을 나타낸다. 삼계통 이형성증 및 30% 초과 골수아세포를 가진 MDS를 가지며 급성 백혈병으로 진행되는 노인 환자는 종종 나쁜 예후를 갖는 것으로 생각되며 그 이유는 화학요법에 대한 그들의 반응률이 처음부터 급성 골수성 백혈병인 환자보다 낮기 때문이다. 분류하기 가장 어려운 다섯번째 MDS 타입은 CMML이다. 이 서브타입은 임의의 백분율의 골수아세포를 가질 수 있으나 1000/dL 이상의 단구증가증을 가진다. 이것은 비장비대증과 관련될 수 있다. 이 서브타입은 골수증식성 질환과 중복되며 중간 임상 과정을 가질 수 있다. 이것은 음성 Ph 염색체를 특징으로 하는 전통적 CML로부터 구별된다.
- [0631] MDS는 주로 노인의 질병이며, 발병 중앙값은 수명의 70대이다. 이들 환자의 중앙 연령은 65세이며, 연령은 30대 초반부터 80세 이상의 범위이다. 이 증후군은 소아 개체군을 비롯한 어느 연령 그룹에서든 발생할 수 있다. 방사선요법과 함께, 또는 방사선요법없이, 알킬화제를 이용한 암 치료에서 생존하는 환자는 MDS 또는 이차적 급성 백혈병을 일으킬 가능성이 높다. 환자의 약 60-70%가 MDS에 대한 명백한 노출 또는 원인을 갖지 않으며, 원발성 MDS 환자로서 분류된다.
- [0632] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 MPN을 치료하거나 FTI 치료를 위한 MPN 환자를 선별하는 방법을 제공한다. MPN은 혈구 형성에 영향을 주는 질병 그룹이다. 모든 형태의 MPN에서, 골수 내의 줄기 세포는 그들이 비정상적으로 성장하고 생존하도록 하는 유전적 결함(후천성 결함으로 불림)을 일으킨다. 그 결과 골수(과세포성 골수) 및 혈류에서 혈구 수가 비정상적으로 많아진다. 때로는 MPN에서, 비정상 줄기 세포가 골수에서 골수섬유증으로 불리는, 흉터를 야기한다. 골수섬유증은 낮은 수준의 혈구, 특히 낮은 수준의 적혈구(빈혈)를 유도할 수 있다. MPN에서, 비정상 줄기 세포는 또한 비장에서 성장하여, 비장이 비대해지도록 하고(비장비대증), 골수 밖의 다른 부위에서는 다른 기관의 비대를 야기할 수 있다.
- [0633] 영향받은 세포에 기초하여, 여러가지 타입의 만성 MPN이 있다. 세 가지 전통적인 타입의 MPN은 너무 많은 RBC가 있는 진성 적혈구증가증(PV); 너무 많은 혈소판이 있는 필수 혈소판증가증(ET); 섬유아 아세포(비정상 줄기 세포)가 골수에 축적되는 일차성 골수섬유증(PMF)을 포함한다. 다른 타입의 MPN은 너무 많은 백혈구가 있는 만성 골수성 백혈병; 너무 많은 호중구가 있는 만성 호중구성 백혈병; 달리 특정되지 않으면, 너무 많은 호산구가 있는 만성 호산구성 백혈병(과다호산구증가증); 혈류가 아닌, 피부 및 소화기관같은 조직에서 발견되는 면역계 세포 타입인 비만 세포가 너무 많은, 비만 세포 질병으로도 불리는 비만 세포증; 호산구증가증 및 PDGFRA, PDGFRB, 및 FGFR1 유전자의 비정상을 가진 골수 및 림프 신생물; 및 다른 분류가능하지 않은 골수증식성 신생물을 포함한다.
- [0634] 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI를 이용하여 개체에서 백혈병을 치료하거나 FTI 치료를 위한 백혈병 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 백혈병은 혈액-형성 조직의 악성 신생물을 말한다. 다양한 형태의 백혈병이 예를 들

어, 미국 특허 7,393,862호 및 2002년 5월 17일에 출원된 미국 특허 출원 60/380,842호에 개시되며, 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 바이러스가 동물에서 여러 형태의 백혈병을 일으킨다는 보고가 있지만, 인간에서 백혈병의 원인은 대부분 알려져 있지 않다. *The Merck Manual*, 944-952 (17th ed. 1999). 악성종양으로의 전환은 전형적으로 두 단계 이상을 통해 단일 세포에서 발생하며 증식과 클론 확장이 후속된다. 일부 백혈병에서, 특정 염색체 전좌가 일관된 백혈병 세포 형태 및 특별한 임상 특징에서 확인되었다(예를 들어, 만성 골수성 백혈병에서 9 및 22의 전좌, 및 급성 전골수성 백혈병에서 15 및 17의 전좌). 급성 백혈병은 주로 미분화 세포 집단이며 만성 백혈병은 더욱 성숙된 세포 형태이다.

[0635] 급성 백혈병은 림프구성(ALL) 및 비-림프구성(ANLL) 타입으로 나뉜다. *The Merck Manual*, 946-949 (17th ed. 1999). 그들은 프랑스-미국-영국(FAB) 분류에 따라 또는 그들의 타입과 분화 정도에 따라 그들의 형태 및 세포 화학적 외관에 의해 추가로 세분된다. 특정 B- 및 T-세포 및 골수-항원 단클론 항체의 이용이 분류에 가장 도움이 된다. ALL은 주로 실험실 발견 및 골수 검사에 의해 확립되는 아동기 질병이다. 급성 골수성 백혈병 또는 AML로도 알려진 ANLL은 모든 연령에서 발생하며 성인에서 보다 일반적인 급성 백혈병이며; 보통 원인 제제로서 조사와 연관된 형태이다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 FTI로 AML 환자를 치료하는 방법, 또는 FTI 치료를 위한 환자를 선별하는 방법을 제공한다.

[0636] AML 환자를 치료하는 표준 절차는 보통 2 화학요법(케모) 단계를 포함한다: 관해 유도(또는 유도) 및 공고요법(관해 후 요법). 치료의 첫번째 부분(관해 유도)은 가능한 많은 백혈병 세포를 제거하는 것을 목표로 한다. 치료의 강도는 사람의 연령과 건강에 의존할 수 있다. 강한 화학요법은 종종 60세 미만의 사람들에게 주어진다. 건강 상태가 좋은 일부 더 나이 많은 환자들은 유사하거나 약간 덜 강한 치료에서 효과를 볼 수 있다. 훨씬 더 나이가 많거나 건강이 나쁜 사람은 강한 화학요법에 적합하지 않다.

[0637] 60세 미만의 환자와 같은 더 젊은 환자에서는, 유도는 종종 2가지 화학요법 약물, 시타라빈(아라-C) 및 안트라사이클린 약물, 예를 들어, 다우노루비신(다우노마이신) 또는 이다루비신으로 치료하는 것에 관련된다. 때로는 세번째 약물인 클라드리빈(류스타틴, 2-CdA)이 또한 주어진다. 화학요법은 보통 병원에서 주어지며 약 1주일 지속된다. 백혈병이 뇌 또는 척수로 퍼진 드문 경우에는, 화학요법이 또한 뇌척수액(CSF) 내로 주어질 수 있다. 방사선 요법이 또한 사용될 수 있다.

[0638] 만일 관해가 이루어지면 유도는 성공한 것으로 간주된다. 하지만, 일부 환자에서 AML은 유도에 대해 불응성일 수 있다. 유도에 반응하는 환자에서는, 이어서 남은 백혈병 세포를 파괴하고 재발 방지를 돕기 위하여 추가 치료가 주어지며, 이는 공고 요법으로 불린다. 더 젊은 환자의 경우, 공고 요법을 위한 주요 옵션은 여러 사이클의 고-투여량 시타라빈(아라-C) 화학요법(때로는 HiDAC으로 알려짐); 동종이계(공여체) 줄기 세포 이식; 및 자가 줄기 세포 이식이다.

[0639] 만성 백혈병은 림프구성(CLL) 또는 골수성(CML)으로 개시된다. *The Merck Manual*, 949-952 (17th ed. 1999). CLL은 혈액, 골수 및 림프 기관에서 성숙 림프구의 출현을 특징으로 한다. CLL의 특징은 지속적이고 절대적인 림프구증가증($> 5,000/\mu\text{L}$) 및 골수에서 림프구 증가이다. 대부분의 CLL 환자는 또한 B-세포 특징을 가진 림프구의 클론 확장을 갖는다. CLL은 중년 또는 노년의 질병이다. CML에서, 특징적인 특성은 혈액, 골수, 간, 비장 및 다른 기관에서 모든 분화 단계의 과립구 세포의 우위이다. 진단시에 증상이 있는 환자에서는, 전체 백혈구(WBC) 수가 보통 약 $200,000/\mu\text{L}$ 이지만, $1,000,000/\mu\text{L}$ 에 이를 수 있다. CML은 필라델피아 염색체의 존재 때문에 상대적으로 진단이 용이하다. 골수 기질 세포는 CLL 질병 진행 및 화학요법에 대한 저항성을 지원하는 것으로 잘 알려져 있다. CLL 세포와 기질 세포 간의 상호작용을 파괴하는 것은 CLL 화학요법의 추가적인 표적이다.

[0640] 부가적으로, 다른 형태의 CLL은 전림프구성 백혈병(PLL), 대형 과립 림프구성(LGL) 백혈병, 모양 세포성 백혈병(HCL)을 포함한다. PLL의 암세포는 전림프구로 불리는 정상 세포와 유사하다- B 림프구(B-PLL) 또는 T 림프구(T-PLL)의 미성숙 형태. B-PLL 및 T-PLL 둘 모두가 일반적 CLL 타입보다 더욱 공격적인 경향이 있다. LGL의 암세포는 크며 T 세포 또는 NK 세포의 특징을 가진다. 대부분의 LGL 백혈병은 느리게-성장하지만, 소수는 더욱 공격적이다. HCL은 느리게 진행하는 경향이 있으며 모든 백혈병의 약 2%를 차지하는 다른 림프구 암이다. 암 세포는 B 림프구 타입이지만 CLL에서 나타나는 것과는 상이하다.

[0641] 연소성 골수단핵구성 백혈병(JMML)은 대부분 4세 이하의 아동에게 영향을 주는 심각한 만성 백혈병이다. 진단시의 환자의 평균 연령은 2세이다. 세계 보건 기구는 JMML을 혼합된 골수이형성 및 골수증식성 질환으로 분류하였다. JMML은 이전에 연소성 만성 골수성 백혈병(JCML), 유아의 만성 골수단핵구성 백혈병 및 유아 일염색체성 7

증후군(Infantile Monosomy 7 Syndrome)으로 불렸던 진단들을 포함한다.

- [0642] 림프종은 림프계에서 기원하는 암을 말한다. 림프종은 림프구 - B 림프구(B 세포 림프종), T 림프구(T-세포 림프종), 및 천연 킬러 세포(NK 세포 림프종)의 악성 신생물을 특징으로 한다. 림프종은 일반적으로 림프절 또는 위 또는 장을 포함하며 이에 제한되지 않는 기관 내의 림프 조직 집합물에서 시작한다. 림프종은 골수 그리고 일부 경우에는 혈액에 관련될 수 있다. 림프종은 신체의 한 부위에서 다른 부분으로 퍼질 수 있다.
- [0643] 다양한 형태의 림프종의 치료는 예를 들어, 미국 특허 7,468,363호에 개시되며, 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 그러한 림프종은 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 피부 B-세포 림프종, 활성화 B-세포 림프종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL), 외투 세포 림프종(MCL), 여포성 림프종(FL; FL 등급 I, FL 등급 II를 포함하지만 이에 제한되지 않음), 여포성 중앙 림프종, 변형 림프종, 중간 분화의 림프구성 림프종, 중간 림프구 림프종(ILL), 미만성 분화 불량 림프구 림프종(PDL), 중심소엽성 림프종, 미만성 소-절단 세포 림프종(DSCCL), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 피부 T-세포 림프종(CTCL) 및 외투부 림프종 및 저 등급 여포성 림프종을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0644] 비-호지킨 림프종(NHL)은 미국에서 남성과 여성 모두에 대해 다섯 번째로 가장 흔한 암이며, 2007년에 63,190건의 새 케이스와 18,660건의 사망이 추정되었다. Jemal A, *et al.*, *CA Cancer J Clin* 2007; 57(1):43-66. NHL에 걸릴 확률은 나이에 따라 증가하며 노인에서 NHL의 발생은 과거 십년 동안 꾸준히 증가하여, 미국 인구의 노화 경향에서 근심을 야기하였다. Id. Clarke C A, *et al.*, *Cancer* 2002; 94(7):2015-2023.
- [0645] DLBCL은 비-호지킨 림프종의 대략 1/3을 차지한다. 일부 DLBCL 환자가 전통적인 화학요법으로 치유되지만, 나머지는 이 병으로 사망한다. 항암 약물은 아마도 성숙 T 및 B 세포에서 직접적인 어팍토시스 유도에 의해, 신속하고 지속적인 림프구의 고갈을 야기한다. K. Stahnke, *et al.*, *Blood* 2001, 98:3066-3073을 참고한다. 절대 림프구 수(ALC)는 여포성 비-호지킨 림프종에서 예후 인자로 나타났으며 최근의 결과는 진단시에 ALC가 DLBCL에서 중요한 예후 인자임을 제안하였다.
- [0646] DLBCL은 그들의 유전자 프로파일링 패턴에 따라 구별되는 분자 서브타입으로 나눌 수 있다: 배-중심 B-세포-유사(germinal-center B-cell-like) DLBCL(GCB-DLBCL), 활성화 B-세포-유사 DLBCL(ABC-DLBCL), 및 원발성 종격동 B-세포 림프종(primary mediastinal B-cell lymphoma)(PMBL) 또는 미분류 타입. 이들 서브타입은 생존기간, 화학요법-반응성 및 시그널링 경로 의존성, 특히 NK-κB 경로 의존성에서의 뚜렷한 차이를 특징으로 한다. D. Kim *et al.*, *Journal of Clinical Oncology*, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (June 20 Supplement), 2007: 8082를 참고한다. Bea S, *et al.*, *Blood* 2005; 106: 3183-90; Ngo V.N. *et al.*, *Nature* 2011; 470: 115-9를 참고한다. 그러한 차이는 DLBCL에서 보다 효과적이고 서브타입-특이적 치료 전략에 대한 조사를 촉진하였다. 급성 및 만성 카테고리화에 더하여, 신생물은 또한 전구체 또는 말초내로 그러한 질환을 야기하는 세포에 기초하여 카테고리화된다. 예를 들어, 미국 특허 공개 2008/0051379호를 참고하며, 그 내용은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다. 전구체 신생물은 ALL 및 림프모구 림프종을 포함하며 그들이 T- 또는 B-세포로 분화되기 전에 림프구에서 발생한다. 말초 신생물은 T- 또는 B-세포로 분화된 림프구에서 발생하는 것들이다. 그러한 말초 신생물은 B-세포 CLL, B-세포 전림프구성 백혈병, 림프형질세포성 림프종, 외투 세포 림프종, 여포성 림프종, 점막-관련 림프 조직의 결절의 변연부 B-세포 림프종, 결절 변연부 림프종, 비장 변연부 림프종, 모양 세포 백혈병, 형질세포종, 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) 및 버킷 림프종(Burkitt lymphoma)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. CLL 케이스의 95% 이상에서, 클론 확장은 B 세포 계통이다. *Cancer: Principles & Practice of Oncology* (3rd Edition) (1989) (pp. 1843-1847)를 참고한다. 5% 미만의 CLL 케이스에서, 중앙 세포는 T-세포 표현형을 가진다. 하지만, 이들 분류에도 불구하고, 정상 조혈작용의 병리학적 손상이 모든 백혈병의 특징이다.
- [0647] PTCL은 성숙 T-세포로부터 발달하는 희귀하고 보통은 공격적인(신속-성장) NHL 그룹으로 이루어진다. PTCL은 총괄하여 모든 NHL 케이스의 약 4 내지 10%를 차지하여, 미국에서 매년 2,800 - 7,200명 환자의 발생에 해당한다. 일부 추정에 의해, PTCL의 발생은 유의하게 성장하고 있으며, 증가하는 발생률은 노화 인구에 의해 이루어질 수 있다. PTCL은 다양한 서브타입으로 하위분류되며, 그 각각은 전형적으로 그들의 뚜렷한 임상적 차이에 기초하여 별도의 질병인 것으로 고려된다. 이들 서브타입 대부분은 드물며: 달리 특정되지 않으면 세 가지 가장 일반적인 서브타입의 PTCL인, 역형성 큰-세포 림프종, 즉 ALCL 및 혈관면역모구 T-세포 림프종이 미국에서 모든 PTCL의 대략 70%를 차지한다. ALCL은 피부 ALCL 또는 전신성 ALCL일 수 있다.
- [0648] 대부분의 PTCL 서브타입의 경우, 1차 치료 요법은 전형적으로는 CHOP(시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴, 프레드니손), EPOCH (에토포시드, 빈크리스틴, 독소루비신, 시클로포스파미드, 프레드니손), 또는 다른 다

