(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0107023
(43) 공개일자 2021년08월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/517 (2006.01) *A61K 31/5365* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/32* (2006.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/517 (2013.01)
A61K 31/5365 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7020491
(22) 출원일자(국제) 2019년12월20일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년06월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/068153
(87) 국제공개번호 WO 2020/132633
국제공개일자 2020년06월25일
(30) 우선권주장
62/784,084 2018년12월21일 미국(US)

(71) 출원인
보드 오브 리전츠, 더 유니버시티 오브 텍사스 시스템
미국 78701 텍사스주 오스틴 웨스트 7번 스트리트 210
(72) 발명자
헤이마치 존 브이.
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤 블러바드, 앤더슨 캔서 센터, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디
로비쇼 재클린
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤 블러바드, 앤더슨 캔서 센터, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디
닐슨 모니크
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤 블러바드, 앤더슨 캔서 센터, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디
(74) 대리인
특허법인한얼

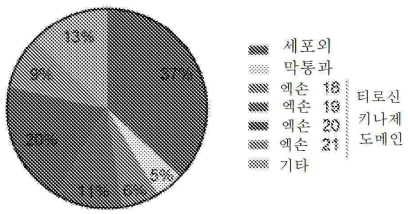
전체 청구항 수 : 총 55 항

(54) 발명의 명칭 **암 치료를 위한 조합 요법**

(57) 요 약

본 개시내용은 제3 세대 티로신 키나제 억제제, 예컨대, 포지오티닙을 HER2 항체-약물 접합체와 함께 조합하여 투여함으로써 HER2 돌연변이, 예컨대, 삽입 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/6803 (2017.08)
A61K 47/6857 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/32 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2018.05)
A61K 2300/00 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C12Q 2600/156 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

유효량의 티로신 키나제 억제제 (tyrosine kinase inhibitor; TKI) 및 HER 항체-약물 접합체(antibody-drug conjugate)를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, HER2 항체가 트라스투주맙인 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, HER2 항체-약물 접합체가 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1)인 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, TKI가 퀴나졸린아민-기반 TKI인 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 퀴나졸린아민-기반 TKI가 포지오티닙, 아파티닙, 네라티닙, 다코미티닙, 또는 탈록소티닙인 것인 방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 퀴나졸린아민-기반 TKI가 포지오티닙인 것인 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 포지오티닙이 16 mg 미만의 용량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 포지오티닙 및 T-DM1을 투여받는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 대상체가 단일 용량의 T-DM1을 투여받는 것인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, TKI가 HER2 항체-약물 접합체 이전에 투여되는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, TKI가 HER2 항체-약물 접합체 이후에 투여되는 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, TKI가 HER2 항체-약물 접합체와 동시에 투여되는 것인 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 HER2 돌연변이체 암인 것인 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, HER2 돌연변이체 암이 엑손 19-21의 범위에 있는 티로신 키나제 도메인 내의 HER2의 활성화

돌연변이를 포함하는 것인 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, HER2 돌연변이체 암이 V754M, L755S, L755P, D769H, D769N, D769Y, V773M, V777L, Y772dupYVMA, G776delinsVC, G776delinsVV, G776delinsLC, V777insCG, G778insLPS, P780insGSP, L786V, V842I, 및 L869로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 것인 방법.

청구항 16

제13항에 있어서, HER2 돌연변이체 암이 엑손 19, 엑손 20, 및/또는 엑손 21 돌연변이를 갖는 것인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, HER2 돌연변이체 암이 엑손 20 돌연변이를 갖는 것인 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 엑손 20 돌연변이가 HER2의 아미노산 E770-R786 사이의 1-18개의 뉴클레오티드의 하나 이상의 점 돌연변이(point mutation), 삽입, 및/또는 결실을 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 엑손 20 돌연변이가 잔기 Y772, V773, A775, G776, V777, G778, S779, 및/또는 P780에 존재하는 것인 방법.

청구항 20

제17항에 있어서, 엑손 20 돌연변이가 엑손 20 삽입 돌연변이인 것인 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 엑손 20 삽입 돌연변이가 Y772dupYVMA, G778dupGSP, 및/또는 G776delinsVC인 것인 방법.

청구항 22

제16항에 있어서, 엑손 19 돌연변이가 잔기 L755 또는 D769에 존재하는 것인 방법.

청구항 23

제16항에 있어서, 엑손 19 돌연변이가 L755P인 것인 방법.

청구항 24

제16항에 있어서, 엑손 20 돌연변이가 점 돌연변이인 것인 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 엑손 20 점 돌연변이가 잔기 C805에 존재하는 것인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 엑손 20 점 돌연변이가 C805S인 것인 방법.

청구항 27

제16항에 있어서, 엑손 21 돌연변이가 점 돌연변이인 것인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 점 돌연변이가 잔기 V842 또는 L869에 존재하는 것인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 점 돌연변이가 V842I 또는 L869R인 것인 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 폐암인 것인 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 폐암이 비소세포 폐암 (NSCLC)인 것인 방법.

청구항 32

제6항에 있어서, 포지오티닙이 경구적으로 투여되는 것인 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, 포지오티닙이 5-25 mg의 용량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 34

제32항에 있어서, 포지오티닙이 8 mg, 12 mg, 또는 16 mg의 용량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 포지오티닙이 추가로 포지오티닙 히드로클로라이드 염으로 정의되는 것인 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 포지오티닙 히드로클로라이드 염이 정제로서 제제화되는 것인 방법.

청구항 37

제6항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 포지오티닙 및/또는 T-DM1이 정맥내로, 피하로, 골내로, 경구적으로, 경피적으로, 지속 방출로, 방출 조절형으로, 지연 방출로, 좌제로서, 또는 설하로 투여되는 것인 방법.

청구항 38

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 항암 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 추가의 항암 요법이 화학요법, 방사선요법, 유전자 요법, 수술, 호르몬 요법, 항혈관신생 요법 또는 면역요법인 것인 방법.

청구항 40

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 인간인 것인 방법.

청구항 41

TKI 및 HER 항체-약물 접합체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 42

제41항에 있어서, TKI가 포지오티닙이고, HER 항체-약물 접합체가 T-DM1인 것인 조성물.

청구항 43

암을 앓는 대상체로부터 수득된 게놈 샘플 중 HER2 돌연변이를 검출하는 단계로서, 여기서 샘플이 HER2 돌연변이의 존재에 대해 양성 반응을 보인다면, 이때 환자는 HER2 항체-약물 접합체 및 항암 요법과 함께 조합된 포지오티닙에 대하여 바람직한 반응을 보일 것으로 예측되는 것인, 암을 앓는 대상체에서 HER2 항체-약물 접합체와 함께 조합된 TKI에 대한 반응을 예측하는 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, HER2 돌연변이가 엑손 19, 엑손 20, 및/또는 엑손 21 돌연변이인 것인 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 엑손 20 돌연변이가 HER2의 아미노산 E770-R786 사이의 1-18개의 뉴클레오티드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함하는 것인 방법.

청구항 46

제44항에 있어서, 엑손 20 돌연변이가 잔기 Y772, V773, A775, G776, V777, G778, S779, 및/또는 P780에 존재하는 것인 방법.

청구항 47

제45항에 있어서, 엑손 20 삽입 돌연변이가 Y772dupYVMA, G778dupGSP, 및/또는 G776delinsVC인 것인 방법.

청구항 48

제44항에 있어서, 엑손 19 돌연변이가 잔기 L755 또는 D769에 존재하는 것인 방법.

청구항 49

제44항에 있어서, 엑손 20 돌연변이가 잔기 C805에 존재하는 것인 방법.

청구항 50

제43항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 게놈 샘플이 타액, 혈액, 소변, 정상 조직, 또는 종양 조직으로부터 단리된 것인 방법.

청구항 51

제43항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, HER2 돌연변이의 존재가 핵산 서열분석(nucleic acid sequencing) 또는 PCR 분석에 의해 결정되는 것인 방법.

청구항 52

제43항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, HER 항체-약물 접합체와 함께 조합된 TKI에 대한 바람직한 반응이 종양 크기 또는 부담의 감소, 종양 성장의 차단, 종양-관련 통증의 감소, 암 관련 병리의 감소, 암 관련 증상의 감소, 암 무진행(cancer non-progression), 증가된 무병 기간, 진행까지의 증가된 시간, 관해 유도(induction of remission), 전이 감소, 또는 증가된 환자 생존을 포함하는 것인 방법.

청구항 53

제43항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, TKI가 포지오티닙이고, HER 항체-약물 접합체가 T-DM1인 것인 방법.

청구항 54

제43항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 바람직한 반응을 보일 것으로 예측되는 상기 대상체에게 HER2 항체-약물 접합체와 함께 조합하여 TKI를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 55

제43항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 바람직한 반응을 보일 것으로 예측되는 상기 대상체에게 T-DM1과 함께 조합하여 포지오티닙을 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2018년 12월 21일 출원된 미국 가출원 번호 62/784,084의 이익을 주장하고, 상기 출원은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0002] **배경**

[0003] **1. 분야**

[0004] 본 발명은 일반적으로 분자 생물학 및 의학 분야에 관한 것이다. 더욱 특히, 본 발명은 조합 요법을 이용하여 암 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0005] **2. 관련 분야에 대한 설명**

[0006] 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (HER2) 증폭은 다수의 암 유형에서 발생하며, 예컨대, 트라스투주맙, 퍼투주맙, 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1), 라파티닙 및 네라티닙과 같은 표적화된 작용제가 화학요법 단독인 것과 비교하여 임상 결과를 개선시키는 것으로 나타났다. 현재까지, 유방암 및 위암 중 HER2 증폭 질환을 치료하기 위한 것으로 수개의 HER2 표적화제가 FDA 승인을 받았다. 다수의 암 유형에서 HER2의 활성화 돌연변이가 보고되었지만; 현재, HER2 돌연변이를 보여하는 암에 대해 표적화된 요법에 대하여 FDA 승인을 받은 것은 없다.

[0007] HER2 돌연변이체 암에 대한 표적화된 작용제에 대해 이루어지는 최근의 임상 연구는 공유 결합 제2 세대 티로신 키나제 억제제 (tyrosine kinase inhibitor; TKI), 예컨대, 아파티닙, 네라티닙, 다코미티닙에 초점을 맞추고 있다.

[0008] SUMMIT 범-암(pan-cancer) 연구에서는 네라티닙을 받은 환자는 모든 HER2 돌연변이에 대해 15% 미만의 객관적 반응률 (ORR)을 보였다고 보고되었다 (문헌 [Hyman *et al.*, 2018]). 그러나 여러 연구에서 환자를 암 유형에 의해 계층화하였을 때, 유방암 환자는 네라티닙에 대해 12.5% - 32%의 ORR을 보인 반면; 폐암 환자는 단일 작용제로서 네라티닙에 대해 0%-4%의 반응률을 보였고 (문헌 [Mazieres *et al.*, 2015]), 이는 HER2 억제 효능에서의 암 특이적 차이를 입증하는 것이다. 흥미롭게도, 단일 암 유형 내에서 HER2 표적화된 작용제는 변이체 특이적 차이를 유도하는 것으로 보인다. SUMMIT 시험에서, HER2 키나제 도메인 점 돌연변이(point mutation)를 갖는 환자는 21.4%의 ORR을 보인 반면, 엑손 20 삽입을 갖는 환자는 네라티닙에 대해 7.1%의 ORR을 보였다. 추가로, 다코미티닙은 HER2 돌연변이체 NSCLC에 대해 11.5%의 ORR을 가진 반면, HER2 엑손 20 삽입 돌연변이, Y772dupYVMA를 보유하는 환자들 사이에서는 어떤 반응도 발생하지 않았고 (문헌 [Kris *et al.*, 2015]); 아파티닙에 관한 별개의 두 연구에서, 엑손 20 삽입 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자는 아파티닙에 대해 18.2% 및 18.8%의 반응률을 보였다.

[0009] HER2 모노클로날 항체 및 약물-항체 접합체(antibody-drug conjugate) 연구에서 유사한 결과가 나타났다. 범-암 연구 MyPathway에서는 35개의 상이한 종양 유형에서 항-HER2 모노클로날 항체인 트라스투주맙 및 퍼투주맙의 조합의 효능을 시험하였고, 모든 HER2 돌연변이 및 암 유형에 대한 ORR이 11%인 것으로 보고되었다 (문헌 [Hainsworth *et al.*, 2018]). 상기 연구에서, 포함된 35개의 종양 유형 중에서 단지 21%의 NSCLC 환자 및 1명의 담도암 환자만이 반응하였다. 추가로, T-DM1의 효능을 시험하는 범-HER2 돌연변이체 NSCLC 연구에서, 엑손 20 삽입 돌연변이를 보유하는 환자는 54.5%의 반응률을 보였지만, 엑손 19 돌연변이를 가진 환자는 부분 반응(partial response)을 보이지 않았다 (문헌 [Li *et al.*, 2018]). 환자 결과에서 이러한 암 특이적 및 변이체 특이적 차이는 암 유형 간의 HER2 돌연변이 활동 영역에 관한 상세하고, 체계적인 이해와 확인된 다양한 HER2 돌연변이에 대해 효과적인 요법의 확인에 대한 필요성이 충족되지 않았음을 입증하는 것이다.

[0010] HER2 활성화 돌연변이에 관한 임상전 연구에서도 또한 다양한 TKI에 대한 차별적인 감수성이 보고되었다. HER2 세포외 도메인 내의 돌연변이에 관한 연구에서는 이들 돌연변이가 비-공유결합 억제제, 예컨대, 라파티닙에 대한 내성, 그러나, 네라티닙, 아파티닙, 및 오시메르티닙을 비롯한 공유결합 TKI에 대해서는 강건한 감수성과 연관이 있는 반면 (문헌 [Greulich *et al.*, 2012]), 엑손 19 내의 돌연변이는 라파티닙 및 공유결합 억제제에 대하여 다양한 감수성을 보인다. 추가로, HER2 엑손 20 돌연변이는 비-공유결합 및 공유결합 TKI, 예컨대, 오시메르티닙, 나자티닙, 로시레티닙, 및 올무티닙에 대하여 광범위한 내성을 갖는다는 것이 연구를 통해 입증되었다 (문헌 [Bose *et al.*, 2013]).

[0011] 흥미롭게도, 공유결합 퀴나졸린아민-기반 TKI, 네라티닙, 아파티닙, 및 다코미티닙은 개별 HER2 엑손 20 돌연변이에 대해 차별적인 반응을 유도하지만 (문헌 [Kosaka *et al.*, 2017]); 오직 희귀 HER2 돌연변이만이 임상적으로 관련된 농도에서 상기 TKI에 대해 감수성을 보였다. 더욱 최근에는, 포지오티닙이 환자에서 달성가능한 농

도에서 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이를 억제시켰고; 포지오티닙 치료가 HER2 엑손 20 돌연변이를 보유하는 한 환자에서 방사성 물질 반응을 유도한 것으로 보고되었다 (문헌 [Robichaux *et al.*, 2018]). 그럼에도 불구하고, 단일 HER2 TKI가 HER2 돌연변이체 암 중 가장 흔한 변이체를 표적화하는 것으로 확인된 바는 없다.

발명의 내용

[0012] **요약**

[0013] 본 개시내용의 실시양태는 티로신 키나제 억제제 (TKI) 및 HER2 항체의 조합을 포함하는, 환자에서 암을 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 개시내용은 유효량의 티로신 키나제 억제제 (TKI) 및 HER 항체-약물 접합체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 암을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 측면에서, 암은 폐암이다. 예를 들어, 폐암은 비소세포 폐암 (NSCLC)이다. 일부 측면에서, 대상체는 인간이다.

[0014] 일부 측면에서, HER2 항체는 트라스투주맙이다. 특정 측면에서, HER2 항체-약물 접합체는 트라스투주맙 엠탄신 (T-DM1)이다.

[0015] 특정 측면에서, TKI는 퀴나졸린아민-기반 TKI, 예컨대, 포지오티닙, 아파티닙, 네라티닙, 다코미티닙, 또는 탈록소티닙이다. 특정 측면에서, 퀴나졸린아민-기반 TKI는 포지오티닙이다. 구체적인 측면에서, 포지오티닙은 저용량으로, 예컨대, 1-16 mg, 예컨대, 16 mg 미만, 특히, 10 mg 미만, 예컨대, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9 mg으로 투여된다.

[0016] 특정 측면에서, 대상체는 포지오티닙 및 T-DM1를 투여받는다. 구체적인 측면에서, 대상체는 단일 용량의 T-DM1를 투여받는다.

[0017] 일부 측면에서, 암은 HER2 돌연변이체 암이다. 예를 들어, HER2 돌연변이체는 엑손 19-21의 범위에 있는 티로신 키나제 도메인 내의 HER2의 활성화 돌연변이를 포함한다. 특정 측면에서, HER2 돌연변이체 암은 L755S, L755P, D769H, D769Y, V773M, V777L, Y772dupYVMA, G776delinsVC, G776delinsVV, G776delinsLC, G778insLPS, P780insGSP, L786V, V842I, 및 L869R로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 특정 측면에서, HER2 돌연변이체 암은 엑손 19, 엑손 20, 및/또는 엑손 21 돌연변이를 갖는다. 일부 측면에서, HER2 돌연변이체 암은 엑손 20 돌연변이, 예컨대, HER2의 아미노산 E770-R786 사이의 1-18개의 뉴클레오티드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 갖는다. 특정 측면에서, 엑손 20 돌연변이는 잔기 V773, A775, G776, V777, G778, S779, 및/또는 P780에 존재한다. 특정 측면에서, 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 삽입 돌연변이, 예컨대, Y772dupYVMA, G778dupGSP, 및/또는 G776delinsVC이다. 일부 측면에서, 엑손 19 돌연변이는 잔기 L755 또는 D769, 예컨대, L755P에 존재한다. 특정 측면에서, 엑손 20 돌연변이는 예컨대, 잔기 C805에 존재하는 점 돌연변이, 예컨대, C805S이다. 특정 측면에서, 엑손 21 돌연변이는 점 돌연변이이다. 일부 측면에서, 점 돌연변이는 예컨대, V842I 또는 L869R과 같이 잔기 V842 또는 L869에 존재한다.