중-약물 요법과 같은 조합 화학요법이다. 재발하거나 1차 치료에 대해 불응성인 환자는 전형적으로 GND로 불리는 요법에서의 비노렐빈(나벨빈[®]) 및 독소루비신(독실[®])을 비롯한, 다른 화학요법과 조합된 켄시타빈, 또는 DHAP(텍사메타손, 시타라빈, 시스플라틴) 또는 ESHAP(에토포시드, 메틸프레드니솔론, 시타라빈 및 시스플라틴) 과 같은 다른 화학치료 요법으로 치료된다.

[0649] PTCL을 가진 대부분의 환자가 재발하므로, 일부 중앙학자는 고-투여량의 화학요법을 제공한 후 그들의 초기 화학요법에 우수한 반응을 가진 일부 환자에게 자가 줄기 세포 이식을 하는 것을 권한다. 최근에는, 프라라트렉세이트(포르팅[®]), 로미넵신(이스토닥스[®]) 및 베리노스타트(베레오탁[®])와 같은, 재발되거나 불응성인 PTCL에 대해 승인된 비-세포독성 치료법이 상대적으로 낮은 목표 반응률(25-27% 전체적 반응률, 즉 ORR) 및 상대적으로 짧은 반응 기간(8.2-9.4개월)과 연관된다. 따라서, 재발된/불응성 PTCL의 치료는 상당한 충족되지 못한 의학적 필요성이 남아 있다.

[0650] 다발성 골수종(MM)은 골수에서의 형질 세포의 암이다. 정상적으로는, 형질 세포는 항체를 생산하며 면역 기능에서 중요한 역할을 한다. 하지만, 이들 세포의 제어되지 않은 성장은 뼈 통증 및 골절, 빈혈, 감염, 및 기타 합병증을 야기한다. 다발성 골수종은 두번째로 가장 흔한 혈액암이지만, 다발성 골수종의 정확한 원인은 알려져 있지 않다. 다발성 골수종은 혈액, 소변 및 기관에서, M-단백질 및 다른 면역글로불린(항체), 알부민 및 베타-2-마이크로글로불린을 포함하지만 이에 제한되지 않는 고수준의 단백질을 야기한다. 파라단백질로도 알려진, 단클론 단백질을 위한 약자인 M-단백질이 골수종 형질 세포에 의해 생산된 특히 비정상인 단백질이며 다발성 골수종을 가진 거의 모든 환자의 혈액 또는 소변에서 발견될 수 있다.

[0651] 뼈 통증을 비롯한 골격 증상은 다발성 골수종의 임상적으로 가장 중요한 증상 중 하나이다. 악성 형질 세포는 뼈로부터 칼슘이 침출되도록 야기하여 용해성 병변을 야기하는 파골세포 자극 인자(IL-1, IL-6 및 TNF 포함)를 방출하며; 고칼슘혈증이 다른 증상이다. 사이토카인으로도 불리는 파골세포 자극 인자는 골수종 세포의 어팍토시스 또는 사멸을 방지할 수 있다. 환자의 50%는 진단시에 방사선으로 검출가능한 골수종-관련 골격 병변을 가진다. 다발성 골수종을 위한 다른 일반적인 임상 증상은 다발성신경염, 빈혈, 과점도, 감염 및 신부전을 포함한다.

[0652] 골수 기질 세포는 다발성 골수종 질병 진행 및 화학요법에 대한 저항성을 지원하는 것으로 잘 알려져 있다. 다발성 골수종 세포와 기질 세포 간의 상호작용을 파괴하는 것은 다발성 골수종 화학요법의 추가적인 표적이다.

[0653] 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 MDS 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 MDS 환자 개체군 선별 방법 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 MDS를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 MPN 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 MDS 환자 개체군 선별 방법 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 MPN을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 AML 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 AML 환자 개체군 선별 방법 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 AML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 JMML 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 JMML 환자 개체군 선별 방법 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 JMML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0654] 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 CMML 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 CMML 환자 개체군 선별 방법 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras, N-Ras, 또는 둘 모두의 돌연변이 상태에 기초하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 어떤 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이도 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0655] 일부 실시형태에서, 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 K-Ras 및 N-Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, 티피파르닙에 대한 CMML 환자의 반응성을 예측하는 방법, 티피파르닙 치료를 위한 CMML 환자 개체군 선별 방법 및 치료

적 유효량의 티피파르닙을 이용하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras, N-Ras, 또는 둘 모두의 돌연변이 상태에 기초하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) CMML을 가진 개체로부터의 샘플 내의 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 어떤 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이도 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다.

[0656] **4.4. 예시적 FTI 및 투여량**

[0657] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras, N-Ras, 또는 둘 모두의 돌연변이 상태에 기초하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0658] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras, N-Ras, 또는 둘 모두의 돌연변이 상태에 기초하여 개체에서 혈액 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0659] 일부 실시형태에서, 본 발명은 K-Ras, N-Ras, 또는 둘 모두의 돌연변이 상태에 기초하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하며, Ras 돌연변이는 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 포함하며, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이가 결핍된 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0660] 일부 실시형태에서, FTI는 경구로, 비경구로, 직장으로, 또는 국소로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 경구로, 비경구로, 직장으로, 또는 국소로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 경구로 투여된다.

[0661] 일부 실시형태에서, FTI는 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다.

하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다.

[0662] 일부 실시형태에서, FTI는 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 치료 사이클로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 격주로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.

[0663] 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 3 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 6사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 최대 12 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 3 사이클 동안 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 3 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 6사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 최대 12 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 3 사이클동안 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.

[0664] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 K-Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, 치료적 유효량의 티피파르닙을 이용하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플이 야생형 K-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 개체에게 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0665] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 N-Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, 치료적 유효량의 티피파르닙을 이용하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플이 야생형 N-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 개체에게 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0666] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체로부터의 샘플 내의 K-Ras 및 N-Ras의 돌연변이 상태에 기초하여, 치료적 유효량의 티피파르닙을 이용하여 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 (a) 개체로부터의 샘플이 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 개체에게 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하는, 개체에서 CMML을 치료하는 방법을 제공한다.

[0667] **5. FTI 치료를 위한 바이오마커로서의 돌연변이 H-Ras**

[0668] **5.1. H-ras 돌연변이 상태**

[0669] H-ras 단백질은 성장 인자 자극에 대한 반응으로 세포 분열을 조절하는데 관여한다. 성장 인자는 세포의 원형질 막에 걸친 세포 표면 수용체에 결합함으로써 작용한다. 일단 활성화되면, 수용체는 단백질과 2차 메신저가 세포 바깥으로부터의 시그널을 세포 핵으로 전달하고 세포가 성장하거나 분열하도록 지시하는 과정인 시그널 전달 사건을 세포질에서 자극한다. H-ras는 원형질 막에 국소화되며, 많은 시그널 전달 경로에서 초기 참가자이다. H-ras는 분자 온/오프 스위치로서 작용한다 - 일단 켜지면 수용체의 시그널의 전파에 필요한 단백질을 모집하고 활성화한다. 일부 종양에서는, H-ras 또는 그의 상류 이펙터에서의 돌연변이가 H-ras가 영구적으로 켜져 있도록 하여, 하류의 성장 및 증식 시그널의 지속적인 활성화를 야기하여 종양 세포 성장을 이끈다. FTI는 단백질 파르네실화 및 후속되는 H-ras의 막 국소화를 억제하여 H-ras를 오프시킴으로써 이들 시그널링 경로에 의존하는 세포의 비정상적 성장과 증식을 방지하기 위해 작용한다.

[0670] 티피파르닙과 같은 FTI는, 다른 단백질 변형과 함께, H-ras가 암 개시와 발달에 관련되는 세포의 시그널을 수용하고 전송할 수 있는 H-ras의 막 국소화를 허용하는, 프레닐화로 알려진 단백질 변형 타입인 단백질 파르네실화를 방지한다. 티피파르닙과 같은 FTI는 H-ras 파르네실화 및 후속 막 국소화를 차단할 수 있으며, 인 비트로 및 인 비보에서 발암성 H-ras-유도 세포 형질전환을 억제할 수 있다. K-ras 및 N-ras가 유사하게 단백질 파르네실화를 이용하는 한편, 그들은 또한 막 국소화를 유도하는 관련 프레닐화 경로를 이용할 수 있다. 한편, H-ras 막 국소화는 단백질 파르네실화에 유일하게 의존한다.

[0671] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료될 암은 H-ras 돌연변이를 가질 수 있다. 일부 실시

형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료될 암은 H-ras 돌연변이를 가진 고형 종양일 수 있다. H-ras 돌연변이를 가진 고형 종양은 상기에 개시된 임의의 고형 종양일 수 있다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 H-ras 돌연변이를 가진 갑상선암, 두경부암, 요로 암종, 방광암 또는 침샘암일 수 있다. 본 발명에서 제공되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 방법이 ras 유전자의 돌연변이 상태를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, ras 유전자의 돌연변이 상태는 NGS-기반 분석으로 결정될 수 있다. 일부 실시형태에서, ras 유전자의 돌연변이 상태는 정량적 PCR-기반 분석에 의해 결정될 수 있다. 정량적 PCR기반 분석은 K-ras에 대해 이미 개발되고 FDA에 의해 승인된 PCR-기반 분석과 기술적으로 유사할 수 있다. 일부 실시형태에서, ras 유전자의 돌연변이 상태는 티피파르닙 치료와 같은 FTI 치료에의 동반 진단 형태로 결정될 수 있다. 동반 진단은 환자가 티피파르닙 치료를 받는 병원에서 또는 별도의 위치에서 수행될 수 있다.

[0672] 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 FTI를 이용한 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 이들 방법은 H-Ras 돌연변이가 FTI 치료의 임상적 효과와 관련되며 따라서 FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하기 위해 이용될 수 있다는 발견에 부분적으로 기초한다. 따라서, 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이 상태에 기초하여, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 암 환자 개체군 선별 방법 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 암은 조혈 암 또는 고형 종양일 수 있다. 일부 실시형태에서, 암은 고형 종양이다.

[0673] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) 암 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.

[0674] 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이는 G12, G13, 및 Q61로 이루어진 군으로부터 선택된 코돈에서의 돌연변이다. 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이는 G12R, G12V, G13C, G13R, Q61L 및 Q61R의 아미노산 치환으로 이루어지는 군으로부터 선택된 돌연변이일 수 있다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 H-Ras 단백질의 활성화를 야기하는 다른 코돈에서의 돌연변이일 수 있다.

[0675] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 갖지 않으면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 만일 샘플이 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 가지면 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다.

[0676] 일부 실시형태에서, K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, K-Ras 돌연변이는 K_B-Ras 돌연변이다. 일부 실시형태에서, K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras 돌연변이와 K_B-Ras 돌연변이의 조합이다. K-Ras 돌연변이는 K_A-Ras, K_B-Ras, 또는 둘 모두의 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택된 코돈에서의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, K_A-Ras 돌연변이는 아미노산 치환 G12C, G12D, G12A, G12V, G12S, G12F, G12R, G12N, G13C, G13D, G13R, G13S, G13N, Q61 K, Q61 H, Q61 L, Q61 P, Q61 R 및 A146V로 이루어지는 군으로부터 선택된 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, K_B-Ras 돌연변이는 아미노산 치환 G12C, G12D, G12A, G12V, G12S, G12F, G12R, G12N, G13C, G13D, G13R, G13S, G13N, Q61 K, Q61 H, Q61 L, Q61 P, Q61 R 및 A146V로 이루어지는 군으로부터 선택된 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0677] 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12, G13, G15, G60 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택된 코돈에서 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12, G13, 및 Q61로 이루어지는 군으로부터 선택되는 코돈에서 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, N-Ras 돌연변이는 G12C, G12D, G12F, G12S, G12A, G12V, G12R, G13C, G13R, G13A, G13D, G13V, G15W, G60E, Q61P, Q61L, Q61R, Q61K, Q61H 및 Q61E의 아미노산 치환으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0678] 일부 실시형태에서, 샘플은 K-Ras의 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환을 갖지 않으며 또한 N-Ras의 G12, G13, 및 Q61에서 아미노산 치환을 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 어떤 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이도 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 실시형태에서, 샘플은 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다.

- [0679] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이, K-Ras 돌연변이 및 N-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖지만 K-Ras 돌연변이 또는 N-Ras 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) 암 환자가 H-Ras 돌연변이 및 야생형 K-Ras 및 야생형 N-Ras를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.
- [0680] 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 FTI로 개체에서 암을 치료하는 방법, 및 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 암은 조혈 암 또는 고형 종양일 수 있다. 본 발명은 또한 H-Ras 돌연변이 상태에 기초하여 FTI를 이용하여 개체에서 전암 상태를 치료하는 방법, 및 FTI 치료를 위한 전암 상태를 가진 환자를 선별하는 방법을 제공한다.
- [0681] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 FTI를 이용하여 개체에서 암을 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 암은 조혈 암 또는 고형 종양일 수 있다. 암은 인간 파필로마바이러스에 관련되거나(HPV+ 또는 HPV 양성), 또는 HPV에 관련되지 않을 수 있다(HPV- 또는 HPV 음성).
- [0682] 본 발명은 환자로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여, FTI 치료에 대한 암 환자의 반응성을 예측하는 방법, FTI 치료를 위한 암 환자 개체군 선별 방법 및 치료적 유효량의 FTI를 이용하여 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. H-Ras의 돌연변이 상태는 핵산 또는 단백질 수준에서 검출될 수 있다. 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득한 핵산을 분석함으로써 결정된다. 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득한 단백질을 분석함으로써 결정된다.
- [0683] 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득한 핵산을 분석함으로써 결정된다. 핵산은 시험 개체로부터의 mRNA 또는 게놈 DNA 분자일 수 있다. 핵산을 분석하여 Ras 돌연변이 상태를 결정하는 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 시퀀싱, 폴리머라제 연쇄 반응(PCR), DNA 마이크로어레이, 질량분석법(MS), 단일 뉴클레오티드 다형성(SNP) 분석, 변성 고-성능 액체 크로마토그래피(DHPLC), 또는 제한 단편 길이 다형성(RFLP) 분석을 포함한다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 예를 들어, 생거 시퀀싱, 차세대 시퀀싱(NGS)을 비롯한 표준 시퀀싱 방법을 이용하여 결정된다. 일부 실시형태에서, Ras 돌연변이 상태는 MS를 이용하여 결정된다.
- [0684] 일부 실시형태에서, H-Ras 돌연변이 상태는 샘플로부터 수득된 단백질을 분석함으로써 결정된다. 돌연변이된 H-Ras 단백질은 다양한 면역조직화학(IHC) 방법, 면역블롯팅 분석, 효소-연결된 면역흡착 분석(ELISA) 또는 본 기술분야에 알려진 다른 면역분석 방법에 의해 검출될 수 있다.
- [0685] 당업자는 Ras 돌연변이를 분석하기 위한 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 임의의 방법이 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하기 위해 사용될 수 있음을 이해할 것이다.
- [0686] **5.2. 샘플**
- [0687] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법은 개체로부터 샘플을 수득하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 샘플은 종양 샘플이다. 일부 실시형태에서, 본 방법에서 사용되는 샘플은 생검(예를 들어, 종양 생검)을 포함한다. 생검은 임의의 기관 또는 조직, 예를 들어, 피부, 간, 폐, 심장, 결장, 신장, 골수, 치아, 림프절, 모발, 비장, 뇌, 유방, 또는 다른 기관으로부터 올 수 있다. 당업자에게 알려진 임의의 생검 기술이 개체로부터 샘플을 분리하기 위해 이용될 수 있으며, 예를 들어, 개방 생검, 폐쇄 생검, 총 생검, 절개 생검, 절제 생검, 또는 세침흡인생검이 있다.
- [0688] 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 개체로부터의 체액을 포함한다. 체액의 비제한적인 예는 혈액(예를 들어, 말초 전혈, 말초 혈액), 혈액 혈장, 골수, 양수, 방수, 담즙, 림프액, 월경, 혈청, 소변, 뇌와 척수를 둘러싸는 뇌척수액, 골관절을 둘러싸는 윤활액을 포함한다.
- [0689] 일 실시형태에서, 샘플은 골수 샘플이다. 골수 생검 및 골수 흡입을 포함하며 이에 제한되지 않는 골수 샘플을 수득하기 위한 절차는 본 기술분야에 잘 알려져 있다. 골수는 유체 부분과 보다 고체인 부분을 가진다. 골수 생검에서는 고체 부분의 샘플이 취해진다. 골수 흡입에서는, 유체 부분의 샘플이 취해진다. 골수 생검 및 골수 흡입은 동시에 이루어질 수 있으며 골수 검사로 불린다.
- [0690] 일부 실시형태에서, 샘플은 혈액 샘플이다. 혈액 샘플은 예를 들어, Innis *et al*, editors, PCR Protocols

(Academic Press, 1990)에 개시된 대로 종래 기술을 이용하여 수득될 수 있다. 백혈구는 종래 기술 또는 시판 키트, 예를 들어, 로제트셉 키트(스테인 셀 테크놀로지스, 캐나다 밴쿠버)를 이용하여 혈액 샘플로부터 분리될 수 있다. 백혈구의 하위-집단, 예를 들어, 단핵 세포, NK 세포, B 세포, T 세포, 단핵구, 과립구 또는 림프구는 종래 기술, 예를 들어, 자기적 활성화 세포 분류(MACS)(밀테니 바이오텍, 캘리포니아주 오번) 또는 형광 활성화 세포 분류(FACS)(벡톤 디킨슨, 캘리포니아주 샌호세)를 이용하여 추가로 분리될 수 있다.

[0691] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 다수의 세포를 포함한다. 그러한 세포는 임의의 타입의 세포, 예를 들어, 줄기 세포, 혈액 세포(예를 들어, PBMC), 림프구, NK 세포, B 세포, T 세포, 단핵구, 과립구, 면역 세포 또는 종양 또는 암 세포를 포함할 수 있다. 특정 세포 집단은 시판되는 항체의 조합(예를 들어, 퀘스트 다이아그노스틱(캘리포니아주 샌 후안 카피스트라노); 다코(덴마크))를 이용하여 수득될 수 있다.

[0692] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 샘플은 질병 조직으로부터 오며, 예를 들어, 암(예를 들어, 두경부 암, 침샘 종양 또는 갑상선암)을 가진 개인으로부터 온다. 일부 실시형태에서, 일부 실시형태에서, 세포는 종양 생검 또는 종양 외식편과 같은, 종양 또는 암세포 또는 종양 조직으로부터 수득될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 세포의 수는 단일 세포 내지 약 10^9 세포 범위일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 사용되는 세포의 수는 약 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 또는 5×10^8 이다.

[0693] 개체로부터 수집된 세포의 수와 타입은 예를 들어, 유세포분석, 세포 분류, 면역세포화학(예를 들어, 조직 특이적 또는 세포-마커 특이적 항체를 이용한 염색), 형광 활성화 세포 분류(FACS), 자기 활성화 세포 분류(MACS)와 같은 표준 세포 검출 기술을 이용한 형태 변화 및 세포 표면 마커 측정에 의해, 광 또는 공초점 현미경을 이용한 세포 형태 검사에 의해, 및/또는 PCR 및 유전자 발현 프로파일링과 같은 본 기술분야에 잘 알려진 기술을 이용한 유전자 발현 변화 측정에 의해, 모니터링될 수 있다. 이들 기술은 또한 하나 이상의 특정 마커에 대해 양성인 세포를 동정하기 위해 이용될 수 있다. 형광 활성화 세포 분류(FACS)는 입자의 형광 특성에 기초하여, 세포를 비롯한 입자를 분리하는 잘 알려진 방법이다(Kamarch, 1987, Methods Enzymol, 151:150-165). 개별 입자에서 형광 모이어티의 레이저 여기는 작은 전하를 야기하여 혼합물로부터 양성 및 음성 입자의 전자기적 분리를 가능하게 한다. 일 실시형태에서, 세포 표면 마커-특이적 항체 또는 리간드는 구별되는 형광 라벨로 라벨링된다. 세포는 세포 분류기를 통해 처리되어, 그들이 이용된 항체에 결합하는 능력에 기초하여 분리된다. FACS 분류된 입자는 분리 및 클로닝을 촉진하기 위하여 96-웰 또는 384-웰 플레이트의 개별 웰 내로 직접적으로 침착될 수 있다.

[0694] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에서 세포의 서브셋이 사용된다. 특정 세포 집단을 분류하고 분리하는 방법은 본 기술분야에 잘 알려져 있으며 세포 크기, 형태 또는 세포내 또는 세포외 마커에 기초할 수 있다. 그러한 방법은 유세포 분석, 유동 분류, FACS, 자기 세포 분류와 같은 비드 기반 분리, 크기-기반 분리(예를 들어, 체, 장애물 어레이, 또는 필터), 미소유체역학 장치에서의 분류, 항체-기반 분리, 침강, 친화성 흡착, 친화성 추출, 밀도 구배 원심분리, 레이저 포획 미세해부 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0695] **5.3. 암**

[0696] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 FTI를 이용하여 개체에서 조혈 암을 치료하거나 FTI 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 조혈 암은 HPV 음성이다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) HPV 음성 조혈 암 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 환자에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다.

[0697] 조혈 암은 혈액 또는 골수의 암이다. 혈액(또는 조혈성) 암의 예는 골수증식성 신생물(MPN), 골수이형성 증후군(MDS), 백혈병, 및 림프종을 포함한다. 일부 실시형태에서, 암은 급성 골수성 백혈병(AML), 천연킬러 세포 림프종(NK 림프종), 천연킬러 세포 백혈병(NK 백혈병), 피부 T-세포 림프종(CTCL), 연소성 골수단핵구성 백혈병(JMML), 말초 T-세포 림프종(PTCL), 만성 골수성 백혈병(CML), 또는 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML)이다. 일부 실시형태에서, 암은 CMML이다. 일부 실시형태에서, 암은 JMML이다.

[0698] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 FTI를 이용하여 고형 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 HPV 음성이다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) HPV 음성 고형 종양 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 환자에

게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다.