[0018] 일부 측면에서, 포지오티닙은 경구적으로 투여된다. 특정 측면에서, 포지오티닙은 5-25 mg의 용량, 예컨대, 8 mg, 12 mg, 또는 16 mg의 용량으로 투여된다. 특정 측면에서, 포지오티닙은 추가로 포지오티닙 히드로클로라이드 염으로 정의된다. 포지오티닙 히드로클로라이드 염은 정제로서 제제화될 수 있다.

[0019] 일부 측면에서, TKI는 HER2 항체-약물 접합체 이전 또는 이후에 예컨대, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 2주, 3주, 1개월 이상의 간격을 두고 투여된다. TKI는 HER2 항체-약물 접합체와 함께 동시에 투여된다.

[0020] 특정 측면에서, 포지오티닙 및/또는 T-DM1는 정맥내로, 피하로, 골내로, 경구적으로, 경피적으로, 지속 방출로, 방출 조절형으로, 지연 방출로, 좌제로서, 또는 설하로 투여된다.

[0021] 추가 측면에서, 본 방법은 추가의 항암 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 측면에서, 추가의 항암 요법은 화학요법, 방사선요법, 유전자 요법, 수술, 호르몬 요법, 항혈관신생 요법 또는 면역요법이다.

[0022] TKI 및 HER 항체-약물 접합체를 포함하는 약학 조성물. 특정 측면에서, TKI는 포지오티닙이고, HER 항체-약물 접합체는 T-DM1이다.

[0023] 암을 앓는 대상체로부터 수득된 게놈 샘플 중 HER2 돌연변이를 검출하는 단계로서, 여기서, 샘플이 HER2 돌연변이의 존재에 대해 양성 반응을 보인다면, 이때 환자는 HER2 항체-약물 접합체 및 항암 요법과 함께 조합된 포지오티닙에 대하여 바람직한 반응을 보일 것으로 예측되는 것인, 암을 앓는 대상체에서 HER2 항체-약물 접합체와 함께 조합된 TKI에 대한 반응을 예측하는 방법.

[0024] HER2 돌연변이는 엑손 19-21의 범위에 있는 티로신 키나제 도메인 내의 HER2의 활성화 돌연변이를 포함할 수 있

다. 특정 측면에서, HER2 돌연변이체 암은 L755S, L755P, D769H, D769Y, V773M, V777L, Y772dupYVMA, G776delinsVC, G776delinsVV, G776delinsLC, G778insLPS, P780insGSP, L786V, V842I, 및 L869R로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 특정 측면에서, HER2 돌연변이체 암은 엑손 19, 엑손 20, 및/또는 엑손 21 돌연변이를 갖는다. 일부 측면에서, HER2 돌연변이체 암은 엑손 20 돌연변이, 예컨대, HER2의 아미노산 E770-R786 사이의 1-18개의 뉴클레오티드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 갖는다. 특정 측면에서, 엑손 20 돌연변이는 잔기 V773, A775, G776, V777, G778, S779, 및/또는 P780에 존재한다. 특정 측면에서, 엑손 20 돌연변이는 엑손 20 삽입 돌연변이, 예컨대, Y772dupYVMA, G778dupGSP, 및/또는 G776delinsVC이다. 일부 측면에서, 엑손 19 돌연변이는 잔기 L755 또는 D769, 예컨대, L755P에 존재한다. 특정 측면에서, 엑손 20 돌연변이는 예컨대, 잔기 C805에 존재하는 점 돌연변이, 예컨대, C805S이다. 특정 측면에서, 엑손 21 돌연변이는 점 돌연변이이다. 일부 측면에서, 점 돌연변이는 예컨대, V842I 또는 L869R과 같이 잔기 V842 또는 L869에 존재한다.

[0025] 특정 측면에서, 게놈 샘플은 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리된 것이다. 일부 측면에서, HER2 돌연변이의 존재는 핵산 서열분석(nucleic acid sequencing) 또는 PCR 분석에 의해 결정된다. 일부 측면에서, HER 항체-약물 접합체와 함께 조합된 TKI에 대한 바람직한 반응은 종양 크기 또는 부담의 감소, 종양 성장의 차단, 종양-관련 통증의 감소, 암 관련 병리의 감소, 암 관련 증상의 감소, 암 무진행(cancer non-progression), 증가된 무병 기간, 진행까지의 증가된 시간, 관해 유도(induction of remission), 전이 감소, 또는 증가된 환자 생존을 포함한다.

[0026] 일부 측면에서, TKI는 포지오티닙이고, HER 항체-약물 접합체는 T-DM1이다. 일부 측면에서, 본 방법은 바람직한 반응을 보일 것으로 예측되는 상기 대상체에게 T-DM1와 함께 조합하여 포지오티닙을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0027] 본 발명의 다른 목적, 특징 및 이점은 하기의 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 본 발명의 정신 및 범주 내에서 다양한 변경 및 변형이 본 명세서의 상세한 설명으로부터 당업자에 명백할 것이므로, 본 발명의 바람직한 실시양태를 나타내는 상세한 설명 및 특정 예는 단지 예시로서 제공된다는 것이 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0028] 하기 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고, 본 발명의 특정 측면을 추가로 입증하기 위해 포함된다. 본 발명은 본원에 제시된 구체적인 실시양태의 상세한 설명과 함께 조합하여 하나 이상의 도면을 참조하여 더 잘 이해될 수 있다.

도 1: HER2 돌연변이는 다양한 암 유형에 존재하고, 여기서, 돌연변이 핫스팟은 수용체 전역에 걸쳐 존재한다. cBioportal 및 MD 앤더슨(cBioportal and MD Anderson) 데이터베이스 (N=2338)에 보고되어 있는 HER2 돌연변이 위치의 빈도를 나타낸 파이 차트.

도 2a-2d: HER2 돌연변이 핫스팟은 암 유형에 따라 달라진다. (**a**) cBioportal 및 MD 앤더슨 (N=2338 HER2 돌연변이)에 보고되어 있는 모든 암 사이에서 11개의 가장 흔한 HER2 돌연변이의 롤리팝(Lollipop) 플롯. 막대 길이는 돌연변이 빈도에 비례한다. (**b-d**) cBioportal 및 MD 앤더슨 데이터베이스에서 NSCLC (**b**, N= 177), 유방암 (**c**, N=143), 및 결장직장암 (**d**, N=219) 사이에서 가장 흔한 (>3%) HER2 돌연변이의 롤리팝 플롯; 막대 길이는 보고된 돌연변이의 빈도에 비례한다.

도 3a-3c: 티로신 키나제 도메인에서 가장 흔한 HER2 변이체는 활성화 돌연변이이다. 14일 동안 IL-3 무함유 조건에서 성장된, HER2 엑손 19 (**a**), HER2 엑손 20 (**b**), 및 HER2 엑손 21 (**c**) 돌연변이를 발현하는 안정한 Ba/F3 세포주의 세포 생존능. 세포 생존능은 매 3일마다 셀 타이터 글로(Cell Titer Glo) 검정법에 의해 측정되었다. 각 세포주에 대하여 평균 ± SEM이 플롯팅되었다 (n=3 생물학적으로 독립된 실험).

도 4a-4f: 포지오티닙은 Ba/F3 세포에서 HER2 돌연변이에 대해 시험된 것 중 가장 강력한 억제제였다. (**a**) 72시간 약물 처리 후 명시된 돌연변이를 안정하게 발현하는 Ba/F3 세포에 대해 그래프패드(GraphPad)에서 산출된 로그 IC_{50} 값의 히트맵. 세포 생존능은 셀 타이터 글로 검정법에 의해 측정되었다 (N≥3). 72시간 동안 네라티닙, 탈록소티닙-TKI, 및 포지오티닙으로의 약물 처리 후 HER2 돌연변이를 발현하는 모든 Ba/F3 세포주 (**b**), HER2 엑손 19 돌연변이체 세포주 (**c**), HER2 엑손 20 돌연변이체 세포주 (**d**), 또는 HER2 엑손 21 돌연변이체 세포주 (**e**)에 대한 평균 IC_{50} 값. 막대는 평균 ± SEM을 나타낸다 (N≥3). (**c-e**) 던즈 다중 비교(Dunn's multiple comparison) 검정과 함께 일원 ANOVA를 이용하여 군들 간의 통계학적 유의도를 결정하였다. (**f**) 명시

된 억제제를 이용한 L755S 또는 L755P를 발현하는 Ba/F3 세포의 평균 IC_{50} 값. 도트는 평균 ± SEM을 나타낸다 (N≥3). 통계학적 유의도는 쌍별 t-검정으로 결정되었다.

도 5a-5d: HER2 돌연변이체의 분자 동역학적 모의실험으로 Y772dupYVMA 및 L755P 돌연변이에 대한 약물 감수성 감소에 관하여 가능한 기전을 밝힌다. (**a**) 150 ns 가속 분자 동역학적 모의실험 동안 HER2 V777L 및 Y772dupYVMA 엑손 20 돌연변이체에 대한 α-C-헬릭스 위치. (**b**) α-C-헬릭스 "인(in)" 대 "아웃(out)" 입체형태의 HER2 엑손 20 돌연변이에 대한 분자 동역학적 스냅샷의 분율 집단. (**c**) V777L (흰색 백본, 연한 녹색 P-루프) 및 Y772dupYVMA (회색 백본, 진한 녹색 P-루프) 돌연변이체의 분자 동역학적 스냅샷. P-루프 및 키나제 힌지 입체형태의 차이는 작지만, α-C-헬릭스 위치 이동은 유의적으로 크다 (V777L에 대한 "아웃" 위치는 청색 표시, Y772dupYVMA에 대한 "인" 위치는 보라색 표시). (**d**) L755P (흰색 백본, 연한 녹색 P-루프, 황색 힌지, 청색 α-C-헬릭스) 및 L755S (회색 백본, 진한 녹색 P-루프, 오렌지색 힌지, 보라색 α-C-헬릭스) HER2 돌연변이체의 분자 동역학적 스냅샷. L755P 돌연변이체에는 V790과의 백본 수소 결합이 결핍되어 있고, 이로써, 키나제 힌지는 불안정화되고, 결합 부위 방향으로 P-루프의 축소가 일어난다.

도 6a-6f: HER2 돌연변이를 발현하는 인간 세포주 또한 포지오티닙에 대해 가장 큰 감수성을 나타낸다. 72시간 동안 명시된 억제제로 처리된, 엑손 20 삽입 돌연변이, HER2 G776delinsVC (**a**), HER2 Y772dupYVMA (**b**), HER2 G778dupGSP (**c**)를 발현하는 MCF10A 세포의 용량 반응 곡선. (**d**) MCF10A HER2 선택 지수의 막대 그래프. 명시된 각 약물에 대해 돌연변이체 세포주의 IC_{50} 값을 HER2 WT 발현 세포주의 평균 IC_{50} 값으로 나누었다. 도트는 각 세포주에 대한 평균 ± SEM을 나타내고, 막대는 세포주 3개 모두의 평균 ± 최소/최대를 나타낸다 (각 세포주에 대해 N≥3). (**e**) 72시간 동안 명시된 억제제로 처리된, HER2 엑손 19 돌연변이 L755S를 보유하는 CW-2 대장 세포의 용량 반응 곡선. (**a-c**, **e**) 곡선은 평균 ±SEM를 나타낸다 (N=3). (**f**) 21일째 CW-2 종양 부피의 막대 그래프. 마우스를 5일/주로 비히클 대조군 (N=5), 30 mg/kg 네라티닙 (N=5), 20 mg/kg 아파티닙 (N=5), 또는 5 mg/kg 포지오티닙 (N=5)으로 처리하고, 점선으로 표시된 350 ㎣에서 종양을 무작위화하였다. 도트는 개별 종양을 나타내고, 막대는 평균 ± SEM를 나타낸다. 통계학적 유의도는 일원 ANOVA에 의해 결정되었다.

도 7a-7d: HER2 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자는 포지오티닙에 대해 42%의 확인 반응률을 보인다. (**a**) 임상 시험 NCT03066206에서 처음 12명의 HER2 엑손 20 환자의 워터폴(Waterfall) 플롯. 객관적 부분 반응은 환자 7, 8, 10, 11, 및 12 (5)에서 나타나고, 미확인 반응은 환자 9 (1)에서 나타나고, 안정 병변은 환자 3-6 (5)에서 나타나고, 진행성 질환은 환자 1 (1)에서 나타난다. (**b**) 처음 12명의 HER2 엑손 20 환자의 무진행 생존의 카플란-마이어(Kaplan-meier) 플롯은 mPFS가 2018년 11월 현재 5.6개월이었다는 것을 보여준다. (**c**) 포지오티닙 처리 1일 전 및 요법 후 8주째 HER2 Y772dupYVMA 돌연변이를 갖는 환자의 CT 스캔. (**d**) 포지오티닙 처리 1일 전 및 상기 처리 후 4주째 HER2 L755P 돌연변이체 NSCLC 환자의 PET 스캔. 환자를 사전에 처리하고, 트라스투주맙, 니볼루맙, 및 항TDM1과 함께 조합하여 백금 기반 화학요법을 계속 진행하였지만, 포지오티닙 처리시 표적 병변은 -12% 감소를 보였다. 환자는 >7개월 동안 그대로 안정 병변을 유지하였다.

도 8a-8g: 포지오티닙 처리가 세포 표면 상에 HER2의 축적을 유도하고, 포지오티닙 및 T-DM1의 조합 처리가 항-종양 활성을 강화시킨다. (**a**) 24시간의 10 nM 포지오티닙 처리 후 HER2 Y772dupYVMA, HER2 G778dupGSP, 및 HER2 G776delinsVC를 발현하는 MC10A 세포주 상의 HER2 수용체 발현에 관한 FACS 분석. 막대는 평균 ± SEM을 나타내고, 유의적인 차이는 DMSO 및 포지오티닙 처리군 사이의 스튜던츠 t 검정에 의해 결정되었다. (**b**) 포지오티닙, T-DM1 또는 포지오티닙 및 명시된 용량의 T-DM1로 처리된, HER2 Y772dupYVMA, HER2 G778dupGSP, 및 HER2 G776delinsVC를 발현하는 MCF10A 세포주의 IC_{50} 값의 막대 그래프. 막대는 평균 ± SEM을 나타내고 (n=3 독립 실험), 유의적인 차이는 일원 ANOVA 및 던즈 사후 다중 비교에 의해 결정되었다. (**c**) 명시된 억제제로 처리된 HER2 Y772dupYVMA NSCLC PDX의 종양 성장 곡선. 포지오티닙 처리는 주 5일 투여하였고, T-DM1은 처리 시작에 1번 투여하였다. (**d**) 무진행 생존 (PFS)의 카플란-마이어 곡선, 여기서, PFS는 최적 반응으로부터의 종양 배가로서 정의된다. 만텔-콕스 로그 순위 검정을 사용하여 군들 간의 유의적인 차이를 결정하였다. 안락사 시점에 마우스를 검열하였다. (**e**) 14일째의, 명시된 억제제로 처리된 마우스의 종양 부피 변화율(%)의 도트 플롯. (**f**) 14일째 및 30일째의, 각 군에서 종양을 보유하는 마우스 마리수에 대한 차트. (**g**) 명시된 억제제로 처리된 HER2 Y772dupYVMA 마우스의 종양 부피의 스파이더 플롯.

도 9: 엑손 20 삽입 돌연변이 다양성은 암 유형별로 상이하다. 모든 암 (**a**), 폐암 (**b**), 유방암 (**c**), 및 기타 암 (**d**)에서의 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이 빈도에 관한 파이 차트.

도 10a-10b: 공통 HER2 돌연변이는 구성적으로 인산화되고, p-HER2 발현은 약물 감수성과 상관관계가 없다.

(a) ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 전체 HER2 대비 p-HER2의 비를 구하여 상대적인 p-HER2 발현을 측정하였다. 막대는 평균 ± SEM을 나타내고, n=3이다. ND = 검출 한계 미만. (b) 상대적인 HER2의 상관관계를 Ba/F3 HER2 돌연변이체 세포주에 대한 포지오티닙 IC50 값에 대해 플롯팅하였다. 피어슨(Pearson) 상관관계 및 p-값은 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) (n=3)에 의해 결정되었다.

도 11a-11b: 분자 모델링은 HER2 돌연변이체는 결합 포켓 크기가 상이하다는 것을 보여준다. (a) HER2 키나제 도메인 엑손 19, 20 및 21 단백질 백본은 각각 청색, 분홍색, 및 오렌지색인 색상으로 표시되어 있다. 주형 X-선 구조 (PDB 3PP0)로부터의 리간드는 녹색 스틱으로 제시되어 있고, 돌연변이된 잔기/삽입 위치에 대한 표지가 제공되어 있다. (b) 가속 분자 동역학적 모의실험으로부터 얻은 HER2 돌연변이체로부터의 결합 포켓 부피 프로파일. HER2 V777L 및 HER2 L869R의 경우, 결합이 가장 높다.

도 12: 포지오티닙은 HER2 돌연변이체 세포주에서 p-HER2를 억제시킨다. 2시간 동안 명시된 약물 및 용량으로 처리한 후의, G776delinsVC를 발현하는 MCF10A 세포의 웨스턴 블롯.

도 13: 포지오티닙은 엑손 19 돌연변이체 결장직장암의 이종이식편에서 종양 성장을 억제시킨다. HER2 L755S 돌연변이를 보유하는 CW-2 세포를 6주령된 암컷 nu/nu 누드 마우스의 옆구리에 주사하였다. 종양이 350 ㎣에 도달하였을 때, 마우스를 4개 군: 20 mg/kg 아파티닙, 5 mg/kg 포지오티닙, 30 mg/kg 네라티닙, 또는 비히클 대조군으로 무작위화하였다. 주 3회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였고, 마우스는 월요일부터 금요일까지 (주 5일) 약물을 받았다. 기호는 각 시점에서의 평균 ± SEM을 나타낸다. 터키 다중 비교 검정(Tukey's multiple comparisons test)과 함께 이원 ANOVA를 이용하여 통계학적 유의도를 결정하였다. 별표는 비히클과 포지오티닙 (적색) 또는 네라티닙 (회색) 사이의 유의도를 나타낸다. 유의적인 차이가 맨 처음 검출된 시점인 10일째를 시작으로 각 비교에 대한 P-값이 아래에 열거되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] **예시적인 실시양태의 설명**

[0030] 본 연구에서, 악성 종양 사이의 HER2 돌연변이의 가장 흔한 게놈 변이체의 빈도를 측정하였다. 체계적으로, 16개의 가장 빈번한 HER2 돌연변이의 활성화 잠재능이 입증되었고, 그의 약물 감수성을 11개의 일반적으로 사용되는 EGFR 및 HER2 TKI 사이에서 평가하였다. 엑손 20 삽입 돌연변이 및 엑손 19에서 L755P (L755S 제외) 돌연변이가 시험된 다수의 TKI에 대해 불응성인 것으로 나타났다. 약물 내성 HER2 변이체, L755P 및 엑손 20 삽입의 분자 동역학적 모델링을 통해 상기 돌연변이가 약물 결합 포켓의 전체적인 크기를 축소시키면서, 수용체의 입체형태 상태에 영향을 주는 것으로 나타났다. 추가로, 포지오티닙이 평가된 모든 HER2 돌연변이의 가장 강력한 효능을 가진 억제제인 것으로 확인되었고; 포지오티닙은 내성이 가장 큰 HER2 변이체, 엑손 20 삽입 및 L755P를 보유하는 NSCLC 환자에서 임상 활성을 보였다. 마지막으로, 포지오티닙-매개 세포 표면 수용체 축적이 생체내에서 항-종양 활성을 증가시키는 데 사용될 수 있는 T-DM1 활성을 증강시킴으로써, 이는 HER2 돌연변이체 NSCLC의 PDX 모델에서 완전한 종양 퇴행으로 이어졌다.