- [0699] 고형 종양은 보통 낭종 또는 액체 영역을 함유하지 않는 비정상 조직 덩어리이다. 고형 종양은 양성 또는 악성일 수 있다. 상이한 타입의 고형 종양은 그들을 형성하는 세포 타입을 따라 명명된다(예를 들어, 육종, 암종 및 림프종). 본 발명의 방법으로 치료될 고형 종양은 육종 및 암종일 수 있으며, 두경부 암종, 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 골육종 및 기타 육종, 활막종, 중피종, 유잉종양, 평활근종양, 횡문근육종, 결장 암종, 악성 림프종, 췌장암, 유방암, 폐암, 난소암, 전립선암, 간세포 암종, 편평세포 암종, 기질세포 암종, 선암종, 땀샘 암종, 갑상선 암종, 갑상선 수질암, 유두갑상선암종, 갈색세포종 피지샘 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 수질암종, 기관지 암종, 신장 세포 암종, 간암종, 담관 암종, 용모암, 율름 종양, 자궁경부암, 고환 종양, 정상피종, 방광 암종, 흑색종, 및 CNS 종양(예를 들어, 신경교종(예를 들어, 뇌간 교종 및 혼합신경교종), 교모세포종(다형성 신경교아종으로도 알려짐), 성상세포종, CNS 림프종, 배아종, 수모세포종, 신경초종 두개인두종, 상외세포종, 송과체부종양, 혈관모세포종, 청신경종, 핍지교종, 뇌수막종, 신경아세포종, 망막아세포종 및 뇌전이)를 포함한다.
- [0700] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재를 기초로 FTI를 이용하여 고형 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 이때 고형 종양은 갑상선 암, 두경부암, 침샘 암, 악성 흑색종, 부신 암종, 유방 암종, 신장 세포암, 췌장의 암종, 비소세포 폐 암종(NSCLC) 또는 원발 부위 불명암이다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다. 다양한 타입 또는 단계의 고형 종양을 가진 환자에게 일반적으로 투여되는 약물은 세레브렉스, 에토포시드, 시클로포스파미드, 도세탁셀, 아페시타빈, IFN, 타목시펜, IL-2, GM-CSF, 또는 그 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0701] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료될 고형 종양은 갑상선암, 두경부암, 요로암, 침샘 암, 상부 소화관의 암, 방광암, 유방암, 난소암, 뇌암, 위암, 전립선암, 폐암, 결장암, 피부암, 간암 및 췌장암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 방광암은 이행 세포 암종일 수 있다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.
- [0702] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 고형 종양은 암종, 흑색종, 육종 또는 만성 육아종 병으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0703] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 제공되는 방법에 의해 치료되는 전암 상태는 광선입술염, 바렛 식도, 위축성 위염, 유관상피내암, 선천성 이상각화증, 철부족성 연하곤란, 편평 태선, 경구 점막하 섬유증, 일광탄력 섬유증, 자궁경부 이형성, 폴립, 백반증, 홍반증, 편평 상피내 병변, 전암 질환, 또는 전암 면역증식성 질환일 수 있다.
- [0704] 일부 실시형태에서, 본 발명은 개체에서 H-Ras 돌연변이의 존재를 기초로 FTI를 이용하여 개체에서 고형 종양을 치료하는 방법 및 FTI 치료를 위한 고형 종양 환자를 선별하는 방법을 제공하며, 이때 고형 종양은 갑상선 암, 두경부암, 또는 침샘 암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 갑상선 암이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)이다. 일부 실시형태에서, 고형 종양은 침샘 암이다.
- [0705] 두경부 편평 세포 암종(HNSCC)은 전세계에서 6번째로 가장 흔한 암이며, 전세계적으로 매년 약 650,000건과 200,000명 사망이 발생하며, 미국에서는 매년 약 54,000건의 새로운 케이스가 생긴다. 또한 종양 아시아에서 가장 흔한 암이다.
- [0706] HNSCC는 2가지 상이한 원인론 및 상응하는 종양 타입을 가진다. 첫번째 서브타입은 흡연 및 알콜 소비와 관련되며, 인간 파필로마바이러스와는 무관하다(HPV- 또는 HPV 음성). 두번째 서브타입은 고위험 HPV 감염과 관련된다(HPV+ 또는 HPV 양성). 두번째 서브타입은 대부분 구인두암으로 제한된다. HPV+ 종양은 예후가 더 좋은 구별되는 실체이며 상이한 치료를 요할 수 있다.
- [0707] 상당 부분의 HNSCC, 특히 구인두암이 HPV 감염에 의해 야기된다. 고위험 HPV 서브타입 16이 HNSCC에서 모든 HPV+ 종양의 85%를 차지한다. P16은 HNSCC에서, 특히 구강인두에서, HPV 감염의 대용 마커로서 사용될 수 있다. 보다 정확한 HPV 시험이 이용가능하며 E6/E7 검출에 기초한다(Liang C, et al. Cancer Res. 2012;72:5004-5013).
- [0708] HPV+ HNSCC는 HPV- HNSCC 보다 상당히 낮은 EGFR 발현 수준을 보여준다. EGFR 증폭은 HPV- HNSCC에서만 일어난다. 고 EGFR 유전자 카피수 및 단백질 발현은 진행된 HNSCC에서 열등한 임상 결과와 관련된다.
- [0709] 현재, 재발/전이성 HNSCC를 위한 1차 치료법은 선택적으로 항-EGFR 항체 치료법(예를 들어, 세툽시맙, 파니투무맙, 아파티닙)과 조합된, 백금-기반 이중요법(예를 들어, 시스플라틴/5-FU 또는 카르보플라틴/파클리탁셀)을 포

함한다. 2차 치료법은 탁센, 메토틱세이트, 및/또는 세특시맴을 포함한다. 세특시맴(키메라 IgG1) 또는 파니 투무맴과 같은 항-EGFR 항체 치료법은 단일 제제로서, 화학요법(예를 들어, 백금/5-FU, 시스플라틴)과, 또는 방사선 요법과 사용될 수 있다. HNSCC에서 높은 EGFR 발현 수준에도 불구하고, 세특시맴에 대한 단일-제제 반응률은 단지 13%이며 SD 비율은 33%이고, 현재 이용가능한 예측 바이오마커는 없다.

[0710] HNSCC를 위한 개발중인 약물은 PI3K 경로를 표적화하는 것: BKM120(부파르리십) + 세특시맴, BYL719 + 세특시맴, 템시로리무스 + 세특시맴, 리고세르팁 + 세특시맴; MET 경로를 표적화하는 것: 티반티닙 + 세특시맴, 피크라투주맴 + 세특시맴; EGFR/HER3 경로를 표적화하는 것: 아파티닙 + 세특시맴 ± 파클리탁셀, 파트리투맴; FGFR 경로를 표적화하는 것: BGJ398; CDK4/6-세포 주기 경로를 표적화하는 것: 팔보시크립, LEE011; RTK 억제제: 안로티닙 및 화학요법: 경구 아자시티딘을 포함한다. HNSCC를 위한 보다 최근의 치료 옵션은 항-PD1 또는 항-PDL1 항체와 같은 면역요법을 포함한다.

[0711] 수술, 방사선, 화학방사선조사 및 유도 화학요법을 이용하여 국소화된 및 국소영역 질병에 대해 높은 치유율이 달성되었지만, 재발/전이성 질병을 위한 생존률은 여전히 매우 낮으며, 더 나은 치료 옵션이 필요하다.

[0712] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 개체에서 HNSCC를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 HPV 음성 HNSCC일 수 있다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 재발/반복 HNSCC일 수 있다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 전이성 HNSCC일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) HNSCC 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0713] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 개체에서 침샘암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 침샘암은 진행된 침샘암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 침샘암은 전이성 침샘암일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) 침샘암 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0714] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 개체에서 갑상선암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 재발/반복 갑상선암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 전이성 갑상선암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 진행된 갑상선암일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) HNSCC 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 FTI를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙이다.

[0715] **5.4. 예시적 FTI 및 투여량**

[0716] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재를 기초로 티피파르닙으로 개체에서 암을 치료하는 방법 또는 티피파르닙 치료를 위한 암 환자를 선별하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙(SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0717] 일부 실시형태에서, FTI는 경구로, 비경구로, 직장으로, 또는 국소로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 경구로, 비경구로, 직장으로, 또는 국소로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 경구로 투여된다.

[0718] 일부 실시형태에서, FTI는 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 1-1000 mg/kg 체중의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 200-1200 mg의 투여량으로 투여된다.

일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 600 mg의 투여량으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 하루 두번 900 mg의 투여량으로 투여된다.

[0719] 일부 실시형태에서, FTI는 치료 사이클로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 격주로 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 치료 사이클로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 격주로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.

[0720] 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 3 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 6사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 최대 12 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, FTI는 적어도 3 사이클 동안 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 3 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 6사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 최대 12 사이클 동안 투여된다. 일부 실시형태에서, 티피파르닙은 적어도 3 사이클동안 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.

[0721] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 티피파르닙으로 개체에서 HNSCC를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 HPV 음성 HNSCC일 수 있다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 재발/반복 HNSCC일 수 있다. 일부 실시형태에서, HNSCC는 전이성 HNSCC일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) HNSCC 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다.

[0722] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 티피파르닙으로 개체에서 침샘암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 침샘암은 진행된 침샘암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 침샘암은 전이성 침샘암일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) 침샘암 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙 (SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0723] 일부 실시형태에서, 본 발명은 H-Ras 돌연변이의 존재에 기초하여 티피파르닙으로 개체에서 갑상선암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 재발/반복 갑상선암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 전이성 갑상선암일 수 있다. 일부 실시형태에서, 갑상선암은 진행된 갑상선암일 수 있다. 본 발명에서 제공되는 방법은 (a) 개체로부터의 샘플 내의 H-Ras 돌연변이의 존재 또는 부재를 결정하고, 이어서 (b) 만일 상기 샘플이 H-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면 상기 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 샘플은 종양 샘플일 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) HNSCC 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 치료적 유효량의 티피파르닙을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 본 명세서에 개시되거나 본 기술분야에 알려진 다른 FTI를 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, FTI는 티피파르닙, 아르그라빈, 페리틸 알콜, 로나파르닙 (SCH-66336), L778123, L739749, FTI-277, L744832, CP-609,754, R208176, AZD3409, 및 BMS-214662로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0724] 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) HNSCC 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 티피파르닙을 투여하며, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두 번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다. 일부 실시형태에서, HNSCC 환자는 재발/반복 HNSCC를 가진다. 일부 실시형태에서, HNSCC 환자는 HPV 음성 HNSCC를 가진다.

[0725] 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) 침샘암 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에게 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두 번 900 mg

의 투여량으로 경구로 투여된다.

[0726] 일부 실시형태에서, 본 방법은 (a) 갑상선암 환자가 H-Ras 돌연변이를 갖는지 결정하고, 이어서 (b) 개체에 티피파르닙을 투여하는 것을 포함하며, 티피파르닙은 28-일 치료 사이클의 1-7일 및 15-21일에 하루 두 번 900 mg의 투여량으로 경구로 투여된다.

[0727] 일부 실시형태에서, 본 방법은 H-Ras 돌연변이를 가진 고형 종양을 가진 환자에게 2차 치료법을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 치료법은 시스플라틴, 5-FU, 카르보플라틴, 파클리탁셀 또는 백금-기반 이중치료(예를 들어, 시스플라틴/5-FU 또는 카르보플라틴/파클리탁셀)과 같은 화학요법이다. 일부 실시형태에서, 2차 치료법은 항-EGFR 항체 치료법(예를 들어, 세툽시맙, 파니투무맙, 아파티닙)이다. 일부 실시형태에서, 2차 치료법은 탁센, 메토티렉세이트, 및/또는 세툽시맙이다. 일부 실시형태에서, 2차 치료법은 방사선 치료법이다. 일부 실시형태에서, 2차 치료법은 PI3K 경로를 표적화하는 것: BKM120(부파르리십) + 세툽시맙, BYL719 + 세툽시맙, 템시로리무스 + 세툽시맙, 리고세르티프 + 세툽시맙; MET 경로를 표적화하는 것: 티반티닙 + 세툽시맙, 피크라투주맙 + 세툽시맙; EGFR/HER3 경로를 표적화하는 것: 아파티닙 + 세툽시맙 ± 파클리탁셀, 파트리투맙; FGFR 경로를 표적화하는 것: BGJ398; CDK4/6-세포 주기 경로를 표적화하는 것: 팔보시크립, LEE011; RTK 억제제: 안로티닙 및 화학요법: 경구 아자시티딘을 포함한다. 일부 실시형태에서, 2차 치료법은 항-PD1 또는 항-PDL1 항체와 같은 면역요법이다.

[0728]

[0729] **6. 실시예**

[0730] 본 발명의 다양한 실시형태의 활성화에 실질적으로 영향을 주지 않는 변형이 또한 본 발명의 정의 내에서 제공된다. 따라서, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것이며 제한하는 것이 아니다. 본 명세서에서 인용된 모든 참고문헌은 그 전체가 참고로 본원에 포함된다.

[0731] **실시예 I**

[0732] **티피파르닙의 임상적 효과와 연관된 면역학적 바이오마커의 동정**

[0733] 두 AML 연구로부터의 골수 샘플에서의 유전자 발현 프로파일링 및 다수의 세포주에서의 티피파르닙 IC50 데이터의 분석은 다수의 면역학적으로 관련된 유전자, 특히 NK 세포 관련 유전자가 티피파르닙에 대한 더 나은 예후와 연관됨을 밝혔다. 이들 유전자 중 일부가 티피파르닙 치료에 대해 비-특이적인 것으로 나타난 한편, KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5, KIR2DL5, 및 GZMM을 비롯한 다른 것들은 티피파르닙의 임상적 효과와 특이적으로 연관되지만, 시타라빈 및 미토잔트론과 같은 다른 비-FTI 화학요법제와는 연관되지 않았다.

[0734] 본 연구는 FTI 티피파르닙의 효능과 안전성을 조사하는 두 임상 연구에서 수집된 골수 샘플의 전체적 유전자 발현 분석으로부터 생성된 마이크로어레이 데이터를 이용하였다. 한 가지 임상 연구는 이전에 치료되지 않은 AML을 가진 65세 이상의 성인 환자에서 수행되었으며, 다른 연구는 재발되고 불응성인 AML에서 수행되었다. 이들 연구를 위한 임상 결과는 이전에 공개되었으며(Lancet et al., Blood 109:1387-1394 (2007); Harousseau et al., Blood 9:9 (2007); Raponi et al., Clin. Cancer Res. 13:2254-2260 (2007)), 유전자 프로파일링 데이터는 NCBI의 유전자 발현 옴니버스(Gene Expression Omnibus)(GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)에서 공중이 이용가능하였으며 GEO 시리즈 기탁 번호 GSE8970 및 GSE5122를 통해 접근가능하다.

[0735] Raponi et al., Blood 111:2589-96 (2008)에 개시된 바처럼, BM 샘플을 티피파르닙으로 치료하기 전에 동의한 환자로부터 수집하였으며, 단핵 세포를 현장에서 가공하였다. 전체 RNA를 세포 샘플로부터 추출하고, 품질을 제어하고, 마이크로어레이 분석을 위해 추가 가공하였다. 동일한 샘플로부터 DNA를 분리하였다. 전체적 유전자 발현 및/또는 특정 유전자의 정량적 폴리머라제 연쇄 반응(QPCR)에 대해 샘플을 분석하였다.