[0031] 따라서, 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 암, 예컨대, NSCLC를 비롯한, HER2 돌연변이체 암 치료를 위한, TKI 및 HER2 항체 접합체, 예컨대, 포지오티닙 및 T-DM1을 포함하는 조합 요법을 제공한다.

[0032] **I. 정의**

[0033] 본 명세서에서 사용된 바, "하나"("a" 또는 "an")는 하나 이상을 의미할 수 있다. 본원의 청구항(들)에서 사용되는 바, 단어 "~를 포함하는"과 함께 사용되는 경우, "하나"("a" 또는 "an")라는 단어는 하나 또는 하나 초과를 의미할 수 있다.

[0034] 청구범위에서 용어 "또는"의 사용은 본 개시내용이 양자택일 및 "및/또는"만을 지칭하는 정의를 뒷받침하더라도, 양자택일만을 지칭하는 것으로 명시적으로 기술되어 있거나, 양자택일이 상호 배타적인 것이 아닌 한, "및/또는"을 의미하는 것으로 사용된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "또 다른"은 적어도 제2의 대상 이상을 의미할 수 있다.

[0035] 용어 "약"은 일반적으로 명시된 값의 플러스 또는 마이너스 5%를 의미한다.

[0036] "치료" 또는 "치료하는"은 (1) 질환의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자의 질환의 억제 (예컨대, 병리 및/또는 증상의 추가 진행의 저지), (2) 질환의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자의 질환의 완화 (예컨대, 병리 및/또는 증상의 역전), 및/또는 (3) 질환의 병리 또는 증상을 경험하거

나, 나타내는 대상체 또는 환자에서 질환의 측정 가능한 임의의 저하의 초래를 포함한다. 예를 들어, 치료에는 유효량의 포지오티닙 투여가 포함될 수 있다.

[0037] "예방적으로 치료하는"은 (1) 질환의 위험 및/또는 소인이 있을 수 있지만, 아직 질환의 병리 또는 증상의 일부 또는 전부를 경험하거나 나타내지 않는 대상체 또는 환자의 질환 발병의 위험을 감소 또는 경감시키고/거나, (2) 질환의 위험 및/또는 소인이 있을 수 있지만 아직 질환의 병리 또는 증상의 일부 또는 전부를 경험하거나 나타내지 않는 대상체 또는 환자에서 질환의 병리 또는 증상의 발병을 지연시키는 것을 포함한다.

[0038] 본원에서 사용되는 바, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 인간, 원숭이, 소, 양, 염소, 개, 고양이, 마우스, 래트트, 기니피그 또는 이들의 트랜스제닉 종과 같은 살아있는 포유동물 유기체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 환자 또는 대상체는 영장류이다. 인간 환자의 비 제한적인 예는 성인, 청소년, 유아 및 태아이다.

[0039] 본원 및/또는 청구범위에서 사용되는 바, 용어 "유효"는 예상되거나 의도된 적절한 결과를 달성하기에 적절한 것을 의미한다. 환자 또는 대상체를 화합물로 처리하는 상황에서 사용되는 경우, "유효량," "치료 유효량" 또는 "약학적 유효량"은 질환의 치료 또는 예방을 위해 대상체 또는 환자에 투여될 때, 질환의 치료 또는 예방을 야기하기에 충분한 양의 화합물의 양을 의미한다.

[0040] 본원에서 사용되는 바, 용어 "IC_{50}"은 획득된 최대 반응의 50%의 억제 투여량을 지칭한다. 이 정량적 측정은 특정 약물 또는 다른 물질 (억제제)이 주어진 생물학적, 생화학적 또는 화학적 프로세스 (또는 프로세스의 성분, 즉 효소, 세포, 세포 수용체 또는 미생물)을 절반으로 억제하는 데 필요한 양을 나타낸다.

[0041] "항암" 제제는 예를 들어, 암 세포의 사멸을 촉진하고, 암 세포에서 아폽토시스를 유도하거나, 암 세포의 성장률을 감소시키거나, 전이의 빈도 또는 횟수를 감소시키거나, 종양 크기를 감소시키거나, 종양 성장을 억제하거나, 종양 또는 암 세포에의 혈액 공급을 감소시키거나, 암 세포 또는 종양에 대한 면역반응을 촉진하거나, 암의 진행을 예방 또는 억제하거나, 암을 앓는 대상체의 수명을 증가시킴으로써, 대상체에서 암 세포/종양에 부정적인 영향을 미칠 수 있다.

[0042] 용어 "삽입(들)" 또는 "삽입 돌연변이 (들)"는 DNA 서열에의 하나 이상의 뉴클레티드 염기 쌍의 부가를 지칭한다. 한 예에서, HER2 엑손 20 삽입 돌연변이는 아미노산 770-785 사이에 3-18개의 뉴클레오티드의 하나 이상의 삽입을 포함한다.

[0043] 본원에서 일반적으로 사용되는 바와 같이, "약학적으로 허용되는"은 합리적인 의학적 판단의 범위 내에서 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 기타 문제 또는 합병증 없이, 인간 및 동물의 조직, 기관 및/또는 체액과 접촉하에 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0044] "약학적으로 허용되는 염"은 상기 규정된 바와 같이 약학적으로 허용 가능하고, 적절한 약리학적 활성을 갖는 본 발명의 화합물의 염을 의미한다. 이러한 염의 비 제한적인 예는 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산 및 인산과 같은 무기산; 또는 1,2-에탄디술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, 2-나프탈렌술폰산, 3-페닐프로피온산, 4,4'-메틸렌비스(3-히드록시-2-엔-1-카복실산), 4-메틸바이사이클로[2.2.2]옥트-2-엔-1-카복실산, 아세트산, 지방족 모노 및 디카복실산, 지방족 황산, 방향족 황산, 벤젠술폰산, 벤조산, 캄포술폰산, 탄산, 신남산, 시트르산, 사이클로펜탄프로피온산, 에탄술폰산, 푸마르산, 글루코헵톤산, 글루콘산, 글루탐산, 글리콜산, 헵탄산, 헥사노산, 히드록시나프토산, 락트산, 라우릴황산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메탄술폰산, 뮤콘산, *o*-(4-히드록시벤조일)벤조산, 옥살산, p-클로로벤젠술폰산, 페닐-치환 알칸산, 프로피온산, p-톨루엔술폰산, 피루브산, 살리실산, 스테아르산, 숙신산, 타르타르산, 3차부틸아세트산 및 트리메틸아세트산과 같은 유기산으로 형성된 산 부가 염을 포함한다. 약학적으로 허용되는 염은 또한 존재하는 산성 양성자가 무기 또는 유기 염기와 반응할 수 있을 때 형성될 수 있는 염기 부가 염을 포함한다. 허용되는 무기 염기는 수산화나트륨, 탄산나트륨, 수산화칼륨, 수산화알루미늄 및 수산화칼슘을 포함한다. 허용되는 유기 염기의 비 제한적인 예는 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민 및 *N*-메틸글루카민을 포함한다. 본 발명의 임의의 염의 일부를 형성하는 특정 음이온 또는 양이온은 염 전체가 약리학적으로 허용되는 한 중요하지 않다는 것이 이해되어야 한다. 약학적으로 허용되는 염의 추가 예 및 그의 제조 및 사용 방법은 문헌 [*Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use* (P. H. Stahl & C. G. Wermuth eds., Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002)]에 제공되어 있다.

[0045] **II. HER2 돌연변이**

[0046] 본 개시내용의 특정 실시양태는 대상체가 하나 이상의 HER2 돌연변이, 예컨대, HER2 엑손 19, 엑손 20, 또는 엑손 21 돌연변이, 예컨대, 삽입, 결실, 또는 점 돌연변이를 갖는지 여부를 결정하는 것에 관한 것이다. 대상체는 2, 3, 4개 이상의 HER2 돌연변이를 가질 수 있다. 돌연변이 검출 방법은 PCR 분석 및 핵산 서열분석 뿐만 아니라, FISH 및 CGH를 비롯하여, 당업계에 공지되어 있다. 특정 측면에서, HER2 돌연변이는 DNA 서열분석에 의해 예컨대, 종양으로부터 또는 혈장으로부터의 순환 유리 DNA로부터 검출된다.

[0047] 예시적인 HER2 엑손 19 돌연변이는 L755 또는 D769의 돌연변이, 예컨대, L755P를 포함한다. 예시적인 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842 또는 L869의 돌연변이, 예컨대, V842I 또는 L869R을 포함한다.

[0048] HER2 엑손 20 돌연변이는 아미노산 770-786 사이의 1-18, 예컨대, 3-18개의 뉴클레오티드에 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입, 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 하나 이상의 HER2 엑손 20 돌연변이는 잔기 Y772, V773, A775, G776, V777, G778, S779, 및/또는 P780에 존재할 수 있다. 하나 이상의 HER2 엑손 20 돌연변이는 A775insV G776C, A775insYVMA, G776V, G776C V777insV, G776C V777insC, G776del insVV, G776del insVC, P780insGSP, V777L, G778insLPS, 및/또는 V773M일 수 있다. 특히, HER 엑손 20 삽입 돌연변이는 Y772dupYVMA, G778dupGSP, 및/또는 G776delinsVC일 수 있다.

[0049] 환자 샘플은 대상체에서 폐암으로부터의 핵산을 포함하는 임의의 신체 조직 또는 체액일 수 있다. 특정 실시양태에서, 샘플은 순환 종양 세포 또는 세포 유리 DNA를 포함하는 혈액 샘플일 것이다. 다른 실시양태에서, 샘플은 예컨대, 폐 조직과 같은 조직일 수 있다. 폐 조직은 종양 조직으로부터 유래할 수 있으며, 신선 동결되거나, 포르말린 고정된 파라핀-포매 (FFPE)될 수 있다. 특정 실시양태에서, 폐 종양 FFPE 샘플이 획득된다.

[0050] 본원에 기술된 방법에 사용하기에 적합한 샘플은 유전 물질, 예컨대, 게놈 DNA (gDNA)를 포함한다. 게놈 DNA는 일반적으로 혈액 또는 구강 내막의 점막을 긁어낸 것과 같은 생물학적 샘플로부터 추출되지만, 소변, 종양 또는 가래를 포함한 다른 생물학적 샘플로부터 추출될 수 있다. 샘플 자체에는 전형적으로 정상 또는 종양 조직을 포함하여 대상체로부터 제거된 유핵 세포 (예컨대, 혈액 또는 구강 세포) 또는 조직이 포함된다. 샘플을 획득, 처리 및 분석하기 위한 방법 및 시약은 당 업계에 공지되어 있다. 일부 실시양태에서, 샘플은 예를 들어 혈액 채혈을 위해 의료인의 지원 하에 획득된다. 일부 실시양태에서, 예를 들어, 구강 면봉 또는 브러시를 사용하여 획득한 구강 세포 또는 구강 세척 샘플을 포함하는 샘플과 같이 샘플이 비침습적으로 획득되는 경우, 샘플은 의료인의 지원없이 획득된다.

[0051] 일부 경우에서, 생물학적 샘플은 DNA 단리를 위해 프로세싱될 수 있다. 예를 들어, 세포 또는 조직 샘플의 DNA는 샘플의 다른 성분으로부터 분리될 수 있다. 당업계에 공지된 표준 기술을 사용하여 생물학적 샘플로부터 세포를 수거할 수 있다. 예를 들어, 세포 샘플을 원심분리하고 펠릿화된 세포를 재현탁하여 세포를 수거할 수 있다. 세포는 포스페이트 완충처리된 염수 (PBS)와 같은 완충처리된 용액에 재현탁될 수 있다. 세포 현탁액을 원심분리하여 세포 펠릿을 획득한 후, 세포를 용해하여 DNA, 예를 들어, gDNA를 추출할 수 있다. 예컨대, 문헌 [Ausubel *et al.* (2003)]을 참조한다. 샘플을 농축 및/또는 정제하여 DNA를 단리시킬 수 있다. 임의의 종류의 추가 프로세싱에 적용된 샘플을 포함하여 대상체로부터 획득된 모든 샘플은 대상체로부터 획득된 것으로 간주된다. 예를 들어, 페놀 추출을 포함하여 생물학적 샘플로부터 게놈 DNA를 추출하기 위해 통상적인 방법을 사용할 수 있다. 또는 QIAamp® 티슈 키트(QIAamp® Tissue Kit) (퀴아젠(Qiagen: 미국 캘리포니아주 채츠워스)) 및 위자드® 게노믹(Wizard® Genomic) DNA 정제 키트 (프로메가(Promega))와 같은 키트를 사용하여 게놈 DNA를 추출할 수 있다. 샘플 공급원의 비제한적인 예로는 소변, 혈액 및 조직이 포함된다.

[0052] 본원에 기술된 바와 같은 HER2 돌연변이의 존재 또는 부재는 당업계에 공지된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 겔 전기영동, 모세관 전기영동, 크기 배제 크로마토그래피, 서열분석 및/또는 어레이를 사용하여 돌연변이의 존재 또는 부재를 검출할 수 있다. 바람직한 경우, 핵산 증폭은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, PCR을 사용하여 수행할 수 있다. 한 예에서 샘플 (예컨대, 게놈 DNA를 포함하는 샘플)은 대상체로부터 획득된다. 이어서, 샘플의 DNA를 검사하여 본원에 기술된 삽입 돌연변이의 동일성을 결정한다. 삽입 돌연변이는 본원에 기술된 임의의 방법, 예컨대, 게놈 DNA, RNA 또는 cDNA의 유전자를 핵산 프로브, 예를 들어, DNA 프로브 (cDNA 및 올리고뉴클레오티드 프로브 포함) 또는 RNA 프로브에 하이브리드화 또는 서열분석함으로써 검출될 수 있다. 핵산 프로브는 특정 변이체와 특이적으로 또는 우선적으로 하이브리드화하도록 디자인될 수 있다.

[0053] 프로브 세트는 전형적으로 본 개시내용의 실행 가능한 처리 권장 사항에 사용되는 표적 유전자 변이 (예컨대, HER2 돌연변이)를 검출하는 데 사용되는 프라이머 세트, 일반적으로, 프라이머 쌍, 및/또는 검출가능하게 표지된 프로브를 지칭한다. 프라이머 쌍은 증폭 반응에서 상기 언급한 각 유전자에 대한 표적 유전자 변이의 영역

범위의 앰플리콘을 정의하기 위해 사용된다. 앰플리콘 세트는 매칭되는 프로브 세트에 의해 검출된다. 예시적 실시양태에서, 본 방법은 예컨대, HER2 돌연변이와 같은 표적 유전자 변이 세트를 검출하는 데 사용되는 택맨(TaqMan)™ (로슈 몰레큘러 시스템즈(Roche Molecular Systems: 미국 캘리포니아주 플레전턴)) 검정법을 사용할 수 있다. 한 실시양태에서, 프로브 세트는 차세대 서열분석 반응과 같은 핵산 서열분석 반응에 의해 검출되는 앰플리콘을 생성하는 데 사용되는 프라이머 세트이다. 이러한 실시양태에서, 예를 들어, AmpliSEQ™ (라이프 테크놀러지즈/이온 토렌트(Life Technologies/Ion Torrent: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)) 또는 TruSEQ™ (일루미나(Illumina: 미국 캘리포니아주 샌디에고)) 기술이 사용될 수 있다.

[0054] 핵산 마커의 분석은 제한 없이, 서열 분석 및 전기영동 분석을 포함하여, 당 업계에 공지된 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 서열 분석의 비제한적인 예에는 맥삼-길버트(Maxam-Gilbert) 서열분석, 생어(Sanger) 서열분석, 모세관 어레이 DNA 시퀀싱, 써어 사이클 서열분석 (문헌 [Sears *et al.*, 1992]), 고체상 서열분석 (문헌 [Zimmerman *et al.*, 1992]), 질량 분광분석에 의한 서열분석, 예컨대, 매트릭스 지원 레이저 탈착/이온화 비행시간 질량 분광분석법(MALDI-TOF/MS; 문헌 [Fu *et al.*, 1998]) 및 하이브리드화에 의한 서열분석 (문헌 [Chee *et al.*, 1996]; [Drmanac *et al.*, 1993]; [Drmanac *et al.*, 1998])을 포함한다. 전기영동 분석의 비제한적인 예로는 평판 겔 전기영동, 예컨대, 아가로스 또는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동, 모세관 전기영동 및 변성 구배 겔 전기영동을 포함한다. 또한, 예컨대, 라이프 테크놀러지즈/이온 토렌트 PGM 또는 프로톤(Proton)과 같은 회사로부터의 상업적으로 이용가능한 키트 및 기기, 일루미나(Illumina) HiSEQ 또는 MiSEQ 및 로슈/454 차세대 서열분석 시스템을 사용하여 차세대 서열분석 방법을 수행할 수 있다.

[0055] 핵산 분석의 다른 방법은 직접 수동 서열분석 (문헌 [Church and Gilbert, 1988]; [Sanger *et al.*, 1977]; 미국 특허 번호 5,288,644); 자동 형광 서열분석; 단일 가닥 입체형태 다형성 분석 (SSCP) (문헌 [Schafer *et al.*, 1995]); 클램핑된 변성 겔 전기영동 (CDGE); 2차원 겔 전기영동 (2DGE 또는 TDGE); 입체형태 감수성 겔 전기영동 (CSGE); 변성 구배 겔 전기영동 (DGGE) (문헌 [Sheffield *et al.*, 1989]); 변성 고성능 액체 크로마토그래피 (DHPLC, 문헌 [Underhill *et al.*, 1997]); 적외선 매트릭스 지원 레이저 탈착/이온화 (IR-MALDI) 질량 분광분석법 (WO 99/57318); 이동성 변화 분석 (문헌 [Orita *et al.*, 1989]); 제한 효소 분석 (문헌 [Flavell *et al.*, 1978]; [Geever *et al.*, 1981]); 정량적 실시간 PCR (문헌 [Raca *et al.*, 2004]); 이종이중체 분석; 화학적 미스매칭 절단 (CMC) (문헌 [Cotton *et al.*, 1985]); RNase 보호 검정법 (문헌 [Myers *et al.*, 1985]); 뉴클레티드 미스매칭을 인식하는 폴리펩티드, 예를 들어, E. 콜라이(*E. coli*) mutS 단백질의 사용; 대립 유전자 특이적 PCR, 및 이러한 방법의 조합을 포함할 수 있다. 예컨대, 미국 특허 공개 번호 2004/0014095 (상기 특허는 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다)를 포함한다.

[0056] 한 예에서, 샘플에서 HER2 돌연변이를 확인하는 방법은 상기 샘플로부터의 핵산을 돌연변이된 HER2 단백질을 코딩하는 핵산 또는 돌연변이를 포함하는 그의 단편에 특이적으로 하이브리드화할 수 있는 핵산 프로브와 접촉시키고, 상기 하이브리드화를 검출하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 프로브는 예컨대, 방사성 동위원소 (^{3}H, ^{32}P, 또는 ^{33}P), 형광제 (로다민 또는 플루오레세인) 또는 발색제와 같이 검출 가능하게 표지된다. 특정 실시양태에서, 프로브는 안티센스 올리고머, 예를 들어, PNA, 모르폴리노-포스포라미데이트, LNA 또는 2'-알콕시알콕시이다. 프로브는 약 8개의 뉴클레오티드 내지 약 100개의 뉴클레오티드, 또는 약 10 내지 약 75, 또는 약 15 내지 약 50, 또는 약 20 내지 약 30개일 수 있다. 또 다른 측면에서, 본 개시내용의 상기 프로브는 샘플에서 HER2 돌연변이를 확인하기 위한 키트 내에 제공되며, 상기 키트는 HER2 유전자의 돌연변이 부위 또는 그 인접 부위에 특이적으로 하이브리드화하는 올리고뉴클레티드를 포함한다. 키트는 키트를 사용한 하이브리드화 시험의 결과를 기반으로 하여 포지오티닙으로 HER2 삽입 돌연변이를 포함하는 종양을 앓는 환자를 치료하기 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다.

[0057] 또 다른 측면에서, 샘플 중 엑손 20 돌연변이를 검출하는 방법은 상기 상기 HER 유전자의 엑손 20에 상응하는 상기 샘플 핵산, 또는 돌연변이를 포함할 것으로 의심되는 그의 단편으로부터 증폭시키는 단계, 및 증폭된 핵산의 전기영동 이동성과 상응하는 야생형 HER2 유전자 또는 그의 단편의 전기영동 이동성을 비교하는 단계를 포함한다. 이동성의 차이는 증폭된 핵산 서열에 돌연변이가 존재함을 나타낸다. 전기영동 이동성은 폴리아크릴아미드 겔에서 측정될 수 있다.

[0058] 대안적으로, 핵산은 효소 돌연변이 검출 (EMD)을 사용하여 돌연변이 검출을 위해 분석될 수 있다 (문헌 [Del Tito *et al.*, 1998]). EMD는 박테리오파지 레졸바제 T_4 엔도뉴클레아제 VII를 사용하며, 이는 점 돌연변이, 삽입 및 결실로 인한 염기쌍 미스매칭으로 유발되는 구조적 변형을 검출 및 절단할 때까지 이중 가닥 DNA를 따라 스캔한다. 예를 들어, 겔 전기영동에 의한 레졸바제 절단에 의해 형성된 2개의 짧은 단편의 검출은 돌연변이의

존재를 나타낸다. EMD 방법의 이점은 PCR 반응으로부터 직접 검정된 점 돌연변이, 삭제 및 삽입을 확인하는 단일 프로토콜로서, 이는 샘플 정제의 필요성을 제거하고, 하이브리드화 시간을 단축하고, 신호 대 잡음비를 증가시킨다. 최대 20배 초과의 정상 DNA와 최대 4kb 크기의 단편을 포함하는 혼합 샘플을 분석할 수 있다. 그러나, EMD 스캐닝은 돌연변이 양성 샘플에서 발생하는 특정 염기 변이를 확인하지 못하며, 이는 필요한 경우, 돌연변이의 확인을 위해 추가 서열분석 방법을 필요로 한다. CEL I 효소는 미국 특허 번호 5,869,245에서 입증된 바와 같이 레졸바제 T_4 엔도뉴클레아제 VII과 유사하게 사용될 수 있다.

[0059] **III. 치료 방법**

[0060] 본원에서 암, 예컨대, HER2 돌연변이체 암을 앓는 대상체에게 유효량의 포지오티닙, 또는 구조적으로 유사한 억제제, 및 T-DM1을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료 또는 암의 진행을 지연시키는 방법을 추가로 제공한다. 대상체는 HER2 돌연변이, 예컨대, 엑손 19, 20, 또는 21 돌연변이, 예컨대, 엑손 20 삽입, 또는 L755P 돌연변이를 갖는 것으로 결정될 수 있다. 대상체는 1 초과의 HER 돌연변이를 가질 수 있다.

[0061] 치료를 위해 고려되는 암의 예로는 폐암, 두부경부암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 골암, 고환암, 자궁경부암, 위장관암, 림프종, 폐의 전-신생물 병변, 결장암, 흑색종 및 방광암을 포함한다. 특정 측면에서, 암은 비소세포 폐암이다.

[0062] 일부 실시양태에서, 대상체는 포유동물, 예컨대, 영장류, 바람직하게, 고등 영장류, 예컨대, 인간 (예컨대, 본원에 기술된 장애를 앓거나, 앓을 위험이 있는 환자)이다. 한 실시양태에서, 대상체는 면역 반응을 증강시킬 필요가 있는 대상체이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 면역 손상되거나, 그 위험이 있는 대상체이다. 예를 들어, 대상체는 화학요법 치료 및/또는 방사선 요법을 받고 있거나, 받은 적이 있는 대상체이다. 대안적으로, 또는 조합하여, 대상체는 감염의 결과로 면역 손상되거나, 그 위험이 있는 대상체이다.

[0063] 특정 실시양태는 포지오티닙 (HM781-36B, HM781-36, 및 1-[4-[4-(3,4-디클로로-2-플루오로아닐리노)-7-메톡시퀴나졸린-6-일]옥시피페리딘-1-일]프로프-2-엔-1-온으로도 또한 공지)의 투여에 관한 것이다. 포지오티닙은 HER1, HER2 및 HER4를 포함한 HER 패밀리의 티로신-키나제 수용체를 통한 신호전달을 비가역적으로 차단하는 퀴나졸린-기반 범-HER 억제제이다. 포지오티닙 또는 구조적으로 유사한 화합물 (예컨대, 미국 특허 번호 8,188,102 및 미국 특허 공개 번호 20130071452; 이는 본원에서 참조로 포함된다)이 본 방법에서 사용될 수 있다.

[0064] 포지오티닙, 예컨대, 포지오티닙 히드로클로라이드 염은 예컨대, 정제로 경구적으로 투여될 수 있다. 포지오티닙은 4-25 mg의 용량으로, 예컨대, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 또는 24 mg의 용량으로 투여될 수 있다. 투약은 매일, 격일로, 매 3일마다, 또는 매주 이루어질 수 있다. 투약은 연속 스케줄로, 예컨대, 28일 사이클로 진행될 수 있다.

[0065] 아도-트라스투주맙 엠탄신으로도 공지되고, 상표명 카드실라(Kadcyla)로 판매되는 트라스투주맙 엠탄신은 세포독성제인 엠탄신 (DM1)에 공유적으로 연결된 인간화 모노클로날 항체 트라스투주맙 (허셉틴(Herceptin))으로 구성된 항체-약물 접합체이다. 트라스투주맙 단독인 것은 HER2 수용체에의 결합에 의해 암 세포의 성장을 정지시키는 반면, 트라스투주맙 엠탄신은 수용체 매개로 세포 내로 내재화되고, 리소좀에서 이화작용으로 분해되고, 여기서, DM1-함유 이화대사 생성물이 방출되고, 이어서, 튜뷸린에 결합하여 유사분열 및 세포 사멸을 유발한다. HER2에의 트라스투주맙 결합은 수용체의 동종이량체화 또는 이종이량체화 (HER2/HER3)를 막고, 최종적으로는 MAPK 활성화 및 PI3K/AKT 세포 신호전달 경로를 억제시킨다. 모노클로날 항체는 HER2를 표적화하기 때문에, 및 HER2가 유일하게 암 세포에서 과다발현되기 때문에, 접합체는 특이적으로 종양 세포에 세포독성제 DM1을 전달한다. 접합체는 T-DM1로 약칭된다. T-DM1은 2-3 mg/kg, 예컨대, 3.6 mg/kg의 용량으로 투여된다. T-DM1은 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다.

[0066] **A. 약학 조성물**

[0067] 본원에서는 또한 예컨대, HER2 엑손 20 돌연변이, 예컨대, 엑손 20 삽입을 갖는 것으로 결정된 대상체를 위한 포지오티닙 및 T-DM1 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학 조성물 및 제제를 제공한다.

[0068] 본원에 기술된 바와 같은 약학 조성물 및 제제는 바람직한 순도를 갖는 활성 성분 (예컨대, 항체 또는 폴리펩티드)을 하나 이상의 임의적 약학적으로 허용되는 담체 (문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 22nd edition, 2012])와 혼합하여, 동결건조된 제제 또는 수용액의 형태로 제조할 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체는 일반적으로 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에 비독성이며, 예컨대, 포스페이트, 시트레이트 및 다른

유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 보존제 (예컨대, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저 분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린과 같은 단백질; 예컨대, 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체; 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 덱스트린을 포함한 단당류, 이당류 및 다른 탄수화물; 예컨대, EDTA와 같은 킬레이트제; 예컨대, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당; 예컨대, 나트륨과 같은 염 형성 반대 이온; 금속 복합체 (예컨대, Zn- 단백질 복합체); 및/또는 예컨대, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 본원에서 예시적인 약학적으로 허용되는 담체는 삽입 약물 분산제, 예컨대, 가용성 중성-활성 히알루로니다제 당단백질 (sHASEGP), 예를 들어, 인간 가용성 PH-20 히알루로니다제 당단백질, 예컨대, rHuPH20 (HYLENEX®, 박스터 인터내셔널, 인크.(Baxter International, Inc))을 추가로 포함한다. rHuPH20을 포함한 특정 예시적인 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 공개 2005/0260186 및 2006/0104968에 기술되어 있다. 한 측면에서, sHASEGP는 콘드로이티나제와 같은 하나 이상의 추가 글리코사미노글리카나제와 조합된다.

[0069] **B. 조합 요법**

[0070] 특정 실시양태에서, 특정 실시양태에서, 본 실시양태의 조성물 및 방법은 적어도 하나의 추가 요법과 조합된 포지오티닙 및 T-DM1을 포함한다. 추가 요법은 방사선 요법, 수술 (예컨대, 유방 종괴절제술 및 유방 절제술), 화학요법, 유전자 요법, DNA 요법, 바이러스 요법, RNA 요법, 면역요법, 골수 이식, 나노요법, 모노클로날 항체 요법 또는 그의 조합일 수 있다. 추가 요법은 보조 또는 신보조 요법의 형태일 수 있다.

[0071] 일부 실시양태에서, 추가 요법은 소분자 효소 억제제 또는 항전이제의 투여이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 부작용 제한제 (예컨대, 치료 부작용의 발생율 및/또는 중증도를 감소시키기 위한 작용제, 예컨대, 항오심제등)의 투여이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 방사선 요법이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 수술이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 방사선 요법 및 수술의 조합이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 감마선 조사이다. 일부 실시양태에서, 추가 요법은 PBK/AKT/mTOR 경로를 표적화하는 요법, HSP90 억제제, 튜불린 억제제, 아폽토시스 억제제 및/또는 화학예방제이다. 추가 요법은 당업계에 공지된 하나 이상의 화학요법제일 수 있다.

[0072] 포지오티닙 및 T-DM1은 면역 체크포인트 요법과 같은 추가 암 요법과 관련하여 그 전, 도중, 그 후에 또는 다양한 조합으로 투여될 수 있다. 투여는 동시 내지 수분 내지 수일 내지 수주의 범위의 간격으로 이루어질 수 있다. 포지오티닙 및 T-DM1이 추가 치료제와 별도로 환자에 제공되는 실시양태에서, 일반적으로 각 전달시간 사이에 상당한 기간이 경과하지 않아, 두 화합물이 환자에 여전히 유리하게 조합된 효과를 가할 수 있음을 확인할 것이다. 이러한 경우, 환자에 항체 요법 및 항암 요법을 서로 약 12 내지 24 또는 72 h 내에, 및 더욱 특히, 서로 약 6-12 h 내에 제공할 수 있는 것으로 고려된다. 일부 상황에서는 각 투여 사이에 수일 (2, 3, 4, 5, 6 또는 7) 내지 수주 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8)이 경과하도록 치료 기간을 유의하게 연장하는 것이 바람직할 수 있다.

[0073] 다양한 조합이 사용될 수 있다. 하기의 예에서 포지오티닙 및 T-DM1은 "A"이고, 항암 요법은 "B"이다:

[0074]
A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B
B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A
B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

[0075] 환자에 본 실시양태의 임의의 화합물 또는 요법의 투여는 작용제의, 존재하는 경우, 임의의 독성을 고려하여 이러한 화합물의 투여를 위한 일반적인 프로토콜을 따를 것이다. 따라서, 일부 실시양태에서 조합 요법에 기인하는 독성을 모니터링하는 단계가 존재한다.

[0076] **1. 화학요법**

[0077] 본 실시양태에 따라 매우 다양한 화학요법제가 사용될 수 있다. 용어 "화학요법"은 암을 치료하기 위한 약물의 사용을 지칭한다. "화학요법제"는 암 치료에 투여되는 화합물 또는 조성물을 의미하는 것으로 사용된다. 이러한 작용제 또는 약물은 세포내 활성 모드, 예를 들어, 세포 주기에 영향을 미치는지의 여부 및 세포 주기에 영향을 미치는 단계에 의해 분류된다. 대안적으로, 작용제는 DNA를 직접 교차 연결하거나, DNA에 삽입하거

나, 핵산 합성에 영향을 줌으로써 염색체 및 유사 분열 이상을 유도하는 능력을 기반으로 특징화될 수 있다.

[0078] 화학요법제의 예로는 예컨대, 티오테파 및 사이클로스포스파미드와 같은 알킬화제; 예컨대, 부술판, 임프로술판 및 피포술판과 같은 알킬 술포네이트; 예컨대, 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파 및 우레도파와 같은 아지리딘; 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에티일렌티오포스포라미드 및 트리메틸올로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸라멜라민; 아세토게닌 (특히, 불라타신 및 불라타시논); 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토피신 (특히, 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스펀지스타틴; 예컨대, 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드 및 우라실 머스타드와 같은 질소 머스타드; 예컨대, 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라님누스틴과 같은 니트로수레아; 예컨대, 에네디인 항생제 (예컨대, 칼리케아미신, 특히, 칼리케아미신 감마 II 및 칼리케아미신 오메가 II)와 같은 항생제; 다이네미신 A를 포함한 다이네미신; 예컨대, 클로드로네이트와 같은 비스포스포네이트; 에스페라미신; 뿐만 아니라, 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 발색단백질 에네디인 항생제 발색단, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라니신, 아자세린, 블레오마이신, 칵티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노류신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대, 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라르니신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 푸로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴 및 조루비신; 예컨대, 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU)과 같은 항대사산물; 예컨대, 데노프테린, 프테로프테린 및 트리메트렉세이트와 같은 엽산 유사체; 예컨대, 플루다라빈, 6-메르캅토퓨린, 티아미프린 및 티오구아닌과 같은 퓨린 유사체; 예컨대, 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈 및 플록수리딘과 같은 피리미딘 유사체; 예컨대, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄 및 테스토락톤과 같은 안드로겐; 예컨대, 미토탄 및 트리로스테인과 같은 항부신제; 예컨대, 프로린산과 같은 엽산 보충제; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코사이드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토그루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 예컨대, 마이탄신 및 안사미토신과 같은 마이탄시노이드; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단몰; 니트에린; 펜토스타틴; 페나멧; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK 다당류 복합체; 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로저마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히, T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 마노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노사이드 ("Ara-C"); 사이클로포스파미드; 탁소이드, 예컨대, 파클리탁셀 및 도세탁셀 젬시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토퓨린; 예컨대, 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 배위체; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포사이드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; 이리노테칸 (예컨대, CPT-11); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸로니틴 (DMFO); 예컨대, 레티노산과 같은 레티노이드; 카페시타빈; 카보플라틴, 프로카바진, 플리코마이신, 젬시타비엔, 나벨빈, 파르네실-단백질 탄스페라제 억제제, 트랜스백금, 및 상기 중 임의의 것의 약학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체가 포함된다.

[0079] **2. 방사선요법**

[0080] DNA 손상을 유발하고, 광범위하게 사용되는 다른 인자로는 일반적으로 γ-선, X-선 및/또는 종양 세포로의 방사성 동위원소의 직접 전달로 공지된 것을 포함한다. 예컨대, 마이크로파, 양성자 빔 조사 (미국 특허 5,760,395 및 4,870,287) 및 UV 조사와 같은 다른 형태의 DNA 손상 인자가 또한 고려된다. 이러한 모든 인자는 DNA, DNA의 전구체, DNA의 복제 및 수복, 염색체의 어셈블리 및 유지의 광범위한 손상에 영향을 미칠 가능성이 높다. X-선의 선량 범위는 장기간 (3 내지 4wk) 동안 50 내지 200 뢴트겐의 1일 선량 내지 2000 내지 6000 뢴트겐의 단일 선량 범위이다. 방사성 동위원소의 투여 범위는 매우 다양하며, 동위원소의 반감기, 방출되는 방사선의 강도 및 유형, 신생물 세포의 흡수에 따라 다르다.