[0736] 티피파르닙에 대한 반응은 임상 연구 보고서에서 보고되며 완전 완화(CR), 부분 완화(PR) 또는 혈액학적 개선(HI)을 가진 환자로서 정의되었다. RP 및 HI 환자는 반응자로 포함되었으며, 그 이유는 그들이 CR을 이룬 환자와 유사한 생존 효과를 갖는 것으로 이전에 나타났기 때문이다. 요약하면, CR은 모든 세포주의 정상 성숙을 가진 5% 미만의 골수아세포, 적어도 $10^9/L$ ($1000/\mu L$)의 절대 호중구수, 및 $100 \times 10^9/L$ ($100000/\mu L$)의 혈소판수를 나타내는 BM으로 정의되었다. PR은 ANC 및 혈소판이 상기 개시된 수준까지 회복되지만, 5% 내지 19%의 BM 아세포를 가지며, BM 아세포 백분율이 기준선으로부터 50% 넘게 감소하는 것으로 정의되었다. HI는 ANC가 0.5 내지 $1 \times 10^9/L$ (500 내지 $1000/\mu L$)로 회복되고 혈소판수가 20 내지 $100 \times 10^9/L$ ($20\ 000$ 내지 $100\ 000/\mu L$)로 회

복되는 것을 제외하고는 PR과 동일한 것으로 정의되었다. 진행성 질병(PD)은 하기 중 어느 것으로 정의되었다: BM 아세포 백분율이 기준선으로부터 50%를 초과하는 증가(만일 기준선이 5% 미만이면 5%를 초과하는 아세포, 만일 기준선이 5% 내지 10%이면 10%를 초과하는 아세포, 그리고 만일 기준선이 10% 내지 20%이면 20%를 초과하는 아세포); 순환 아세포에서 50%를 초과하는 증가; 적어도 2회의 연속적 경우에서 순환 아세포의 새로운 출현; 또는 골수의 백혈병의 발생. 안정한 질병(SD)은 CR, PR, HI, 또는 PD 기준을 충족하지 않는 임의의 반응으로 정의되었다.

[0737] 카프란 메이에르 곡선을 이용하여 바이오마커 값과 임상 효과 사이의 관계를 조사하였다. 다수의 NK 세포 관련 유전자의 동정, 일부 티피파르닙 환자에서 관찰된 반응의 장기 지속, 및 NK 세포에서 RAS 매개된 시그널 전달의 역할은 티피파르닙 치료에 대한 AML 환자의 반응이 면역 세포의 골수 침윤물로부터 야기되었을 수 있음을 지지한다.

[0738] 1. KIR2DS5 발현 수준과 티피파르닙의 임상 효과의 상관성

[0739] 도 1a에 나타난 대로, KIR2DS5의 발현 수준은 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 결과와 연관된다. 상이한 임상 반응에 기초하여 환자를 분류할 때, PD 환자는 KIR2DS5 발현 연속체(expression continuum)의 하부 말단에 모여 있으며; CR 환자는 KIR2DS5 발현 연속체의 상부 말단에 모여 있으며; HI 및 SD 환자는 CR과 PD 그룹 사이에 모여있음이 발견되었다.

[0740] 부가적으로, 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 KIR2DS5의 발현 수준과 PFS 사이에 강한 상관성이 확인되었다 (도 1b). KIR2DS5 발현 수준이 최고(4th) 사분위수에 있는 환자는 나머지 환자에 비하여 통계적으로 유의한 더 긴 PFS를 가졌다. 이 상관성은 치료에 대한 반응 가능성을 증가시키기 위하여 AML 환자가 티피파르닙 치료를 위해 KIR2DS5의 발현 수준에 기초하여 선별될 수 있음을 지지한다.

[0741] 2. KIR2DS2 대 KIR2DL2의 발현 비율과 티피파르닙의 임상 효과 사이의 특이적 상관성

[0742] 도 2a 및 2b에 나타난 대로, KIR2DS2의 발현 수준 대 KIR2DL2의 발현 수준의 비율(2DS2/2DL2 비율)은 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 PFS(도 2a) 및 OS(도 2b) 둘 모두와 강하게 상관되었다. 나타난 대로, 최고(4th) 사분위수의 2DS2/2DL2 비율을 가진 환자는 환자 개체군의 나머지에 비하여 통계적으로 유의하게 더 긴 PFS(중앙값 = 431일) 및 OS(중앙값 = 750일)를 가졌다.

[0743] 또한, 2DS2/2DL2 비율과 임상 효과 사이의 상관성은 티피파르닙에 대해 특이적이었으며, 시타라빈 및 미토잔트론과 같은 다른 비-FTI 화학요법제에 대해서는 관찰되지 않았다(Metzeler KH et al., Blood, 112:4193-201 (2008)로부터의 화학요법 데이터). 도 3a 및 3b 및 하기 표에 나타난 대로, 고 투여량의 시타라빈과 미토잔트론으로 치료된 AML 환자의 생존 확률은 최고 오분위수의 2DS2/2DL2 비율을 가진 환자와 나머지 환자 사이에서 구별되지 않았다.

연구	5 th Q/1-4 th Q/ 모든 중앙값 (일)	세팅	치료	HR	N/5 th Q
GSE12417-GPL96	233/321/294	1차	고 투여량 시타라빈+ 미토잔트론	1.39	163/33
GSE12417-GPL570	308/624/538	1차	고 투여량 시타라빈+ 미토잔트론/ 17pts에서 강한 화학요법	1.38	79/16
GSE8970 (CTEP-20)	754/179/233	1차 노인	티피파르닙	0.21	34/7

[0744]

[0745] 2DS2/2DL2 비율과 티피파르닙의 임상적 효과 사이의 특이적 상관성은 치료에 대한 전체적 반응을 증가시키기 위하여 AML 환자가 티피파르닙 치료를 위해 2DS2/2DL2 비율에 기초하여 선별될 수 있음을 지지한다.

[0746] 3. KIR2DS5 대 KIR2DL5의 발현 비율과 티피파르닙의 임상 효과 사이의 특이적 상관성

[0747] 도 4a에 나타난 대로, KIR2DS5의 발현 수준 대 KIR2DL5A의 발현 수준의 비율(2DS5/2DL5 비율)은 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 PFS 및 OS 둘 모두와 강하게 상관되었다. 나타난 대로, 최고(4th) 사분위수의 2DS5/2DL5A 비율을 가진 환자는 환자 개체군의 나머지에 비하여 통계적으로 유의하게 더 긴 PFS 및 OS를 가졌다.

[0748] 또한, 2DS5/2DL5 비율과 임상 효과 사이의 상관성은 티피파르닙에 대해 특이적이었으며 시타라빈 및 미토잔트론과 같은 다른 비-FTI 화학요법제에 대해서는 관찰되지 않았다(Metzler KH et al., Blood, 112:4193-201 (2008)로부터의 화학요법 데이터)(도 4b). 도 4b에 나타난 대로, 고 투여량의 시타라빈과 미토잔트론으로 치료된 AML 환자의 생존 확률은 상이한 2DS5/2DL5 비율을 가진 환자 간에 구별되지 않았다.

[0749] 2DS5/2DL5 비율과 티피파르닙의 임상 효과 사이의 특이적 상관성은 치료에 대한 전체적 반응을 증가시키기 위하여 AML 환자가 티피파르닙 치료를 위해 2DS5/2DL5 비율에 기초하여 선별될 수 있음을 지지한다.

[0750] 4. GZMM 발현 수준과 티피파르닙의 임상 효과의 특이적 상관성

[0751] 도 5에 나타난 대로, GZMM의 발현 수준은 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 결과와 연관된다. 상이한 임상 반응에 기초하여 환자를 분류할 때, PD 환자는 GZMM 발현 연속체의 하부 말단에 모여 있으며 4 그룹(CR, HI, SD 및 PD) 중에서 GZMM의 최저 중앙값 발현 수준을 가졌다. CR 환자는 GZMM 발현 연속체의 상부 말단에 모여 있으며 4 그룹 중에서 GZMM의 최고 중앙값 발현 수준을 가졌다.

[0752] 부가적으로, 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 GZMM의 발현 수준과 OS 및 PFS 사이에 강한 상관성이 또한 확인되었다(도 6a). GZMM 발현 수준이 최고(4th) 사분위수에 있는 환자는 나머지 환자에 비하여 통계적으로 유의한 더 긴 OS 및 PFS를 가졌다. GZMM 발현 수준과 임상 효과 사이의 상관성은 티피파르닙에 대해 특이적이었으며 시타라빈 및 미토잔트론과 같은 다른 비-FTI 화학요법제에 대해서는 관찰되지 않았다(도 6b). 이 특이적 상관성은 치료에 대한 전체적 반응을 증가시키기 위하여 AML 환자가 티피파르닙 치료를 위한 GZMM의 발현 수준에 기초하여 선별될 수 있음을 지지한다.

[0753] 5. KIR2DS2 발현 수준과 티피파르닙의 임상 효과의 특이적 상관성

[0754] 도 7a에 나타난 대로, KIR2DS2의 발현 수준은 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 결과와 연관된다. 티피파르닙으로 치료된 AML 환자의 KIR2DS2의 발현 수준과 OS 사이에 강한 상관성이 확인되었다(도 7a). KIR2DS2 발현 수준이 최고(4th) 사분위수에 있는 환자는 나머지 환자에 비하여 통계적으로 유의한 더 긴 OS를 가졌다.(도 7a 및 도 7b, 상부 좌측 패널).

[0755] 도 7b 및 하기 표에 나타난 대로, KIR2DS2의 발현은 완전한 반응률 및 생존기간 중점을 비롯한 임상 효과와 강하게 상관되었다. KIR2DS2 발현의 상부(4th) 사분위수 내의 환자는 564일의 중앙값 생존기간을 갖는 반면, KIR2DS2 발현의 1st -3rd 사분위수 내의 환자는 153일의 중앙값 생존기간을 가졌다. 대조적으로, 독일 AML 협력 그룹 1999 연구(AMLCG 1999)에 등록된 51명의 이전에 치료되지 않은 노인(>65세) AML 환자 서브세트에서 KIR2DS2를 비롯한 NK 세포 마커의 발현과 화학요법 치료로부터 유도된 임상 효과 사이에서는 상관성이 확인되지 않았다(도 7b, 우측 패널). 전 2상 임상 시험에서 티피파르닙으로 치료된 34명의 이전에 치료되지 않은 고위험 노인 AML 환자중에서, 25명이 이전에 MDS를 가졌다. 이 특이적 상관성은 AML 및 MDS를 위한 치료에 대한 반응 가능성을 증가시키기 위하여 티피파르닙 치료를 위해 KIR2DS2의 발현 수준에 기초하여 암 환자가 선별될 수 있음을 지지한다.

치료 (n)	중앙값 전체 생존기간 (일)	KIR2DS2 저 1 st - 3 rd 사분위수 중앙값 생존기간 (일)	KIR2DS2 고 4 th 사분위수 (상부) 중앙값 생존기간(일)	사망 위험률
티피파르닙 (34)	233	153	564	0.303
화학요법 (51)	240	176	284	0.83

[0756]

[0757] 실시예 II

[0758] A. 티피파르닙 임상 시험을 위한 AML 환자의 계층화

[0759] 환자 포함 기준의 일부로서 KIR 타이핑을 포함하는 임상 시험이 수행될 수 있다. 예를 들어, 60세를 초과하거나 또는 다르게는 표준 화학요법에 대해 부적합하거나 또는 불응성 또는 재발된 AML을 가진 AML 환자에서 티피파르닙 치료를 위해 연구가 수행될 수 있다.

[0760] AML 환자가 임상 시험에 승인되기 전에, 환자로부터 골수 샘플 또는 혈액 샘플을 수득한다. 이어서 샘플을 마이

크로어레이 분석한다. 제조사의 설명서(퀴아젠)에 따라 트리졸-가공된 골수의 샘플로부터 DNA를 분리한다. 샘플을 전체적 유전자 발현, 및 KIR2DS2, KIR2DL2, KIR2DS5 및 KIR2DL5를 비롯한 특정 유전자의 정량적 폴리머라제 연쇄 반응(QPCR)에 대해 분석한다. 다른 것 중에서, 마이크로어레이 분석은 환자의 KIR 유전자의 유전형을 제공한다. 만일 환자가 KIR2DS2 유전자의 보유자 또는 KIR2DS5 유전자의 보유자인 것으로 확인되면, 그 환자는 티피파르닙 시험에 대해 승인된다. 예시적인 포함 기준은 하기와 같을 수 있다:

- [0761] - AML 진단의 병리학적 확인(\geq 20% 골수 아세포)
- [0762] - ECOG 성능 상태(performance status) 0 또는 1
- [0763] - 환자는 사전 동의할 수 있어야 함
- [0764] - SGOT 및 SGPT \leq 2.5 x 정상 한계(1 등급)
- [0765] - 혈청 크레아티닌 \leq 1.5 x 정상 한계(1 등급)
- [0766] - AML(하기 중 임의의 것):
 - [0767] - 70세 이상 성인에서 새로 진단된 AML
 - [0768] - 60세 이상 성인에서 MDS로부터 발생한 새로 진단된 AML
 - [0769] - 생검-입증된 재발 또는 불응성 AML
 - [0770] - \geq 30,000 백혈병 아세포/ μ L를 가진 백혈구증가증
 - [0771] - 골수 생검에 의해 확인된, KIR2DS2, 또는 KIR2DS5의 보유자.

[0772] 예시적인 투여량 요법은 1-21일에 하루 두번씩(B.I.D.) 경구로(PO) 600 mg 티피파르닙을 환자에게 제공하는 것일 수 있다. 과정은 질병 진행 또는 허용할 수 없는 독성이 없으면 28일마다 반복된다.

[0773] 완전 완화(CR)비율 및 부분 완화(PR)비율이 시험의 주요 결과 척도일 수 있다.

[0774] **B. 이차 종점으로서 면역 세포 마커를 이용한 티피파르닙 임상 시험을 위한 MDS 환자**

[0775] 환자 포함 기준의 일부로서 KIR 타이핑을 포함하는 임상 시험이 수행될 수 있다. 예를 들어, MDS 또는 구체적으로 보다 저위험 MDS를 가진 AML 환자에서 티피파르닙 치료를 위해 연구가 수행될 수 있다. 연구의 일차 종점은 성인 골수이형성/골수증식성 신생물 국제 작업 그룹(adult Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms International Working Group) 기준 또는 관련 반응 평가 시스템에 따라 수혈 독립성이다. 이차 종점은 면역 세포 마커, 특히 KIR2DS2, KIR2DS5, KIR2DL2, KIR2DL5 및 GZMM과 같은 NK 세포 마커의 분석을 포함할 수 있다.