[0081] **3. 면역요법**

[0082] 당업자는 추가 면역요법이 본 실시양태의 방법과 조합하여 또는 함께 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 암 치

료와 관련하여, 면역요법제는 일반적으로 암 세포를 표적화하여, 파괴하기 위해, 면역 이펙터 세포 및 분자의 사용에 의존한다. 리툭시맙(Rituximab) (RITUXAN®)이 그러한 예이다. 면역 이펙터는 예를 들어, 종양 세포 표면의 일부 마커에 특이적인 항체일 수 있다. 항체만으로 요법 이펙터 역할을 할 수 있거나, 실제로 세포 사멸에 영향을 미치는 다른 세포를 동원시킬 수 있다. 항체는 또한 약물 또는 독소 (화학요법제, 방사성핵종, 리신 A 쇄, 콜레라 독소, 백일해 독소 등)에 접합될 수 있으며, 표적화제로 작용할 수 있다. 대안적으로, 이펙터는 종양 세포 표적과 직접 또는 간접적으로 상호작용하는 표면 분자를 보유하는 림프구일 수 있다. 다양한 이펙터 세포로는 세포독성 T 세포 및 NK 세포를 포함한다.

[0083] 항체-약물 접합체는 암 치료제 개발에 대한 획기적인 접근법으로 등장하였다. 암은 세계에서 가장 큰 사망 원인 중 하나이다. 항체-약물 접합체 (ADC)는 세포 사멸 약물에 공유 결합에 의해 연결된 모노클로날 항체 (MAb)를 포함한다. 이러한 접근법은 항원 표적에 대한 MAb의 높은 특이성을 매우 강력한 세포독성 약물과 조합하여, 풍부한 수준의 항원이 있는 종양 세포에 페이로드 (약물)를 전달하는 "무장된" MAb를 생성한다. 약물의 표적 전달은 또한 정상 조직에서의 노출을 최소화하여 독성을 감소시키고 치료 지수를 향상시킨다. 두 가지 ADC 약물인 ADCETRIS® (브렌툭시맙 베도틴(brentuximab vedotin))는 2011년에, KADCYLA® (트라스투주맙 엠탄신 또는 T-DM1)는 2013년에 FDA 승인을 받아 접근법으로서 검증되었다. 현재 암 치료를 위한 다양한 임상 시험 단계에 30개 초과의 ADC 약물 후보가 있다 (문헌[Leal et al, 2014]). 항체 조작 및 링커 페이로드 최적화가 점점 더 발전됨에 따라 신규한 ADC의 발견 및 개발은 이 접근법에 적합한 신규한 표적의 확인 및 검증과 표적 MAb 생성에 점점 더 의존하고 있다. ADC 표적에 대한 두 가지 기준은 종양 세포에서 상향 조절/높은 수준의 발현 및 강건한 내재화이다.

[0084] 면역요법의 한 측면에서, 종양 세포는 표적화가 가능한, 즉, 대부분의 다른 세포에는 존재하지 않는 일부 마커를 보유해야 한다. 많은 종양 마커가 존재하고, 이들 중 임의의 마커는 본 실시양태와 관련하여 표적화에 적합할 수 있다. 일반적인 종양 마커에는 CD20, 암 배아 항원, 티로시나제 (p97), gp68, TAG-72, HMFG, 시알릴 루이스 항원(Sialyl Lewis Antigen), MucA, MucB, PLAP, 라미닌 수용체, erb B, 및 p155를 포함한다. 면역요법의 대안적 측면은 항암 효과와 면역 자극 효과를 조합하는 것이다. 사이토카인, 예컨대, IL-2, IL-4, IL-12, GM-CSF, 감마-IFN, 케모카인, 예컨대, MIP-1, MCP-1, IL-8, 및 성장 인자, 예컨대, FLT3 리간드를 포함한 면역 자극 분자가 또한 존재한다.

[0085] 면역요법의 예는 면역 애주번트, 예컨대, 미코박테리움 보비스(*Mycobacterium bovis*), 플라스모디움 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*), 디니트로클로로벤젠 및 방향족 화합물 (미국 특허 5,801,005 및 5,739,169; 문헌[Hui and Hashimoto, 1998]; [Christodoulides *et al.*, 1998]); 사이토카인 요법, 예컨대, 인터페론 α, β, 및 γ, IL-1, GM-CSF, 및 TNF (문헌 [Bukowski *et al.*, 1998]; [Davidson *et al.*, 1998]; [Hell가닥 *et al.*, 1998]); 유전자 요법, 예컨대, TNF, IL-1, IL-2, 및 p53 (문헌 [Qin *et al.*, 1998]; [Austin-Ward and Villaseca, 1998]; 미국 특허 5,830,880 및 5,846,945); 및 모노클로날 항체, 예컨대, 항-CD20, 항-강글리오사이드 GM2, 및 항-p185 (문헌 [Hollander, 2012]; [Hanibuchi *et al.*, 1998]; 미국 특허 5,824,311)를 포함한다. 하나 이상의 항암 요법이 본원에 기술된 항체 요법과 함께 사용될 수 있는 것으로 고려된다.

[0086] 일부 실시양태에서, 면역요법은 면역 체크포인트 억제제일 수 있다. 면역 체크포인트는 신호 (예컨대, 공자극 분자)를 증가시키거나, 신호를 감소시킨다. 면역 체크포인트 차단에 의해 표적화될 수 있는 억제 면역 체크포인트에는 아데노신 A2A 수용체 (A2AR), B7-H3 (또한 CD276으로 공지됨), B 및 T 림프구 감쇠제 (BTLA), 세포독성 T 림프구 관련 단백질 4 (CTLA-4, 또한 CD152로 공지됨), 인돌레아민 2,3-디옥시게나제 (IDO), 살해 세포 면역글로불린 (KIR), 림프구 활성화 유전자-3 (LAG3), 프로그래밍된 사멸 1 (PD-1), T 세포 면역글로불린 도메인 및 뮤신 도메인 3 (TIM-3) 및 T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제 (VISTA)가 포함된다. 특히, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1 축 및/또는 CTLA-4를 표적화한다.

[0087] 면역 체크포인트 억제제는 예컨대, 소분자, 리간드 또는 수용체의 재조합 형태와 같은 약물일 수 있거나, 특히, 인간 항체와 같은 항체일 수 있다 (예컨대, 국제 특허 공개 WO2015016718; 문헌 [Pardoll, *Nat Rev Cancer*, 12(4): 252-64, 2012]; 상기 둘 모두 본원에서 참조로 포함된다). 면역 체크포인트 단백질의 공지된 억제제 또는 그의 유사체가 사용될 수 있으며, 특히 키메라화, 인간화 또는 인간 형태의 항체가 사용될 수 있다. 당업자가 인식하고 있는 바와 같이, 본 개시내용에 언급된 특정 항체에 대해 대안적 및/또는 등가의 명칭이 사용될 수 있다. 이러한 대안적 및/또는 등가의 명칭은 본 발명과 관련하여 상호교환이 가능하다. 예를 들어, 람브롤리주맙은 또한 MK-3475 및 펨브롤리주맙의 대안적 및 등가의 명칭으로 공지되어 있다.

[0088] 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1과 그의 리간드 결합 상대의 결합을 억제하는 분자이다. 구체적인

측면에서, PD-1 리간드 결합 상대는 PDL1 및/또는 PDL2이다. 또 다른 실시양태에서, PDL1 결합 길항제는 PDL1과 그의 결합 상대의 결합을 억제하는 분자이다. 구체적인 측면에서, PDL1 결합 상대는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 실시양태에서, PDL2 결합 길항제는 PDL2와 결합 상대의 결합을 억제하는 분자이다. 구체적인 측면에서, PDL2 결합 상대는 PD-1이다. 길항제는 항체, 그의 항원 결합 단편, 면역접합체(immunoadhesin), 융합 단백질 또는 올리고펩티드일 수 있다. 예시적인 항체는 미국 특허 번호 8,735,553, 8,354,509, 및 8,008,449 (상기 특허 모두 본원에서 참조로 포함된다)에 기술되어 있다. 본원에 제공된 방법에 사용하기 위한 다른 PD-1 축 길항제는 예컨대, 미국 특허 공개 번호 US20140294898, US2014022021, 및 US20110008369 (상기 특허 모두 본원에서 참조로 포함된다)에 기술되어 있는 바와 같이, 당업계에 공지되어 있다.

[0089] 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체 (예컨대, 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체)이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 선택되는니볼루맙, 펨브롤리주맙, 및 CT-011로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 면역접합체 (예컨대, 불변 영역 (예컨대, 면역글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PDL1 또는 PDL2의 세포외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 면역접합체)이다. 일부 실시양태에서, PD-1 결합 길항제는 AMP-224이다. MDX-1106-04, MDX-1106, ONO-4538, BMS-936558, 및 OPDIVO®로도 공지된 니볼루맙은 WO2006/121168에 기술된 항-PD-1 항체이다. MK-3475, Merck 3475로도 공지된 펨브롤리주맙, 람브롤리주맙, KEYTRUDA® 및 SCH-900475는 WO2009/114335에 기술된 항-PD-1 항체이다. hBAT 또는 hBAT-1로도 공지된 CT-011은 WO2009/101611에 기술된 항-PD-1 항체이다. B7-DCIg로도 공지된 AMP-224는 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 기술된 PDL2-Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0090] 본원에 제공된 방법에서 표적화될 수 있는 또 다른 면역 체크포인트는 CD152로도 공지된 세포독성 T-림프구 관련 단백질 4 (CTLA-4)이다. 인간 CTLA-4의 완전한 cDNA 서열은 진뱅크(Genbank) 수탁 번호 L15006을 갖는다. CTLA-4는 T 세포의 표면에 존재하며, 항원 제시 세포의 표면에서 CD80 또는 CD86에 결합되는 경우, "끄는" 스위치 역할을 한다. CTLA4는 헬퍼 T 세포의 표면에서 발현되고, 억제 신호를 T 세포에 전달하는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이다. CTLA4는 T 세포 공자극 단백질인 CD28과 유사하며, 두 분자 모두 항원 제시 세포에서 각각 B7-1 및 B7-2로도 언급되는 CD80 및 CD86에 결합한다. CTLA4는 T 세포에 억제 신호를 전달하는 반면, CD28은 자극 신호를 전달한다. 세포내 CTLA4는 조절 T 세포에서 발견되고, 그 기능에 중요할 수 있다. T 세포 수용체 및 CD28을 통한 T 세포 활성화는 B7 분자에 대한 억제 수용체인 CTLA-4의 발현을 증가시킨다.

[0091] 일부 실시양태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체 (예컨대, 인간 항체, 인간화 항체 또는 키메라 항체), 그의 항원 결합 단편, 면역접합체, 융합 단백질, 또는 올리고펩티드이다.

[0092] 본 방법에 사용하기에 적합한 항-인간-CTLA-4 항체 (또는 그로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당업계에 널리 공지된 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 당업계에서 인정받은 항-CTLA-4 항체가 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 8,119,129; 국제 특허 공개 번호 WO 01/14424, WO 98/42752, 및 WO 00/37504 (CP675,206, 또한 트레멜리무맙으로도 공지; 종래 명칭은 티실리무맙); 미국 특허 번호 6,207,156; 문헌 [Hurwitz *et al.*, 1998]; [Camacho *et al.*, 2004]; 및 [Mokyr *et al.*, 1998]에 개시된 항-CTLA-4 항체가 본원에 개시된 방법에서 사용될 수 있다. 각각의 상기 언급된 공개문헌의 교시는 본원에서 참조로 포함된다. CTLA-4와의 결합을 위해 당업계에서 인정된 이러한 항체와 경쟁하는 항체가 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간화 CTLA-4 항체는 국제 특허 출원 번호 WO2001014424, WO2000037504 및 미국 특허 번호 8,017,114에 기술되어 있으며; 상기 문헌 모두 본원에 참조로 포함된다.

[0093] 예시적인 항-CTLA-4 항체는 이필리무맙 (또한 10D1, MDX-010, MDX-101 및 여보이(Yervoy)®로 공지) 또는 그의 항원 결합 단편 및 변이체 (예컨대, WO 01/14424 참조)이다. 다른 실시양태에서, 항체는 이필리무맙의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 VR을 포함한다. 따라서, 한 실시양태에서, 항체는 이필리무맙의 VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 이필리무맙의 VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와 CTLA-4 상의 동일한 에피토프와 결합하고/거나, 그에 대해 결합하기 위해 경쟁한다. 또 다른 실시양태에서, 항체는 상기 언급된 항체와 적어도 약 90%의 가변 영역 아미노산 서열 동일성을 갖는다 (예컨대, 이필리무맙과 적어도 약 90%, 95% 또는 99% 가변 영역 동일성).

[0094] CTLA-4를 조정하기 위한 다른 분자는 미국 특허 번호 5,844,905, 5,885,796 및 국제 특허 출원 번호 WO1995001994 및 WO1998042752 (이들 모두 본원에서 참조로 포함된다)에 기술된 것과 같은 CTLA-4 리간드 및 수용체; 및 예컨대, 미국 특허 번호 8,329,867 (본원에서 참조로 포함된다)에 기술된 것과 같은 면역접합체를 포함한다.

[0095] **4. 수술**

[0096] 암 환자의 대략 60%는 예방, 진단 또는 병기 결정, 치유 및 완화 수술을 포함하는 일부 유형의 수술을 받게 된다. 치유 수술은 암성 조직 전체 또는 일부를 물리적으로 제거, 절제 및/또는 파괴하는 절개술을 포함하며, 다른 요법, 예컨대, 본 실시양태의 치료, 화학요법, 방사선요법, 호르몬 요법, 유전자 요법, 면역요법 및/또는 대체 요법과 조합될 수 있다. 종양 절개술은 종양의 적어도 일부를 물리적으로 제거하는 것을 지칭한다. 종양 절개술 외에도, 수술에 의한 치료는 레이저 수술, 저온 수술, 전기 수술, 현미경 제어 수술 (모스 수술 (Mohs' surgery)) 등을 포함한다.

[0097] 암성 세포, 조직 또는 종양의 일부 또는 그 전부를 절제하면, 체내에 공동이 형성될 수 있다. 치료는 추가 항암 요법에 의한 관류, 직접 주사 또는 국소 부위 적용에 의해 수행할 수 있다. 이러한 치료는 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일마다, 또는 1, 2, 3, 4, 및 5주마다 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12개월마다 반복될 수 있다. 이러한 치료는 투여량 또한 다양할 수 있다.

[0098] **5. 다른 작용제**

[0099] 치료의 치료적 효능을 개선하기 위해 본 실시양태의 특정 측면과 함께 조합하여 다른 작용제가 사용될 수 있음이 고려된다. 이러한 추가 작용제에는 세포 표면 수용체 및 GAP 접합의 상향 조절에 영향을 주는 작용제, 세포 증식 억제 및 분화 작용제, 세포 부착 억제제, 아폽토시스 유도제에 대한 과증식 세포의 감수성을 증가시키는 작용제 또는 다른 생물학적 작용제가 포함된다. GAP 접합의 수의 증가에 의한 세포간 신호전달의 증가는 인접한 과증식 세포 집합에 대한 항과증식 효과를 증가시킬 것이다. 다른 실시양태에서, 세포 증식 억제제 또는 분화 작용제가 치료의 항과증식 효능을 개선하기 위해 본 실시양태의 특정 측면과 함께 조합하여 사용될 수 있다. 본 실시양태의 효능을 개선하기 위해 세포 부착 억제제가 고려된다. 세포 부착 억제제의 예로는 국소 부착 키나제 (FAK) 억제제 및 로바스타틴(Lovastatin)이 있다. 치료 효능을 개선하기 위해 예컨대, 항체 c225와 같은 과증식 세포의 아폽토시스에 대한 감수성을 증가시키는 다른 작용제가 본 실시양태의 특정 측면과 함께 조합하여 사용될 수 있다는 것이 추가로 고려된다.

[0100] **IV. 키트**

[0101] 또한, 본 개시내용의 범주 내에는 예컨대, 본원에 개시된 것과 같은 EGFR 및/또는 HER2 엑손 20 돌연변이를 검출하기 위한 키트가 있다. 이러한 키트의 예는 엑손 20 돌연변이-특이적 프라이머를 포함할 수 있다. 키트는 본원에 기술된 EFGR 및/또는 HER2 엑손 20 돌연변이의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 프라이머의 사용에 대한 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 키트는 암 환자로부터의 샘플에서 본원에 기술된 EGFR 및/또는 HER2 엑손 20 돌연변이의 양성 확인이 티로신 키나제 억제제 포지오티닙 또는 구조적으로 유사한 억제제 및 T-DM1에 대한 감수성을 시사함을 나타내는 진단 목적을 위한 설명서를 추가로 포함할 수 있다. 키트는 암 환자로부터의 샘플에서 본원에 기술된 EGFR 및/또는 엑손 20 돌연변이의 양성 확인이 환자가 포지오티닙 또는 구조적으로 유사한 억제제 및 T-DM1로 치료되어야 한다는 것을 시사함을 나타내는 설명서를 추가로 포함할 수 있다.

[0102] **V. 실시예**

[0103] 하기 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 나타내기 위해 포함된다. 하기 실시예에 개시된 기술은 본 발명의 실시시 적절하게 기능하도록 하기 위해 본 발명자들이 발견한 기술을 나타내며, 따라서, 그 실시를 위한 바람직한 모드를 구성하는 것으로 고려될 수 있음을 당업자는 이해해야 한다. 그러나, 당업자는 본 개시내용에 비추어 볼 때 개시된 특정 실시양태에서 많은 변경이 이루어질 수 있고, 여전히 본 발명의 정신 및 범주를 벗어나지 않고, 유사하거나, 근사한 결과를 획득할 수 있음을 인식해야 한다.

[0104] **실시예 1 - HER2 암 치료**

[0105] **HER2 돌연변이는 방광암, 위암, 및 담관암에 가장 빈번하게 존재한다**: 암 유형 간의 HER2 돌연변이의 다양성을 이해하기 위해, c바이오포털 (N= 44,037) 및 MD 앤더슨 캔서 센터(MD Anderson Cancer Center) (N = 19,926) 내에서 여러 데이터베이스를 질의하였다.

[0106] **HER2 돌연변이는 HER2의 티로신 키나제 도메인에 가장 빈번하게 존재한다:** 이어서, c바이오포털에 및 MD 앤더슨에서 보고된 HER2 수용체의 다양한 영역 내에서 돌연변이의 빈도를 분석하였다. 모든 암 유형 사이에서, HER2 돌연변이는, 엑손 20 (20%), 엑손 19 (11%), 및 엑손 21 (9%) 중에 돌연변이를 포함한, 티로신 키나제 도메인 (46%)에 가장 빈번하게 존재하였으며 (도 1); 추가로, 세포외 도메인 돌연변이는 37%의 HER2 돌연변이를 구성하였다.

[0107] **HER2 돌연변이 핫스팟은 악성 종양 유형에 따라 달라진다**: 질의된 모든 암 사이에서, 가장 흔한 HER2 돌연변이는 S310F/Y (11.0%), Y772_A775dupYVMA (5.7%), L755P/S (4.6%), V842I (4.4%), 및 V777L/M (4.0%) (도 2a)였다. 폐암에서, HER2 돌연변이 대다수는 엑손 20 (47%)에 존재하였고, Y772_A775dupYVMA는 전체 HER2 돌연변이의 34%를 차지하였다 (도 2b). 유방암에서, HER2 돌연변이 대다수는 엑손 19 (37%)에 존재하였고, L755 돌연변이가 HER2 돌연변이 중 22%로 가장 우세하였다. 그러나, 한 변이체가 지배적인 폐암과 달리, 유방암에는 엑손 19 돌연변이 중에 더 많은 돌연변이 다양성이 존재하였다 (도 2c). 결장직장암에서, HER2 돌연변이는 엑손 21 (22%)에 가장 빈번하게 존재하였고, V842I 변이체가 가장 우세한 것이었다 (19%) (도 2d).

[0108] **빈번하게 검출된 HER2 변경은 활성화 돌연변이이다**: 공통 HER2 돌연변이의 기능적 영향을 평가하기 위해, 엑손 19, 20 및 21 사이에서 가장 빈번하게 검출된 16개의 HER2 돌연변이를 Ba/F3 세포에서 안정적으로 발현시켰다. 시험된 HER2 돌연변이 16개 모두 Ba/F3 세포의 IL-3 비의존적 생존을 유도하는 것으로 나타났고 (도 3a-c), 인산화된 HER2를 발현하였으며, 이는 상기 돌연변이를 통해 수용체가 활성화된다는 것을 시사하는 것이다.

[0109] **포지오티닙은 시험된 것 중 가장 강력한 TKI였고, 이는 시험관내에서 가장 흔한 HER2 돌연변이를 억제시켰다**: 최근 보고는 HER2 돌연변이체 질환의 임상전 모델에서 공유결합 퀴나졸린아민-기반 TKI (즉, 아파티닙, 다코미티닙, 포지오티닙, 네라티닙)의 효과를 강조하고 있지만 (문헌 [Nagano *et al.*, 2018]), 아파티닙, 다코미티닙, 및 네라티닙의 임상 연구에서는 환자 결과에서 낮은 ORR, 암 특이적 및 변이체 특이적 차이를 보였다. 가장 흔하게 검출되는 HER2 변이체 사이의 약물 감수성을 체계적으로 평가하기 위해, HER2 돌연변이체 Ba/F3 세포 패널을 11개의 공유결합 및 비-공유결합 EGFR 및 HER2 TKI에 대해 스크리닝하였다. HER2 돌연변이체는 비-공유결합 억제제, 라파티닙 및 사파티닙에 대해 강건한 내성을 보였다 (도 4a). 공유결합 TKI 오시메르티닙, 이브루티닙, 및 나자티닙은 엑손 20 돌연변이를 발현하는 세포에서 세포 생존능을 억제시키는 데 있어 효과가 없었지만; 그러나, 이들 TKI는 D769 엑손 19 변이체 및 엑손 21 변이체를 발현하는 세포에 대해서는 활성을 보였다 (도 4a). 그에 비해, 공유결합, 퀴나졸린아민-기반 TKI, 아파티닙, 네라티닙, 다코미티닙, 탈록소티닙-TKI, 및 포지오티닙은 3개 엑손 모두에서 HER2 돌연변이체에 대해 억제 활성을 가졌다 (도 4a). 시험된 모든 HER2 돌연변이 변이체 및 TKI 사이에서, 포지오티닙의 평균 IC_{50}은 가장 낮았고, 세포 생존능을 감소시키는 데 있어 네라티닙 및 탈록소티닙-TKI보다 유의적으로 더 효과적이었다 (각각 $p<0.001$ 및 $p=0.018$, 도 4b). 추가로, 포지오티닙은 HER2 엑손 19 및 20 돌연변이에 대해 네라티닙 또는 탈록소티닙-TKI보다 효능이 더 컸지만, 엑손 21 돌연변이체에 대해서는 평균 IC_{50}에 있어 유의적인 차이는 없었고 (도 4c-e), 이는 돌연변이 위치가 약물 결합에 영향을 준다는 것을 시사하는 것이다. 추가로, 엑손 19 내의 L755S 및 L755P 변이체는 시험된 모든 TKI 사이에서 약물 감수성에 있어 유의적인 차이를 보였고 (도 4f), 이는 상기 부위에서의 특정 아미노한 변이가 약물 결합 친화성에 영향을 미쳤다는 것을 시사하는 것이다.

[0110] **HER2 돌연변이 위치 및 아미노산 변이가 약물 결합 친화성에 영향을 준다:** 돌연변이 위치 및 아미노산 변이가 약물 결합 친화성 및 억제 효능에 어떻게 영향을 줄 수 있는지에 관해 추가로 이해하기 위하여, 분자 동역학적 모의실험을 사용하여 이들 돌연변이가 HER2 키나제 도메인의 구조 및 동역학적 성질에 어떻게 영향을 주는지에 관하여 조사하였다. 주형으로서 공개적으로 이용가능한 X-선 구조 (PDB 3PP0)를 이용하여 L755S, L755P, Y772dupYVMA, V777L, 및 L869R HER2 돌연변이체의 분자 모델을 구축하였고, 그에 대해 가속 분자 동역학적 실험을 수행하여 단백질 입체형태 샘플링을 증가시켰다. 샘플링된 단백질 입체형태 범위는, 특히, P-루프 및 α-C-헬릭스 위치와 관련하여 이들 HER2 돌연변이체 사이에서 다양하였다. 심지어 엑손 20 돌연변이 사이에서도 차이는 분명하게 드러났고, 특히, α-C-헬릭스 영역에서 α-C-헬릭스의 입체형태의 지속 기간은 "인" (더 작은 결합 포켓을 갖는 활성 입체형태)과 "아웃" (더 큰 결합 포켓을 갖는 불활성 입체형태) 사이에 차이가 있었다. V777L 돌연변이체는 "아웃" 입체형태를 다량 샘플링한 반면, Y772dupYVMA 돌연변이체는 "인" 및 "아웃" 입체형태, 둘 모두를 샘플링하였다 (도 5a). 전반적으로, 이러한 입체형태 상태 차이에 기인하여, Y772dupYVMA 돌연변이체는 V777L 돌연변이체보다 10배 정도 더욱 빈번하게 "인" 입체형태로 존재하였고 (도 5b), 평균적으로, V777L과 비교하여 Y772dupYVMA의 경우, 결합 포켓 크기가 더 작았다 (도 5c). 추가로, 네라티닙은 α-C-헬릭스로 배향된 피리딜 고리를 함유하기 때문에, Y772dupYVMA의 더 작은 결합 포켓이 V777L과 비교하여 Y772dupYVMA에 대한 네라티닙의 효력이 더 약한 것의 원인이 될 수 있다.

[0111] HER2 돌연변이체 결합 포켓 부피에 관한 추가 분석 결과 (도 10b), 동일한 잔기에서의 돌연변이가 단백질 입체형태에 대해 현저히 다른 영향을 줄 수 있는 것으로 나타났다. 특히, L755P 돌연변이의 프롤린 잔기에는 수소 결합 공여자가 결핍되어 있고, 이는 각각 L755와 V790 사이의 β3과 β5 가닥 사이의 백본 수소 결합을 파괴시킨다. 상기 두 β 가닥 사이의 안정화 결핍으로 β 시트는 불안정화되고, 키나제 힌지 영역은 구조적으로 재배

열되었다 (도 5d). 특히, L755P의 L800 잔기는 활성 부위로 돌출되었고, 이는 포켓 크기를 크게 축소시켰다. β3 가닥 입체형태 변화는 또한 P-루프를 안쪽으로 붕괴시켜 포켓 부피를 추가로 감소시키고, 상기 돌연변이체를 대부분의 TKI에 대한 감수성을 더 작게 감소시켰다. 추가로, 힌지 이동성 변화 또한 키나제 활성화에서 중요한 역할을 할 수 있다. 이러한 L755P 돌연변이체 입체형태의 뚜렷한 변화는, 야생형 HER2와 더 유사한 입체형태 및 포켓 부피를 갖는 L755S 돌연변이체의 거동과는 대조적이었다.

[0112] **HER2 돌연변이체 인간 암 세포주는 포지오티닙에 대해 증강된 감수성을 보였다**: HER2 억제제를 시험한 임상 연구를 통해 약물 감수성의 암 유형 특이적 차이가 밝혀졌다 (문헌 [Hyman *et al.*, 2018]). 공유결합, 퀴나졸린 아민-기반 TKI가 HER2 돌연변이체 질환의 모델에서 현저한 활성을 보이는지 여부를 측정하기 위해, 인간 암 세포주에서 EGFR/HER2 TKI 패널을 시험하였다. 전-신생물 MCF10A 유선 상피 세포를 HER2 엑손 20 돌연변이로 형질감염시키고, 시험관내에서 12개의 EGFR/HER2 TKI에 대한 감수성을 평가하였다. G776del insVC, Y772dupYVMA, 또는 G778dupGSP HER2 돌연변이를 발현하는 MCF10A 세포가 각각 IC_{50} 값 12 nM, 8.3 nM, 4.5 nM으로 포지오티닙에 대해 가장 큰 감수성을 보였다 (도 6a-c). 그에 비해, 탈록소티닙-TKI 및 네라티닙은 각각 21 nM 및 150 nM인 평균 IC_{50} 값을 얻었으며 (도 6a-c), 이는 포지오티닙이 탈록소티닙-TKI 및 네라티닙보다 각각 2.6배 및 19배 더 강력한 효능을 갖는다는 것을 시사하는 것이다 ($p<0.001$). 추가로, 포지오티닙 및 네라티닙으로 처리된 MCF10A HER2 G776delinsVC의 웨스턴 블롯팅 결과, 네라티닙이 아닌 포지오티닙이 10 nM에서 p-HER2를 완전하게 억제시킨 것으로 나타났다 (도 12a). 야생형 (WT) HER2는 IL-3과 상관없이, Ba/F3 세포가 성장하도록 변환시키지 않기 때문에, MCF10A 세포를 사용하여 WT HER2 대비 돌연변이체 HER2에 대한 TKI의 선택성을 측정하였다. 이를 위해, 각 억제제에 대한 선택 지수 (SI, IC_{50} 값 돌연변이체/IC_{50} 값 WT)를 산출하였고, 포지오티닙이 MCF10A 세포주에서 시험된 것 중 가장 큰 돌연변이체 선택성을 띠는 TKI이고 (SI = 0.028), 그 다음은 피로티닙 (SI = 0.063) 및 탈록소티닙-TKI (SI= 0.111)인 것으로 나타났다 (도 6d). Ba/F3 세포를 사용하여 수득된 결과와 일관되게 (도 3c), HER2 엑손 19 돌연변이체 결장직장암 (CW-2) 모델에서, 각각 평균 IC_{50} 값 3.19 nM, 4.24 nM, 및 68.8 nM으로, 포지오티닙, 탈록소티닙-TKI, 및 네라티닙 사이의 감수성 차이는 비록 유의적이기 하였지만 ($p= 0.02$ 및 $p=0.0004$), 덜 극적이었다(도 6e). 추가로, CW-2 결장직장 세포의 이종이식 마우스 모델에서, 21일째, 포지오티닙 (5 mg/kg) 처리 동물은 비히클 처리군과 비교하여 58%의 종양 부피 감소를 보였다 ($p=0.011$). 그에 비해, 네라티닙 (30 mg/kg) 처리 동물은 비히클 대조군과 비교하여 증가된 종양 부피 (28%)를 보였고 ($p=0.023$), 아파티닙 (20 mg/kg) 처리는 비히클 대조군과 비교하여 종양 성장에 유의적인 영향을 주지는 않았다 (도 6f, 도 13).

[0113] **포지오티닙은 HER2 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자에서 항-종양 활성을 갖는다**: 엑손 20 돌연변이에 관한 상기 임상전 데이터 및 앞서 공개된 연구에 기초하여 (문헌 [Robichaux *et al.*, 2018]), 연구원이 개시한 II 상 임상시험을 EGFR 및 HER2 엑손 20 돌연변이체 NSCLC에서에서 포지오티닙에 대해 시작하였다 (NCT03066206). 환자를 진행, 사망, 또는 탈퇴시까지 매일 경구적으로 포지오티닙 16 mg으로 처리하였다. RECIST v1.1에 기초하여 매 8주마다 객관적 반응을 평가하였다. HER2 엑손 20 삽입 돌연변이를 보유하는 처음 12명의 평가가능한 환자 중 6/12 (50%) 환자가 부분 반응(PR)인 최적 반응을 보였고; 이 반응은 반복 스캔에 의해 확인되었고, 2개월 후 5/12에서 나타났다 (확인된 객관적 반응률, 42%) (도 7a). 상기 환자 중 환자 2명은 제1 반응 평가에서 진행성 질환 (PD)을 보였고, 그 결과, 질환 제어률 (DCR)은 83%였다. 2018년 11월 현재, 12명의 환자 중 7명에서 진행이 일어났고, 처음 12명의 환자에 대한 중앙값 PFS는 5.7개월이었다 (도 7b). 따라서, 본 연구에서 포함된 환자는 모두 가장 공통되는 두 엑손 20 삽입, Y772dupYVMA 및 G778dupGSP 중 하나를 더 보유하였다 (도 7a). 처리 이전 및 이후 (8주)로 Y772dupYVMA 돌연변이를 갖는 1명의 NSCLC 환자의 대표적인 영상은 우측 폐에서 강건한 종양 수축을 보였다 (도 7c). 선행 치료 차수를 비롯한, 환자 특징은 하기 표 3에서 찾아볼 수 있다. 추가로, 크게 사전 처리된, HER2 엑손 19 점 돌연변이, L755P를 보유하는 NSCLC 환자 1명은 동정적 요법 사용 프로토콜 (C-IND18-0014)로 처리하였다. 환자를 매일 16 mg 포지오티닙으로 처리하였고, 4주째 종양 수축을 보였다 (도 7d, 흰색 박스). 환자는 RECIST v1.1에 대해 안정 병변 (SD) (표적 병변 -12% 감소)을 보였다. 환자는 영상화에서 질환 진행을 보일 때까지 7개월 초과 동안 질환 제어하에 포지오티닙을 계속 그대로 유지하였고, 포지오티닙을 중단하였다. 환자는 포지오티닙 처리 종료시 임상적으로 우수하였고, 계속해서 추가의 전신 요법을 받았다.

[0114] **포지오티닙 및 T-DM1 조합 처리가 항-종양 활성을 강화시킨다**: HER-양성 유방암 모델에서 HER2 TKI 라파티닙 및 EGFR 돌연변이체 NSCLC 모델에서 EGFR 억제제에 관한 이전 연구에서 TKI 처리가 세포 표면 상의 수용체 축적을 일으키고, 증가된 세포 표면 HER2/EGFR이 항체-의존성 세포 세포독성 (ADCC)에 대한 감수성을 증가시키는 것으

로 밝혀졌다. 포지오티닙 처리가 세포 표면 상의 전체 HER2 수용체 발현을 증가시키는지 여부를 측정하기 위해, 24시간의 포지오티닙 처리 후 FACS에 의해 세포 표면 HER2 발현을 분석하였다. 평균적으로, 포지오티닙 처리가 세포 표면 HER2 발현을 2배 증가시킨 것으로 나타났다 (도 8a, $p<0.0001$). 이어서, 포지오티닙 및 T-DM1 조합이 시험관내 세포 생존능을 감소시키는지 여부를 시험하였고, T-DM1 단독인 경우, MCF10A HER2 돌연변이체 세포주의 세포 생존능을 억제시키지 못했지만, 포지오티닙과 T-DM1의 조합은 두 작용제 중 어느 하나를 단독 사용하였을 때보다 IC_{50} 값은 더 낮았다 (도 8b). 이러한 관찰결과는 생체내에서 입증하기 위해, 단일 용량의 T-DM1과 함께 저용량 포지오티닙의 조합을 HER2 돌연변이체 NSCLC PDX 모델 (HER2 Y772dupYVMA)에서 시험하였다. 14일째, T-DM1만을 단독으로 받은 2/9 마우스 또는 저용량 포지오티닙을 받은 0/9 마우스와 비교하여 저용량의 포지오티닙 (2.5 mg/kg) 및 단일 용량의 T-DM1 (10 mg/kg)는 8/8 마우스에서 완전한 종양 퇴행을 보였다 (도 8c-d, $p<0.0001$). 4주째까지, T-DM1만을 단독으로 받은 마우스에서 종양 성장이 다시 시작되었지만; 그러나, 조합 처리를 받은 모든 마우스에서는 종양 재발의 증거는 없었다 (도 8e).

[0115] 본 연구에서는 비록 특정 돌연변이 핫스팟은 악성 종양에 따라 달라지기는 하지만, HER2 돌연변이가 다양한 종양 유형에 존재한다는 것이 밝혀졌다. 추가로, HER2 TKI에 대한 감수성은 돌연변이 위치 사이에 이종성이고, HER2 엑손 20 삽입 및 L755P 돌연변이는 가능하게는 약물 결합 포켓의 부피 축소에 기인하여 대다수의 HER2 TKI에 대하여 내성을 띤다. 추가로, 포지오티닙은 HER2 엑손 20 삽입 및 L755P 돌연변이를 보유하는 NSCLC 환자에서 임상 효능을 갖는, 강력한 효능의, 범-HER2 돌연변이체-선택적 억제제인 것으로 확인되었다. 최근, 포지오티닙 처리가 세포 표면 상의 HER2 축적을 유도하였고, 포지오티닙 및 T-DM1 조합 처리가 시험관내 및 생체내 둘 모두에서 항-종양 활성을 증강시켰다는 것이 확립되었다.