[0776] 보다 저위험 MDS를 가진 환자가 임상 시험에 승인되면, 환자로부터 골수 샘플 또는 혈액 샘플을 수득한다. 이어서 샘플을 마이크로어레이 분석한다. 제조사의 설명서(퀴아젠)에 따라 트리졸-가공된 골수의 샘플로부터 DNA를 분리한다. 샘플을 전체적 유전자 발현, 및 KIR2DS2, KIR2DS5, KIR2DL2, 및 KIR2DL5 및 GZMM과 같은 특정 유전자의 정량적 폴리머라제 연쇄 반응(QPCR)에 대해 분석한다. 다른 것 중에서, 마이크로어레이 분석은 환자의 KIR 유전자의 유전형을 제공한다.

[0777] 예시적인 투여량 요법은 1-21일에 하루 두번씩(B.I.D.) 경구로(PO) 600 mg 티피파르닙을 환자에게 제공하는 것일 수 있다. 과정은 질병 진행 또는 허용할 수 없는 독성이 없으면 28일마다 반복된다.

[0778] 저위험 MDS를 가진 환자 개체군에서 티피파르닙의 임상 시험에서의 환자 선별을 돕기 위하여 동반 진단 시험이 또한 이용될 수 있다. 본 명세서에 개시되거나 다르게는 본 기술분야에 알려진 대로 NK 세포에서 KIR 유전자의 존재 또는 부재를 검출하는 유전자 분석이 이용될 수 있다. 바이오마커 발현 수준을 결정하기 위한 본 명세서에 개시되거나(예를 들어, PCR 기반 분석) 또는 다르게는 본 기술분야에 알려진 분석이 또한 이용될 수 있으며, 환자 선별을 위한 적절한 바이오마커 컷오프 기준이 후속 임상 연구를 위해 결정될 수 있다.

[0779] **실시예 III**

[0780] **CMML 환자를 위한 개인화된 치료 결정**

[0781] CMML 환자가 티피파르닙 치료와 같은 FTI 치료에 적합한지를 결정하기 위하여 하기 절차를 따를 수 있다.

[0782] BM 샘플을 치료 전에 환자로부터 수집하고, 단핵 세포를 현장에서 가공하였다. 트리졸 키트(퀴아젠, 캘리포니아주 산타 클라리타)를 이용하여 전체 RNA를 세포 샘플로부터 추출한다. RNA 품질은 어질런트 바이오에널라이저

(Agilent Bioanalyzer)(어질런트(Agilent), 캘리포니아주 팔로 알토)에서의 리보솜 밴드의 존재를 평가하여 결정한다. 우수한 품질의 샘플을 마이크로어레이 분석을 위하여 추가 가공한다.

[0783] 각 샘플을 위하여, 1 g의 전체 RNA(OD260에 의해 평가됨)를 고 성능 cDNA 역전사 키트(어플라이드 바이오시스템즈, 캘리포니아주 포스터시티)를 이용하여 제조사의 설명서에 따라 역전사한다. 이어서 샘플을 적절한 RNA 전환을 위해 10분 동안 25°C에서 항온처리한 후 30분 동안 37°C에서 항온처리할 수 있다. QPCR은 ABI 프리즘 7900HT 서열 검출 시스템(어플라이드 바이오시스템즈)를 이용하여 수행하며 모든 샘플을 세벌씩 러닝한다. 각 반응은 우라실-N-글리코실라제(어플라이드 바이오시스템즈), 4.5 μL cDNA 주형, 및 0.5 μL의 20X 에세이 온 디맨드 (Assay on Demand) 유전자 발현 분석 믹스(어플라이드 바이오시스템즈) 또는 9 pmol 전방 및 역방 프라이머 및 2.5 pmol 프로브를 함유하는 5 μL 택맨 유니버셜 PCR 마스터 믹스를 10 μL의 총 반응 부피내에 함유한다. 모든 프라이머 및 플루오르세인 아마다이트(FAM) 형광색소 프로브 세트가 100 미만 뉴클레오티드 앰플리콘을 생성하기 위해 선택되어, 분해된 RNA 샘플로부터 전사물의 증폭을 허용한다. 프라이머 및 프로브는 KIR2DS2 및 KIR2DL2의 특이적 증폭을 위해 설계된다. 모든 프라이머 세트는 엑손 경계에 걸치며 따라서 mRNA 전사물을 특이적으로 증폭시키며 게놈 DNA는 증폭시키지 않는다.

[0784] 그 후, KIR2DS2/KIR2DL2 발현 비율을 본 기술분야에 알려진 방법을 이용하여 계산한다(예를 들어, 그 전체가 참고로 본원에 포함되는 Ma et al., Cancer Cell, 5:607-616 (2004)). 미가공 Ct 값은 샘플 세트로부터 평균 Ct 를 차감하고, 표준 편차로 나눈 후, 각 유전자의 정규화된 Ct 값의 차이를 계산함으로써 정규화된다.

[0785] 본 명세서에 개시된 대로, KIR2DS2/KIR2DL2의 기준 발현 비율은 통계 분석에 의해 결정될 수 있다. 도 2a 및 2b(상기 실시예 I, II)에 나타난 대로, 예를 들어, 기준 발현 비율은 나머지 환자로부터 최고(4th) 사분위수의 2DS2/2DL2 비율을 가진 환자를 구별하는 발현 비율일 수 있다. 따라서, 만일 CMML 환자의 2DS2/2DL2 비율이 기준 비율보다 높은 것으로 결정되며(즉, CMML 환자의 2DS2/2DL2 비율이 최고 (4th) 수분위수에 있으며), 그리고 환자가 달리 티피파르닙 치료를 받는 것이 금지되지 않으면, 티피파르닙 치료가 처방된다. 한편, 만일 CMML 환자의 2DS2/2DL2 비율이 기준 비율보다 낮은 것으로 결정되면, 티피파르닙 치료가 권장되지 않는다.

[0786] 만일 티피파르닙 치료가 CMML 환자에게 처방되면, CMML 환자는 종양학자가 적합한 것으로 판단하는 대로, 이온화 방사선 또는 두번째 활성 제제 또는 보조 케어 치료법과 같은 다른 치료를 동시에 받을 수 있다. 두번째 활성 제제는 아자시티딘 또는 데시타빈과 같은 DNA-저메틸화 제제일 수 있다.

[0787] 실시예 IV

[0788] 야생형 K-RAS/N-RAS 상태를 가진 골수 및 림프 세포주에서 티피파르닙을 위한 낮은 IC50

[0789] 하기 표에 나타난 대로, 다수의 골수 및 림프 세포주에서의 티피파르닙 IC50 데이터의 분석은, 코돈 12, 13 및/또는 61 N-RAS 또는 K-RAS 돌연변이를 보유한 세포주가 티피파르닙에 저항성인 반면, 야생형 N-RAS 및 K-RAS를 가진 것들을 비롯한 이들 돌연변이를 보유하지 않은 세포주는 티피파르닙 치료에 더 민감성임을 밝혔다.

[0790] 골수 및 림프 세포주를 위한 티피파르닙 IC 50.

세포주	NRAS	KRAS	티피파르닙 IC50 (log μM)
ML-2	wt	A146T	-4.29
SIG-M5	wt	wt	-4.23
QIMR-WIL	wt	wt	-4.12
CMK	wt	wt	-1.89

[0791]

GDM-1	wt	wt	-1.04
HEL	wt	wt	-0.93
NKM-1	wt	wt	-0.26
CESS	wt	wt	0.70
OCI-AML2	wt	wt	0.71
KG-1	wt	wt	1.12
MONO-MAC-6	wt	wt	1.21
CTV-1	wt	wt	1.52
HL-60	Q61L	wt	1.94
KMOE-2	Q61R	wt	2.14
K052	G13R	wt	2.77
NOMO-1	wt	G13D	6.84
THP-1	G12D	wt	7.67
P31-FUJ	G12C	wt	7.76

[0792]

[0793]

암에서 약물 민감성의 유전체학으로부터의 데이터("GDSC").

[0794]

실시예 V

[0795]

N-RAS/K-RAS 야생형 중양 상태를 가지며 티피파르닙으로 치료된 MDS/CMML 환자에서의 지속적 반응

[0796]

21명의 MDS 환자를 1상 투여량 상승 연구에서 티피파르닙으로 치료하였다. 티피파르닙을 하루 두 번 투여하였다 (8주 동안 3주-온/1-주-오프 스케줄)(시작 투여량, 하루 두 번 경구로 300 mg; 총 600 mg).

[0797]

목적 반응 3 HI, 2PR 및 1 CR이 20명의 평가가능 환자 중 6명에서 관찰되었다(30%). 하기 표 2에 나타난 대로, 야생형 N-RAS 및 K-RAS를 가진 MDS 환자가 지속적 반응을 가질 가능성이 더 높다(Kurzrock *et al.*, *Blood*, 102(13):4527- 34 (2003)).

진 단	반 응	기간(월)	총 일일 투여량, mg	Ras 돌연변이
RAEB	HI	16	300*	없음
CMML	HI	2	600	있음 (K-RAS)
CMML	PR	6	600	있음 (N-RAS)
CMML	PR	16+	800	없음

[0798]

RAEB	HI	3	900	없음
RAEB-T	CR	9+	800	없음

[0799]

[0800]

* 환자는 600 mg/d의 총 일일 투여량으로 시작하였으나 2주 후에 감소되었다.

[0801]

RAEB: 과다 아세포를 가진 불응성 빈혈.

[0802]

[0803]

실시예 VI

- [0804] **N-RAS 야생형 상태를 가지며 티피파르닙으로 치료된 AML 환자에서 연장된 PFS 및 더 높은 반응률**
- [0805] CTEP-20은 이전에 치료받지 않은 노인 또는 부적합한 AML 환자에서의 티피파르닙의 2상 임상 시험이었다(Raponi *et al.*, *Blood* 111:2589-96 (2008)).
- [0806] N-RAS 유전자 상태를 32명 환자에 대해 결정하였다. 도 8에 나타난 대로, 돌연변이 N-RAS를 가진 환자에 비하여 (PFS = 65일) 야생형 N-RAS를 가진 AML 환자에서 더 나은 PFS 경향이 관찰되었다(PFS = 157일). 도 9에 나타난 대로, 야생형 N-RAS를 가진 환자(43% ORR)가 돌연변이 N-RAS를 가진 환자(27% ORR)에 비하여 더 높은 반응률을 가진다. 따라서, 치료에 대한 반응을 증가시키기 위하여 티피파르닙 치료를 위해 RAS 유전자의 돌연변이 상태에 기초하여 AML 환자를 선별할 수 있다.
- [0807] **실시예 VII**
- [0808] **RAS 돌연변이 상태에 기초하여 계층화된 CMML 환자에서 티피파르닙 임상 시험**
- [0809] 본 실시예는 1차 목적이, 골수이형성/골수증식성 국제 작업 그룹(MDS/MPN IWG) 기준을 이용하여 목적 반응률 (ORR) 면에서, 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML)을 가진 개체에서 그리고 그 질병이 KRAS/NRAS 야생형을 가진 CMML 개체에서 티피파르닙의 항종양 활성을 평가하는 것인 티피파르닙의 2상 임상 연구를 개시한다. 이차 목적은 CR 비율, 완전한 세포유전학적 완화, 부분 완화, 골수 반응 및 임상 효과; 반응의 기간; 1년에 PFS의 비율; 1년에 생존기간의 비율; 미국 국립 암연구소의 부작용 표준 용어 기준(National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events) version 4.03 (NCI CTCAE v 4.03)에 따른 부작용(AE) 프로파일에 대한 티피파르닙의 효과를 평가하는 것을 포함한다.
- [0810] 이 2상 연구는 CMML을 가진 개체에서 티피파르닙의 ORR 면에서의 항종양 활성을 조사한다. 최대 20명의 자격이 되는 개체가 등록되고 개체 KRAS 및/또는 NRAS 돌연변이 상태에 기초하여 두 계층(계층 당 대략 10명 개체) 중 하나로 소급하여 계층화된다. 첫번째 계층은 중앙 KRAS 및 NRAS 야생형 상태를 가진 개체를 등록할 수 있다. 두 번째 계층은 중앙 KRAS 돌연변이, NRAS 돌연변이 또는 이중 돌연변이 상태를 가진 개체를 등록할 수 있다.
- [0811] 개체는 28일 사이클에서 격주로 7일 동안(1-7일 및 15-21일) 하루에 두번씩(b.i.d.), 음식과 경구로, 900 mg의 시작 투여량으로 티피파르닙이 투여될 수 있다. 조사자의 판단으로, 만일 개체가 900 mg 투여량 수준에서 투여량을 제한하는 독성을 경험하지 않았다면 티피파르닙의 투여량은 1200 mg b.i.d.로 증가될 수 있다. 티피파르닙에 관련된 것으로 생각되며 14일 이상 지속되는 심각한 부작용(SAE) 또는 ≥ 2 등급 치료후-발생 부작용(TEAE)을 일으키는 개체는 투여량 상승을 진행하지 않을 것이다. 치료-관련, 치료후-발생 독성을 제어하기 위하여 단계적인 300 mg 투여량 감소가 또한 허용된다.
- [0812] 관리할 수 없는 독성이 없으면, 개체는 질병 진행때까지 티피파르닙 치료를 계속 받을 수 있다. 만일 완전 반응이 관찰되면, 티피파르닙을 이용한 치료가 반응 시작을 지나 적어도 6개월 동안 유지될 수 있다.
- [0813] 질병 평가(골수, 혈액학 및 삶의 질 평가)는 스크리닝시에 그리고 사이클 2, 4, 6 및 그 후 대략 12주마다(사이클 9, 12, 15 등) 수행되는 22일 방문(± 5 일)에서 수행될 수 있다. 말초 혈액 평가 및 수혈 요구의 리뷰를 비롯한 혈액학적 평가는 스크리닝시에 그리고 질병 진행때까지 적어도 매월 수행될 수 있다. 골수 흡입물/생검을 스크리닝하는 것은 사이클 1의 1일 이전에 4주 이내에 그들의 진단을 확인하는 골수 흡입물/생검을 가진 개체에서는 치료를 시작하기 위해 필요하지 않으며 연구 목적의 완료를 위한 샘플을 제공할 수 있다. 만일 골수 흡입물이 계획된 질병 평가를 위해 부적절하면, 골수 생검이 수행될 수 있다. 추가의 질병 또는 혈액학 평가는 조사자가 필요하다고 생각하면 수행될 수 있다. 질병 및 혈액학적 평가의 타이밍은 잠재적 치료 사이클 지연과 독립적으로 가능한 많이 유지된다.
- [0814] **실시예 VIII**
- [0815] **CMML 환자를 위한 개인화된 치료 결정**
- [0816] CMML 환자가 티피파르닙 치료와 같은 FTI 치료를 위해 적합한지 결정하기 위하여 하기 절차를 취할 수 있다.
- [0817] DNA는 주로 CMML 체시에서 환자의 골수 세포(단핵 세포 또는 비피 코트) 또는 말초 혈액으로부터 추출될 수 있다. N-Ras 및 K-Ras의 돌연변이 상태는 ABI 3100 시퀀서(어플라이드 바이오시스템즈, 캘리포니아주 포스터 시티)에서의 형광 프라이머-채택 쇄 종결 방법을 이용하여 DNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 직접 시퀀싱이 음성일 경우, PCR 생성물이 클로닝되고(오리지널 TA 클로닝 키트; 인비트로젠, 네덜란드 그로닝겐) 시퀀싱된다.
- [0818] 만일 CMML 환자가 K-Ras 또는 N-Ras의 코돈 12, 13 및 61에서 어떤 돌연변이도 갖지 않는 것으로 결정되거나,

또는 만일 CMML 환자가 야생형 K-Ras 및 N-Ras를 갖는 것으로 결정된다면, 그리고 만일 환자가 달리 티피파르닙 치료를 받는 것이 금지되지 않는다면, 티피파르닙 치료가 처방된다. 한편, 만일 CMML 환자가 N-Ras 또는 K-Ras의 활성화를 야기하는 N-Ras 또는 K-Ras 돌연변이를 갖는 것으로 결정되면, 티피파르닙 치료가 권장되지 않는다.