표 1

안정한 세포주를 생성하는 데 사용된 벡터

[0116]

명칭	돌연변이	판매사
HER2 L755S	c.2264T>C	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 D769H	c.2305G>A	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 D769N	c.2305G>C	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 D769Y	c.2305G>T	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 Y772dupYVMA	c.2323_2324insTATGTCATGGCT	애드진으로부터 구매(#40982)
HER2 G776del insVC	c.2326_2328insTCT	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 G776del insVV	c.2327delinsTTGT	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 G776del insLC	c.2326G>TTGT	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 V773M	c.2317G>A	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 V777L	c.2329G>T	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 G778insLPS	c.2332_2333insGGCTCCCCA	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 P780insGSP	c.2339_2340insTGGCTCCCC	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 L786V	c. 2356C>G	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 V842I	c.2524G>A	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)
HER2 L869R	c.2606T>G	애드진으로부터 입수한 pBabe-Puro HER2 WT로부터 바이오이노바티스에 의해 생성(#40978)

표 2

환자 특징 및 선행 요법 차수

연령	성별	선행 요법 차수	돌연변이
57	F	1	Y772_A775dupYVMA
64	F	6	Y772_A775dupYVMA
54	F	1	A775_G776insYVMA
59	F	0	Y772_A775dupYVMA
58	F	3	Y772_A775dupYVMA
60	F	1	G778_P780dupGSP
61	F	3	G778_P780dupGSP
62	F	0	A775_G776insYVMA
55	F	2	G778_P780dupGSP
61	M	4	Y772_A775dupYVMA
63	M	1	Y772_A775dupYVMA
60	F	3	Y772_A775dupYVMA

[0117]

[0118] **실시예 2 - 물질 및 방법**

[0119] **HER2 돌연변이 출현율(prevalence) 및 변이체 빈도 분석**: MD 앤더슨 캔서 센터 및 cBioPortal로부터의 데이터베이스에 보고된 각 HER2 돌연변이의 빈도를 측정하기 위해 각 데이터베이스를 개별적으로 질의한 후, 각 데이터베이스에서 환자의 총 명수로 그 빈도를 가중화하고, 가중화 평균으로 기록하였다. cBioPortal에서 암 유형 사이의 HER2 돌연변이의 빈도를 측정하기 위해, 모든 비-중복 연구를 선택하고, 익스포트하였다. 중복 연구의 경우, 오직 가장 큰 데이터세트만을 사용하였다. MD 앤더슨 캔서에서의 HER2 돌연변이 빈도를 측정하기 위해, 암 유형과 상관없이 모든 HER2 돌연변이에 대해 개인 맞춤형 암 요법 연구소(Institute for Personalized Cancer Therapy) 데이터베이스를 질의하였다.

[0120] **Ba/F3 세포주 생성 및 IL-3 박탈**: Ba/F3 세포주를 앞서 기술된 바와 같이 확립시켰다 (문헌 [Robichaux *et al.*, 2018]). 간략하면, 12시간 동안 Ba/F3 세포주의 레트로바이러스 형질도입에 의해 안정한 Ba/F3 세포주를 생성하였다. 표 1에 요약된 pBabe-Puro 기반 벡터 (애드진 앤드 바이오이노바티스(Addgene and Bioinnovatise))를 피닉스 293T-암포(Phoenix 293T-ampho) 세포 (오비겐(Orbigen))에 리포펙타민 2000 (인비트로겐(Invitrogen))을 사용하여 형질감염시켜 레트로바이러스를 생성하였다. 형질도입 3일 후, 2 ㎍/ml 퓨로마이신 (인비트로겐)을 RPMI 배지에 첨가하였다. 선별 5일 후, 세포를 FITC-HER2 (바이오레전드(Biolegend))로 염색하여 FACS에 의해 분류하였다. 이어서, 세포주를 IL-3 부재하에 2주 동안 성장시키고, 셀 타이터 글로 검정법 (프로게마(Progema))을 이용하여 매 3일마다 세포 생존능을 평가하였다. 생성된 안정한 세포주를 IL-3 부재하의 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640 배지 중에 유지시켰다.

[0121] **세포 생존능 검정법 및 IC_{50} 추정**: 앞서 기술된 바와 같이 (문헌 [Robichaux *et al.*, 2018]) 셀 타이터 글로 검정법 (프로메가)을 이용하여 세포 생존능을 측정하였다. 간략하면, 2,000-3,000개의 세포/웰을 384-웰 플레이트 (그라이너 바이오-원(Greiner Bio-One))에 플레이팅하였으며, 이를 기술적으로 삼중 반복 실험으로 수행하였다. 세포를 7가지의 상이한 농도의 티로신 키나제 억제제 또는 비히클 단독에 의해 웰당 최종 부피가 40 ㎕가 되도록 하여 세포를 처리하였다. 3일 시간 후, 11 ㎕의 셀 타이터 글로를 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 15분 동안 진탕시키고, FLUOstar OPTIMA 다중 모드 마이크로플레이트 판독기 (BMG LABTECH)를 사용하여 생물발광을 측정하였다. 생물발광 값을 DMSO 처리된 세포로 정규화하고, 정규화된 값을 가변 기울기로 정규화된 데이터에 비선형 회귀 맞춤을 사용하여 그래프패드 프리즘에 플롯팅하였다. IC_{50} 값을 50% 억제에서 그래프패드 프리즘에 의해 계산하였다.

[0122] **포스포- 및 전체-HER2에 대한 ELISA 및 IC50 값과의 상관관계**: 상기 기술된 바와 같이 모체 Ba/F3 세포주 및 HER2 돌연변이를 발현하는 각 Ba/F3 세포주로부터 단백질을 수거하였다. 5 ㎍/ml의 단백질을 각 ELISA 플레이트에 첨가하고, 제조사의 설명서에 의해 기술된 바와 같이, 인산화된 HER2 (셀 시그널링(Cell signaling), #7968) 및 전체 HER2 (셀 시그널링, #7310)에 대해 ELISA를 수행하였다. ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 전체 HER2 대비 p-HER2의 비를 구하여 상대적인 p-HER2 발현을 측정하였다. 상기 기술된 바와 같이 산출된 포지오티닙

IC50 값에 대해 상대적인 p-HER2 비를 플롯팅하였다. 피어슨 상관관계 및 p-값은 그래프패드 프리즘에 의해 결정되었다.

[0123] **티로신 키나제 억제제 및 T-DM1**: 모든 억제제를 셀렉케미컬(Selleck Chemical)로부터 구입하였고, 단, 예외적으로, EGF816 및 피로티닙은 MedChem 익스프레스(MedChem Express)로부터 구입하였다. 모든 억제제를 10 mM 농도의 DMSO에 용해시키고, -80℃에 보관하였다. 억제제는 폐기 전에 2회의 동결 해동/사이클로 제한하였다. T-DM1은 M.D. 앤더슨 캔서 센터 기관 약국에서 재구성된 것을 구입하였다.

[0124] **분자 동역학적 모의실험**: 인실리코 돌연변이를 DB 3PP0 X-선 구조로 도입하여 MOE 컴퓨터 프로그램 (케미컬 컴퓨팅 그룹(Chemical Computing Group))을 이용하여 HER2 돌연변이체의 단백질 구조 모델을 구축하였다 (문헌 [Aertgeerts *et al.*, 2011]). NAMD 모의실험 패키지를 이용하여 고전적 및 가속 분자 동역학적 모의실험을 수행하였다 (문헌 [Phillips *et al.*, 2005]).

[0125] **인간 세포주**: MCF10A 세포를 ATCC로부터 구입하여, 1% 페니실린/스트렙토마이신, 5% 말 혈청 (시그마(sigma)), 20 ng/ml EGF, 0.5 mg/ml 히드로코르티손 및 10 ㎍/ml 인슐린으로 보충된 DMEM/F12 배지에서 배양하였다. 레트로바이러스 형질도입에 의해 안정한 세포주를 생성하고, 표 1에 요약된 pBabe-Puro 기반 벡터 (애드진 앤드 바이오이노바티스)를 피닉스 293T-암포 세포 (오비겐)에 리포펙타민 2000 (인비트로겐)을 사용하여 형질감염시켜 레트로바이러스를 생성하였다. 형질도입 2일 후, 0.5 ㎍/ml 퓨로마이신 (인비트로겐)을 RPMI 배지에 첨가하였다. 선택 14일 후, 상기 기술된 바와 같이 세포 생존능 검정법에서 세포를 시험하였다. CW-2 세포는 MTA 하에 리켄(Riken) 세포주 데이터베이스에 의해 제공되었으며, 이를 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 RPMI에서 유지시켰다.

[0126] **생체내 이종이식편 연구:** 50% 마트리겔 중 $1x10^6$개의 세포를 6주령된 암컷 nu/nu 누드 마우스에 주사하여 CW-2 세포주 이종이식편을 생성하였다. 종양이 350 ㎣에 도달하였을 때, 마우스를 4개 군: 20 mg/kg 아파티닙, 5 mg/kg 포지오티닙, 30 mg/kg 네라티닙, 또는 비히클 대조군 (0.5% 메틸셀룰로스, dH2O 중 2% 트윈(Tween)-80)으로 무작위화하였다. 주 3회에 걸쳐 종양 부피를 측정하였다. 마우스는 월요일부터 금요일까지 (주 5일) 약물을 받았지만, 수요일 투약을 시작하였을 때에는 처음 3일간 투약한 후, 2일 동안 휴약기를 허용하였다.

[0127] Y772dupYVMA PDX 마우스를 잭스 랩스(Jax Labs) (모델 # TM01446)로부터 구입하였다. HER2 Y772dupYVMA를 발현하는 종양의 단편을 5 내지 6주령된 암컷 NSG 마우스 (잭스 랩스 #005557)에 접종하였다. 마우스를 주 3회에 걸쳐 측정하고, 종양 부피가 200-300 ㎣에 도달하였을 때, 마우스를 4개 처리군: 비히클 대조군 (0.5% 메틸셀룰로스, dH_2O 중 0.05% 트윈-80), 2.5 mg/kg 포지오티닙, 10 mg/kg T-DM1, 또는 2.5 mg/kg 포지오티닙 및 10 mg/kg T-DM1의 조합으로 무작위화하였다. 종양 부피 및 체중을 주 3회 측정하였다. 2.5 mg/kg 포지오티닙으로 처리된 마우스는 월요일부터 금요일까지 (주 5일) 경구적으로 약물을 받았다. 10 mg/kg T-DM1으로 처리된 마우스는 무작위화 당일 T-DM1을 정맥내 (IV) 용량으로 1회 받았다. 포지오티닙 및 T-DM1 조합으로 처리된 마우스는 IV 용량의 T-DM1을 1회 받았고, T-DM1 투약 후 3일째, 주 5일로 2.5 mg/kg 포지오티닙을 시작하였다. 마우스의 체중이 10% 초과만큼 감소하거나, 또는 체중이 20 g 미만으로 감소하였다면, 마우스는 투여로부터 휴약기를 얻었다. 우수 동물물 관리 제도(Good Animal Practices)와 동의하에 및 MD 앤더슨 캔서 센터 기관 동물 관리 및 사용 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee: 미국 텍사스주 휴스턴)의 승인을 받아 실험을 완료하였다.

[0128] **FACS**: HER2 돌연변이를 과다발현하는 MCF10A 세포를 6-웰 플레이트에서 밤새도록 플레이팅한 후, 10 nM 포지오티닙으로 처리하였다. 24시간 후, 세포를 PBS로 2회 세척하고, 트립신으로 처리하였다. 이어서, 세포를 PBS 중 0.5% FBS에 재현탁시키고, 얼음 상에서 45분 동안 바이오레전드로부터의 항-HER2-FITC 항체 (#324404)로 염색하였다. 세포를 PBS 중 0.5% FBS로 2회에 걸쳐 세척하고, 유세포분석법으로 분석하였다. 게이팅을 위해 IgG 및 비염색 대조군을 사용하였다.

[0129] **웨스턴 블롯팅**: 웨스턴 블롯팅을 위해, 세포를 PBS 중에서 세척하고, RIPPA 용해 완충제 (써모피셔(ThermoFisher)) 및 프로테아제 억제제 칵테일 정제 (로슈(Roche))에서 용해시켰다. 단백질 (30-40 ㎍)을 바이오래드로부터 구입한 겔에 로딩하였다. 바이오래드의 반건조 전달을 이용한 후, pHER2, HER2, pPI3K, PI3K, p-AKT, AKT, p-ERK1/2, 및 ERK1/2 (1:1000; 셀 시그널링)에 대한 항체로 프로빙하였다. 블롯을 로딩 대조군으로서 빈쿨린 또는 β-액틴 (시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)에 대한 항체로 프로빙하고, ECL 웨스턴 블롯팅 기질 (프로메가)을 이용하여 노출시켰다.

[0130] **HER2 발현 수준 및 Ba/F3 돌연변이체 IC50과의 상관관계**: Ba/F 세포주로부터 단백질을 수거하고, 제조사의 설명

에 기술된 바와 같이, 전체 HER2 (셀 시그널링, #7310)에 대해 ELISA를 수행하였다. ELISA에 의해 측정된 상대적인 발현을 상기 기술된 바와 같이 산출된 IC50 값에 대해 플롯팅하였다. 피어슨 상관관계 및 p-값은 그래프패드 프리즘에 의해 결정되었다.

[0131] **임상 시험 및 CIND 식별자**: 동정적 사용 프로토콜 (MD 앤더슨 캔서 센터 CIND-18-0014) 또는 임상 시험 NCT03066206에서 환자는 포지오티닙을 이용하는 처리에 대한 사전 동의서를 제공하였다. 프로토콜은 MD 앤더슨 캔서 센터 임상 시험 심사 위원회 및 미국 식품의약국(Food and Drug Administration), 둘 모두의 승인을 받은 것이다.

[0132] * * *

[0133] 본원에서 개시되고, 주장된 모든 방법은 본 개시내용에 비추어 과도한 실험 없이 실시 및 수행될 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법이 바람직한 실시양태의 측면에서 기재되었지만, 본 발명의 개념, 정신 및 범주를 벗어나지 않으면서, 본원에 기술된 방법의 방법 및 단계 또는 단계의 순서에 변형이 적용될 수 있다는 것이 당업자에 명백할 것이다. 더욱 구체적으로, 화학 및 생리학 두 분야 모두에 관련된 특정 작용제는 본원에 기술된 작용제로 대체될 수 있으며, 동일하거나 유사한 결과가 달성될 수 있다는 것이 명백할 것이다. 당업자에 명백한 이러한 모든 유사한 치환 및 변형은 첨부된 청구범위에 의해 정의된 본 발명의 정신, 범주 및 개념 내에 있는 것으로 간주된다.

[0134] **참고문헌**

[0135] 하기 참고문헌은 본원에 기술된 것들에 보충적인 예시적인 절차 또는 다른 세부 사항을 제공하는 정도로 본원에서 구체적으로 참조로 포함된다.

Aertgeerts et al., J Biol Chem 2011;286:18756-65.

Arcila *et al., Clin Cancer Res* 18:4910-8, 2012.

Arcila *et al*., *Mol Cancer Ther* 12(2):220-229, 2013.

Austin-Ward and Villaseca, *Revista Medica de Chile*, 126(7):838-845, 1998.

Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York,

NY, 2003.

Bose et al., Cancer Discov 2013;3:224-37.

Bukowski *et al.*, *Clinical Cancer Res*., 4(10):2337-2347, 1998.

Camacho *et al. J Clin Oncology* 22(145): Abstract No. 2505 (antibody CP-675206), 2004.

Cha *et al. Int J Cancer* 130:2445-54, 2012.

Chee *et al*., *Science,* 274:610-614, 1996.

Cho *et al., Cancer Res* 73:6770-9, 2013.

Christodoulides *et al*., *Microbiology*, 144(Pt 11):3027-3037, 1998.

Church and Gilbert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:1991-1995 (1988).

Cotton *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:4397-4401 (1985).

Davidson *et al., J. Immunother*., 21(5):389-398, 1998.

Davies *et al., Plos One* 8, *2013.*

Del Tito *et al*., *Clinical Chemistry* 44:731-739, 1998.

Drmanac *et al*., *Nat. Biotechnol.,* 16:54-58, 1998.

Drmanac *et al*., *Science,* 260:1649-1652, 1993.

Flavell *et al.*, *Cell* 15:25 (1978).

Fu *et al*., *Nat. Biotechnol.,* 16:381-384, 1998/

Geever *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:5081 (1981).

Greulich et al., Proc Natl Acad Sci U S A 2012;109:14476-81.

Hainsworth et al., J Clin Oncol 2018;36:536-42.

Hanibuchi *et al.*, *Int. J. Cancer*, 78(4):480-485, 1998.

Hellstrand *et al., Acta Oncologica*, 37(4):347-353, 1998.

Hollander, *Front. Immun.*, 3:3, 2012.

[0136]

Hong *et al., J Biol Chem* 282:19781-7, 2007.

Hui and Hashimoto, *Infection Immun.,* 66(11):5329-5336, 1998.

Hurwitz *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 95(17): 10067-10071, 1998.

Hyman et al., Nature 2018;554:189-94.

국제 특허 공개 번호 WO 99/57318

국제 특허 공개 번호 WO1995001994

국제 특허 공개 번호 WO1998042752

국제 특허 공개 번호 WO2000037504

국제 특허 공개 번호 WO2001014424

국제 특허 공개 번호 WO2009/101611

국제 특허 공개 번호 WO2009/114335

국제 특허 공개 번호 WO2010/027827

국제 특허 공개 번호 WO2011/066342

국제 특허 공개 번호 WO2015016718

국제 특허 공개 번호 WO 00/37504

국제 특허 공개 번호 WO01/14424

국제 특허 공개 번호 WO98/42752

Kosaka et al., Cancer Res 2017.

Kosaka *et al., Cancer Res* 2017.