[0819] 만일 티피파르닙 치료가 CMML 환자에게 처방되면, CMML 환자는 중앙학자가 적합한 것으로 판단하는 대로, 이온화 방사선 또는 두번째 활성 제제 또는 보조 케어 치료법과 같은 다른 치료를 동시에 받을 수 있다. 두번째 활성 제제는 아자시티딘 또는 데시타빈과 같은 DNA-저메틸화 제제일 수 있다.

[0820] **실시에 IX**

[0821] **HRAS 돌연변이에 기초하여 계층화된 고행 종양 환자에서 티피파르닙 임상 시험**

[0822] 공지의 HRAS 돌연변이를 가진 진행된 종양의 치료에서 티피파르닙을 이용하기 위하여 2상 임상 시험을 시작하였다. 임상 시험 설계는 각 18명 환자의 2 코호트를 등록하는 것을 포함한다. 코호트 1은 갑상선 조직학에 관계없이, HRAS 돌연변이를 가진 악성 갑상선 종양을 가진 개체를 등록한다. 코호트 2는 적합성 기준을 충족하는 갑상선암 외의 다른 비-혈액학적 HRAS 돌연변이 종양을 가진 임의의 개체를 등록한다.

[0823] 이 임상 시험은 두 단계를 포함하도록 설계되었으며, 첫번째 단계는 11명의 평가가능한 환자를 포함하고, 두번째 단계는 7명의 추가의 평가가능한 환자를 포함하였으며, 만일 첫번째 단계에서 코호트에서 하나의 목적 반응이 관찰되거나 목적 반응이 관찰되지 않으면 코호트는 두번째 단계로 진행하지 않을 것이다. 만일 적어도 4명 반응이 18명 개체로부터 코호트에서 관찰되면 임상 시험은 긍정적으로 간주된다. 일차 종점이 목적 반응률이며, 종양 반응 평가는 고행 종양에서의 반응 평가 기준(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) version 1.1 기준에 따라 수행된다(반응의 확인이 필요하다).

[0824] 프로토콜에 따라, 티피파르닙은 28일 사이클에서 격주로 7일 동안(1-7일 및 15-21일) 하루에 두번씩(b.i.d.), 음식과 경구로, 900 mg의 시작 투여량으로 등록된 환자에게 투여된다. 조사자의 판단으로, 만일 개체가 900 mg 투여량 수준에서 투여량을 제한하는 독성을 경험하지 않았다면 티피파르닙의 투여량은 1200 mg b.i.d.로 증가될 수 있다. 티피파르닙에 관련된 것으로 생각되며 14일이상 지속되는 심각한 부작용(SAE) 또는 ≥ 2등급 치료후-발생 부작용(TEAE)을 일으키는 개체는 투여량 상승을 진행하지 않을 것이다. 치료-관련, 치료후-발생 독성을 제어하기 위하여 단계적인 300 mg 투여량 감소가 또한 허용된다.

[0825] 4명의 평가가능한 환자가 제1 코호트에 등록되었으며(HRAS 돌연변이를 가진 악성 갑상선 종양을 가진 환자) 11명의 평가가능한 환자가 제2 코호트에 등록되었다(HRAS 돌연변이를 가진 갑상선암 외의 다른 비-혈액학적 암을 가진 환자). 제2 코호트에서는, 그 환자 중 3명이 재발/불응성 두경부 암종을 가지고 그 3명 중 2명이 확인된 목적 부분 반응(PR)을 경험하고 세번째 환자는 6개월 넘게(>8개월) 질병 안정화를 경험하였다. 모든 3명의 두경부 암종 환자가 HPV 음성이다. 모든 두경부 환자는 연구에 남아 있다. 치료의 3 사이클후 두 PR 환자에서 반응이 관찰되었으며, 한명에 대해서는 6 사이클 그리고 다른 한명에 대해서는 3 사이클이었다. 또한, 5명의 등록된 환자가 HRAS 돌연변이를 가진 침샘암을 가지며, 그들 중 3명이 6개월 넘게 질병 안정화를 경험하였다(>7, 9 및 >11개월). 코호트 2는 시험 프로토콜에 따라 추가의 7명 환자의 등록을 위해 시험의 두번째 단계로 진행되었다.

[0826] **실시에 X**

[0827] **고형 종양 환자를 위한 개인화된 치료 결정**

[0828] 고행 종양을 가진 환자가 티피파르닙 치료와 같은 FTI 치료에 적합한지를 결정하기 위하여 하기 절차가 이루어질 수 있다. 환자는 갑상선 종양을 가질 수 있다. 환자는 침샘 종양을 가질 수 있다. 환자는 또한 두경부 종양을 가질 수 있다. 두경부 종양은 두경부 종양 편평 암종일 수 있다.

[0829] DNA는 환자의 종양 샘플로부터 추출될 수 있다. H-Ras의 돌연변이 상태는 ABI 3100 시퀀서(어플라이드 바이오시스템즈, 캘리포니아주 포스터 시티)에서의 형광 프라이머-채택 섹 종결 방법을 이용하여 DNA 시퀀싱에 의해 결정된다. 직접 시퀀싱이 음성일 경우, PCR 생성물이 클로닝되고(오리지널 TA 클로닝 키트; 인비트로젠, 네덜란드 그로닝겐) 시퀀싱된다.

[0830] 만일 고행 종양을 가진 환자가 H-Ras의 코돈 12, 13 및 61에서 돌연변이 또는 H-Ras의 활성화를 야기하는 다른 돌연변이를 갖는 것으로 결정되고 만일 환자가 달리 티피파르닙 치료를 받는 것이 금지되지 않는다면, 티피파르닙 치료가 처방된다. 한편, 만일 환자가 H-Ras의 활성화를 야기하는 어떤 돌연변이도 갖지 않거나 야생형 H-Ras

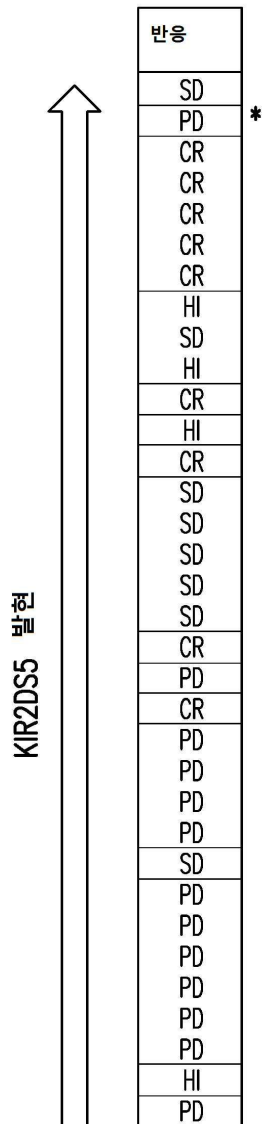
를 갖는 것으로 결정되면, 티피파르닙 치료가 권장되지 않는다.

[0831]

만일 티피파르닙 치료가 환자에게 처방되면, 환자는 종양학자가 적합한 것으로 판단하는 대로, 이온화 방사선 또는 두번째 활성 제제 또는 보조 케어 치료법과 같은 다른 치료를 동시에 받을 수 있다. 두경부 편평 암종 환자에서는, 추가의 치료는 항-EGFR 항체 치료, 항-PD1/PDL1 치료일 수 있다.

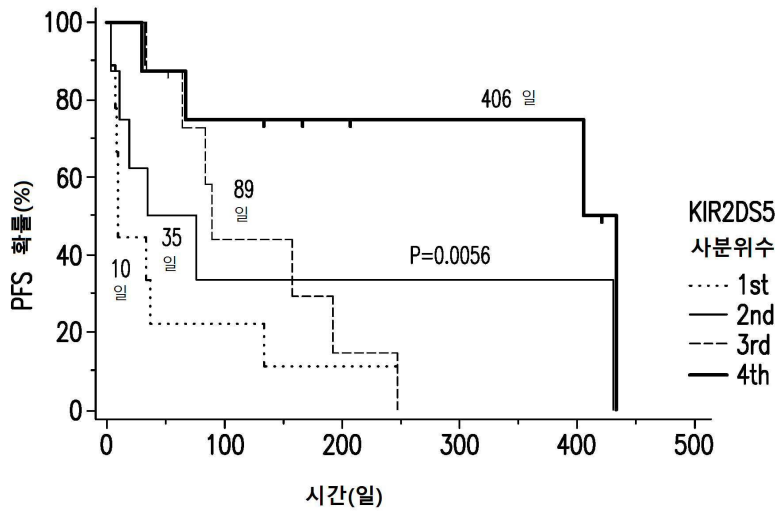
도면

도면1a

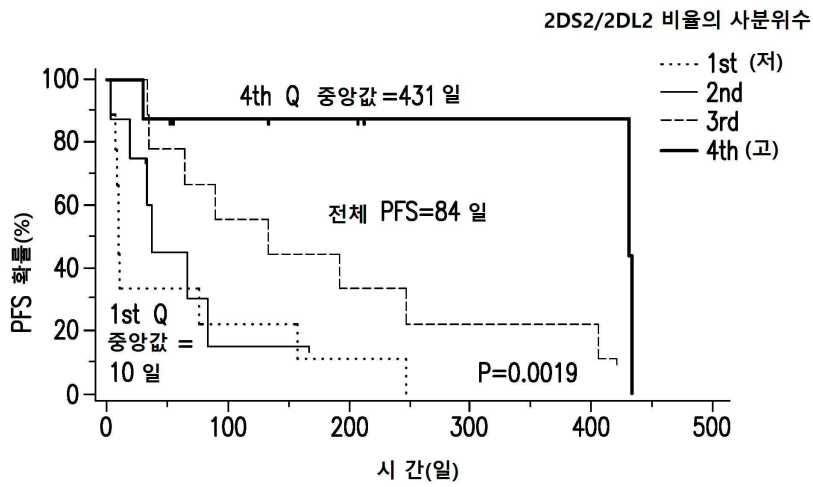


* 30일 PD를 갖지만 754일 생존한 환자

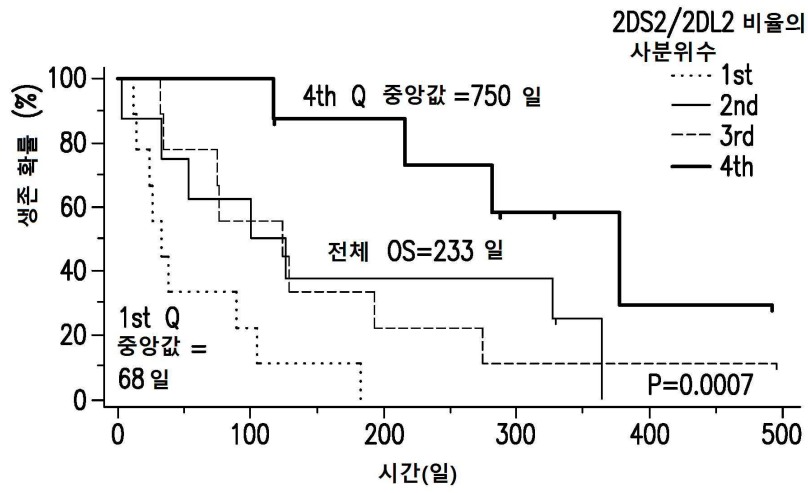
도면1b



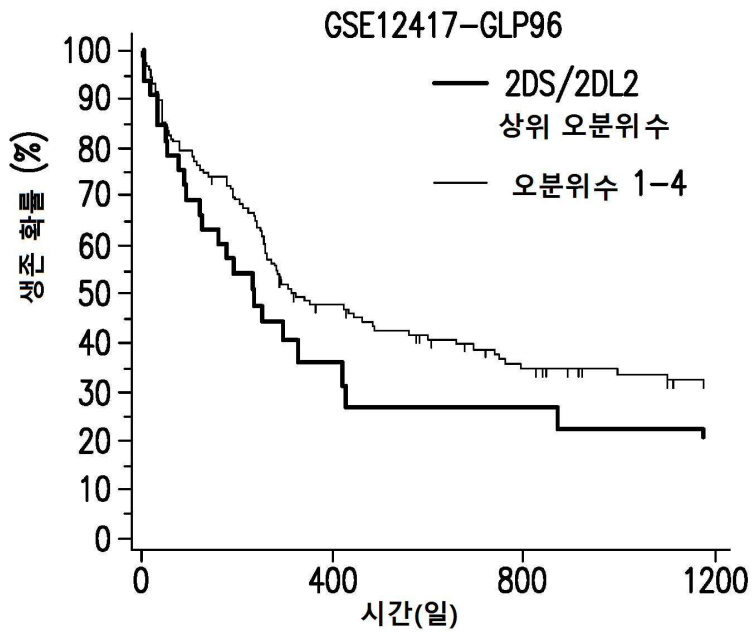
도면2a



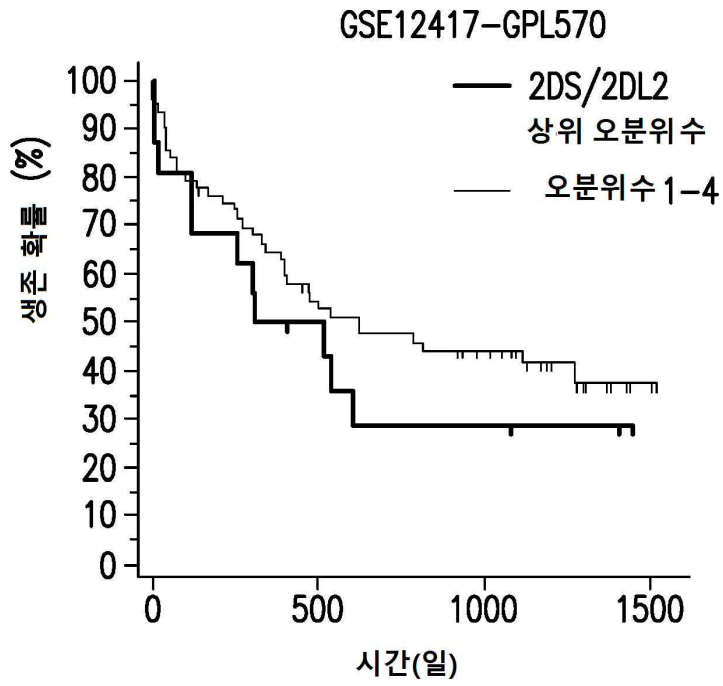
도면2b



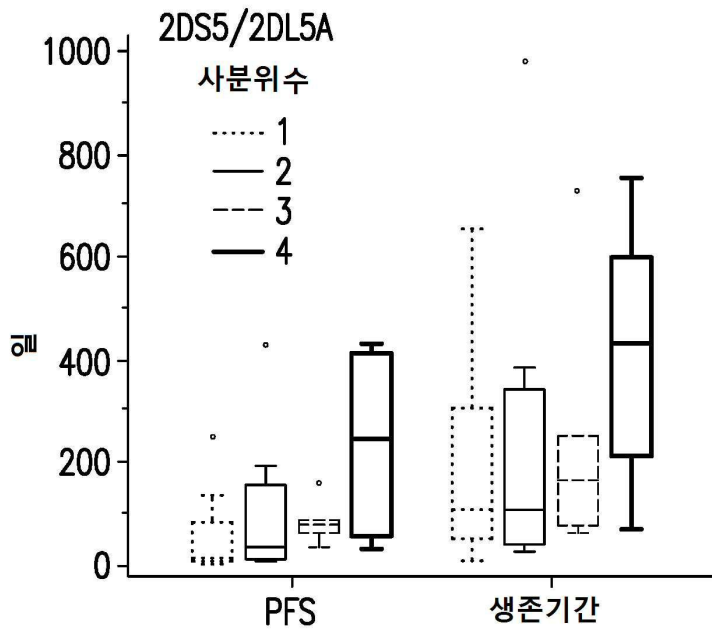
도면3a



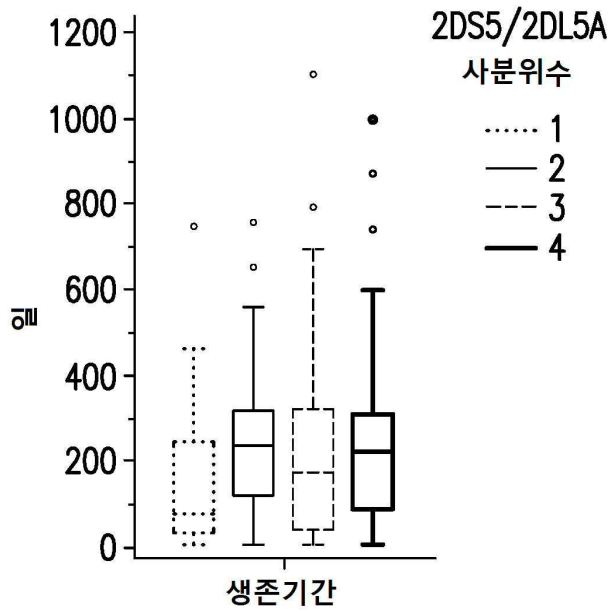
도면3b



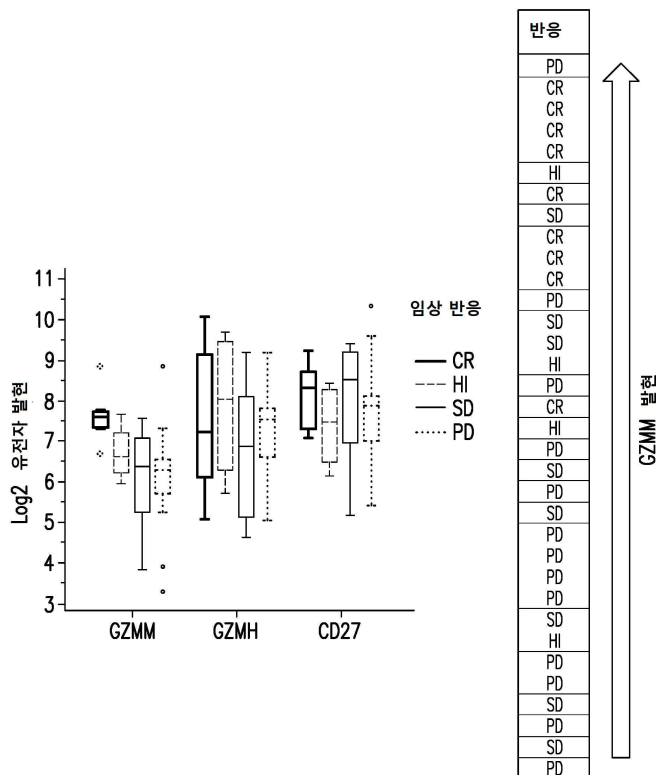
도면4a



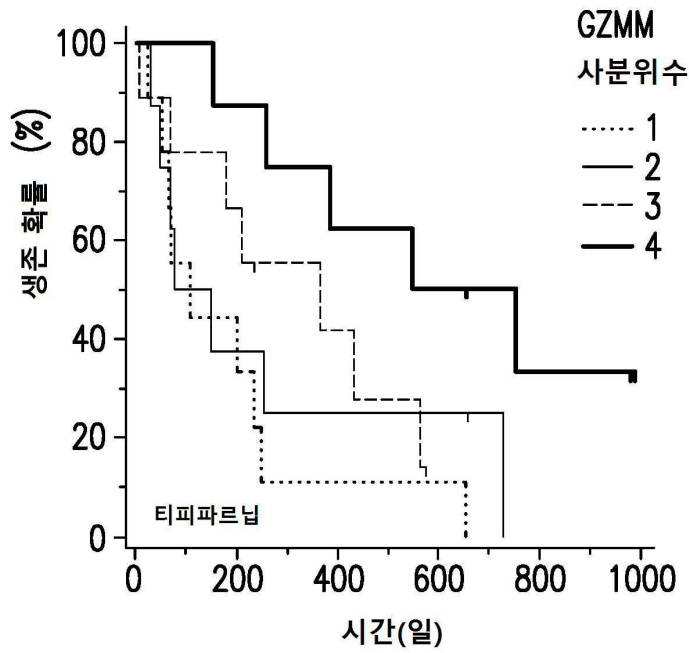
도면4b



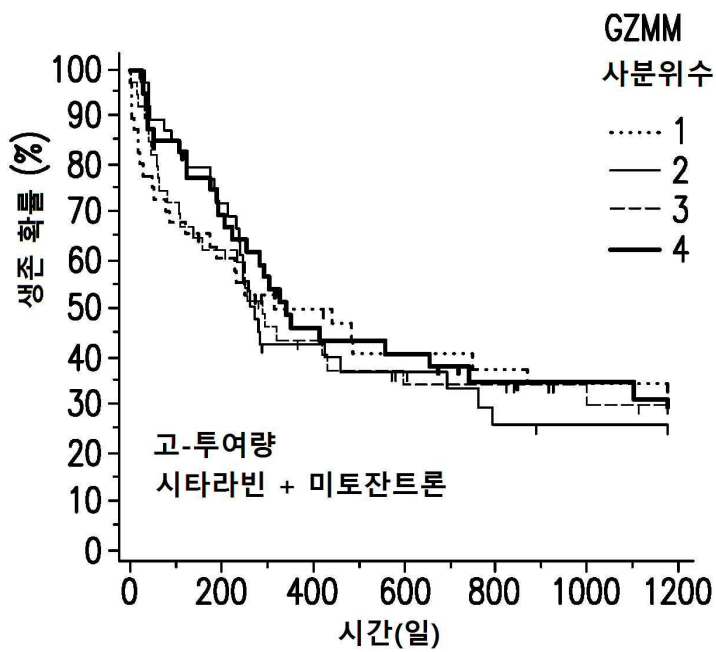
도면5



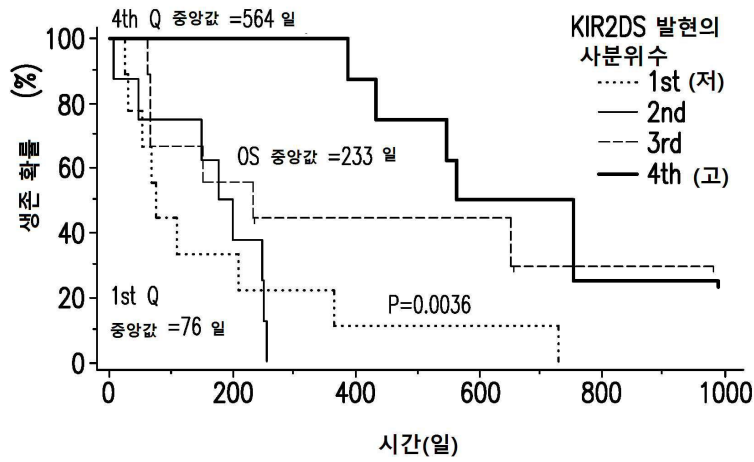
도면6a



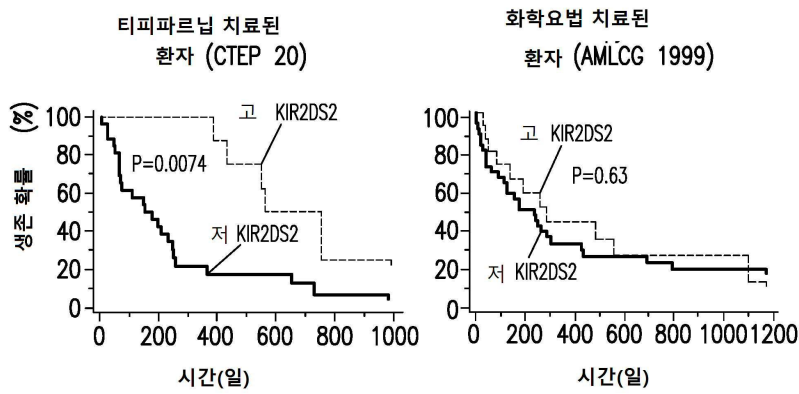
도면6b



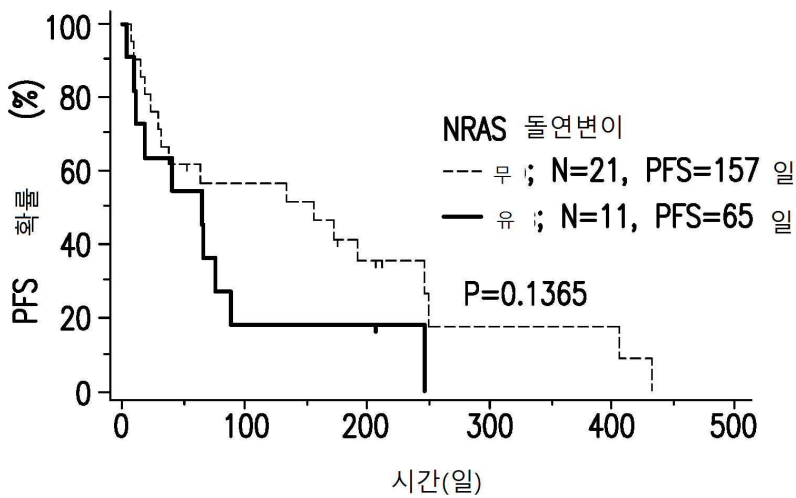
도면7a



도면7b



도면8



도면9

WT NRAS 환자에서의
반응

돌연변이 NRAS
환자에서의
반응

CR
CR
HI
SD
SD
SD
SD
PD
PD
PD
PD

CR
CR
CR
CR
CR
CR
HI
HI
HI
SD
SD
SD
SD
SD
SD
SD
SD
PD
PD
PD
PD
PD
PD
PD
PD
PD

WT NRAS: N=21, 6 CRs 및 3 HIs, 43% ORR
 돌연변이 NRAS: N=11, 2 CRs 및 1 HI, 27% ORR