Kris et al., Ann Oncol 2015;26:1421-7.

Leal, M., *Ann N Y Acad Sci* 1321, 41-54, 2014.

Li et al., J Clin Oncol 2018;36:2532-7.

Lynch *et al*., *N Engl J Med.* 350(21):2129-2139, 2004.

Maemondo *et al., N Engl J Med* 362:2380-8, 2010.

Mazieres et al., J Clin Oncol 2015;33.

Mitsudomi and Yatabe, *Cancer Sci.* 98(12):1817-1824, 2007.

Mokyr *et al. Cancer Res* 58:5301-5304, 1998.

Nagano et al., Clin Cancer Res 2018.

Oxnard *et al*., *J Thorac Oncol.* 8(2):179-184, 2013.

Paez *et al*., *Science* 304(5676):1497-1500, 2004.

Pao *et al*., *Proc Natl Acad Sci USA* 101(36):13306-13311, 2004.

Pardoll, *Nat Rev Cancer,* 12(4): 252-64, 2012.

Perera *et al., Proc Natl Acad Sci U S A* 106:474-9, 2009.

Phillips et al., J Comput Chem 2005;26:1781-802.

[0137]

Qin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(24):14411-14416, 1998.

Raca *et al.*, *Genet Test* 8(4):387-94 (2004).

Robichaux et al., Nat Med 2018;24:638-46.

Sanger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:5463-5467 (1977).

Sears *et al., Biotechniques,* 13:626-633, 1992.

Sheffield *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:232-236 (1989).

Shen *et al., J Recept Signal Transduct Res* 36:89-97, 2016.

Thress *et al., Nat Med* 21:560-2, 2015.

미국 특허 번호 4,870,287

미국 특허 번호 5,288,644

미국 특허 번호 5,739,169

미국 특허 번호 5,760,395

미국 특허 번호 5,801,005

미국 특허 번호 5,824,311

미국 특허 번호 5,830,880

미국 특허 번호 5,844,905

미국 특허 번호 5,846,945

미국 특허 번호 5,869,245

미국 특허 번호 5,885,796

미국 특허 번호 6,207,156

미국 특허 번호 8,008,449

미국 특허 번호 8,017,114

미국 특허 번호 8,119,129

미국 특허 번호 8,188,102

미국 특허 번호 8,329,867

미국 특허 번호 8,354,509

미국 특허 번호 8,735,553

미국 특허 공개 번호 2004/0014095

미국 특허 공개 번호 2005/0260186

미국 특허 공개 번호 2006/0104968

미국 특허 공개 번호 20110008369

미국 특허 공개 번호 20130071452

미국 특허 공개 번호 2014022021

미국 특허 공개 번호 20140294898

[0138]

Underhill *et al.*, *Genome Res.* 7:996-1005 (1997).

Yang *et al., Int J Cancer* 2016.

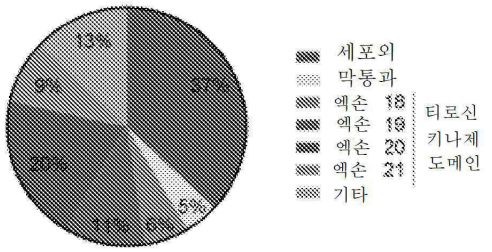
Yasuda *et al*., *Sci Transl Med* 5(216):216ra177, 2013.

Zimmerman *et al*., *Methods Mol. Cell. Biol.,* 3:39-42, 1992.

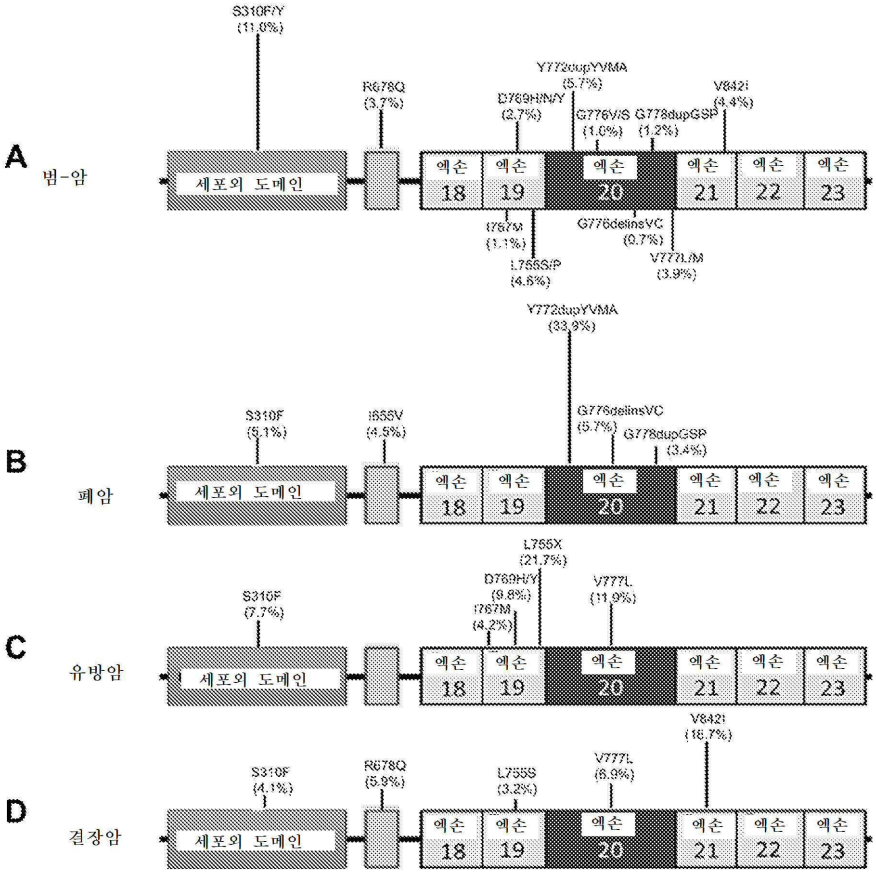
[0139]

도면

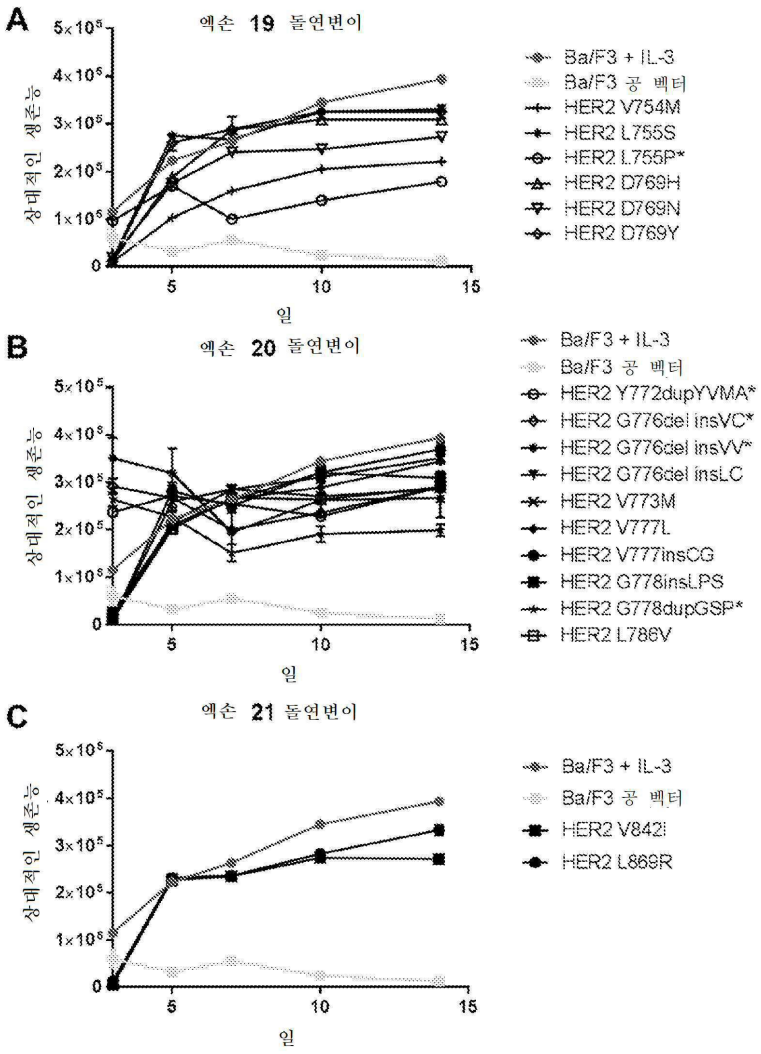
도면1


13%
9%
37%
20%
5%
11%
6%
세포외
막통과
엑손 18
엑손 19
엑손 20
엑손 21
기타
티로신
키나제
도메인

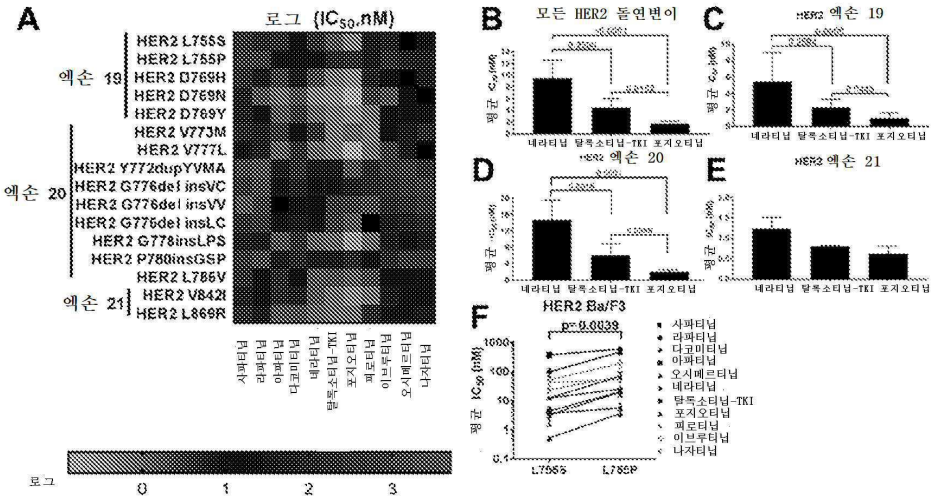
도면2


A
범-암
B
폐암
C
유방암
D
결장암
세포외 도메인
엑손 18
엑손 19
엑손 20
엑손 21
엑손 22
엑손 23
S310F/Y (11.0%)
R678Q (3.7%)
Y772dupYVMA (5.7%)
D769H/N/Y (2.7%)
G776V/S (1.6%)
G778dupGSP (1.2%)
V842I (3.4%)
I767M (1.1%)
L755S/P (4.6%)
G776delinsVC (0.7%)
V777L/M (3.9%)
Y772dupYVMA (33.9%)
S310F (5.1%)
I655V (4.5%)
G776delinsVC (5.7%)
G778dupGSP (3.4%)
L755X (21.7%)
D769H/Y (9.8%)
I767M (4.2%)
V777L (11.9%)
S310F (7.7%)
V842I (16.7%)
S310F (4.1%)
R678Q (5.9%)
L755S (3.2%)
V777L (6.9%)

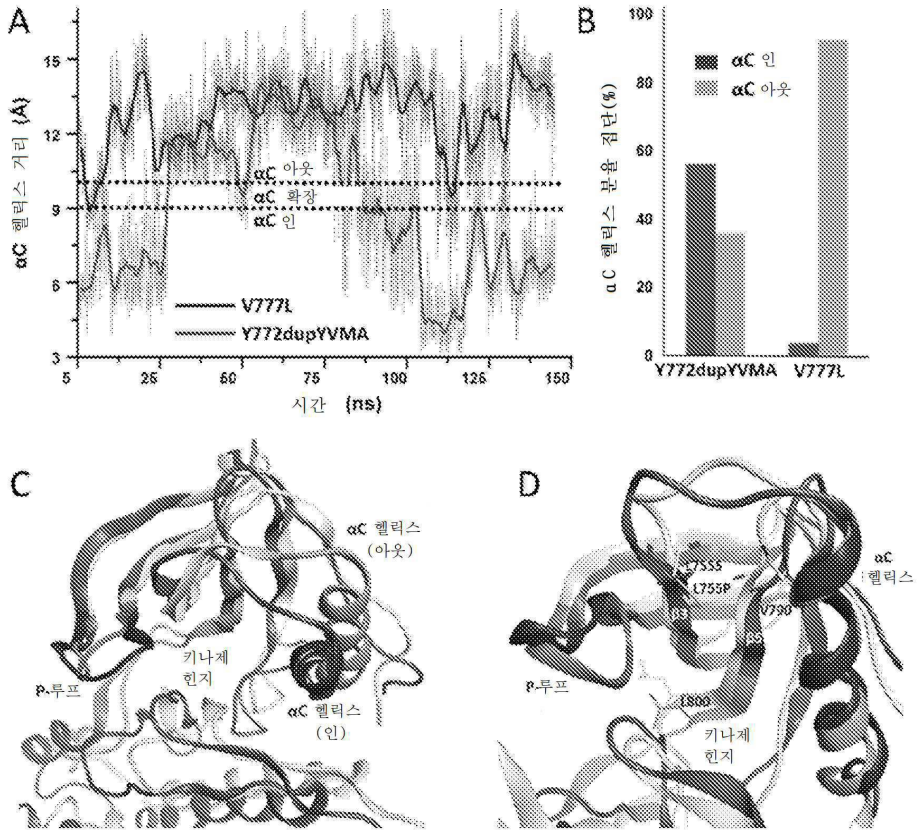
도면3


A
엑손 19 돌연변이
상대적인 생존능
일
Ba/F3 + IL-3
Ba/F3 공 벡터
HER2 V754M
HER2 L755S
HER2 L755P*
HER2 D769H
HER2 D769N
HER2 D769Y
B
엑손 20 돌연변이
상대적인 생존능
일
Ba/F3 + IL-3
Ba/F3 공 벡터
HER2 Y772dupYVMA*
HER2 G776del insVC*
HER2 G776del insVV*
HER2 G776del insLC
HER2 V773M
HER2 V777L
HER2 V777insCG
HER2 G778insLPS
HER2 G778dupGSP*
HER2 L786V
C
엑손 21 돌연변이
상대적인 생존능
일
Ba/F3 + IL-3
Ba/F3 공 벡터
HER2 V842I
HER2 L869R

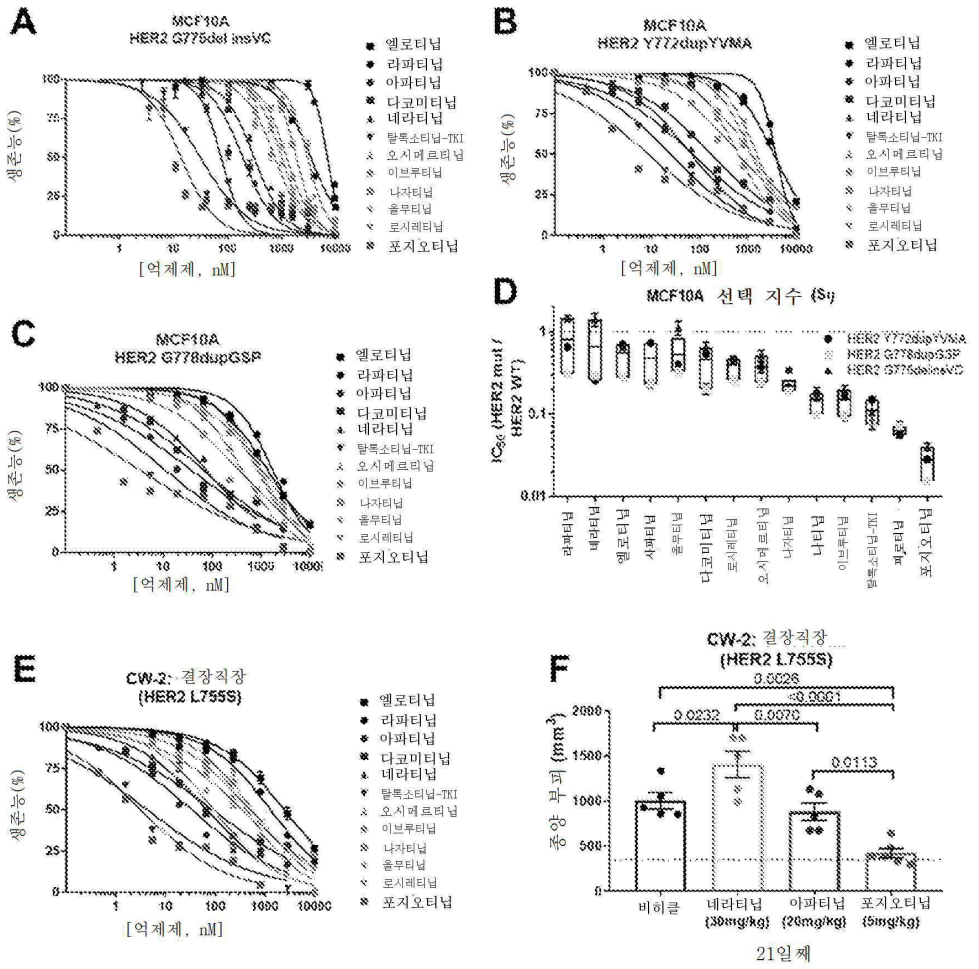
도면4


A
로그 (IC50,nM)
엑손 19
HER2 L755S
HER2 L755P
HER2 D769H
HER2 D769N
HER2 D769Y
HER2 V773M
HER2 V777L
엑손 20
HER2 Y772dupYVMA
HER2 G776del insVC
HER2 G776del insVV
HER2 G776del insLC
HER2 G778insLPS
HER2 P780insGSP
HER2 L786V
엑손 21
HER2 V842I
HER2 L869R
네라티닙
탈록소티닙-TKI
포지오티닙
펠로티닙
이브루티닙
나자티닙
로그
0
1
2
3
B
모든 HER2 돌연변이
C
HER2 엑손 19
D
HER2 엑손 20
E
HER2 엑손 21
평균 IC50 (nM)
네라티닙 탈록소티닙-TKI 포지오티닙
F
HER2 Ba/F3
p= 0.0039
사파티닙
라파티닙
다코미티닙
아파티닙
오시메르티닙
네라티닙
탈록소티닙-TKI
포지오티닙
펠로티닙
이브루티닙
나자티닙
L755S
L755P

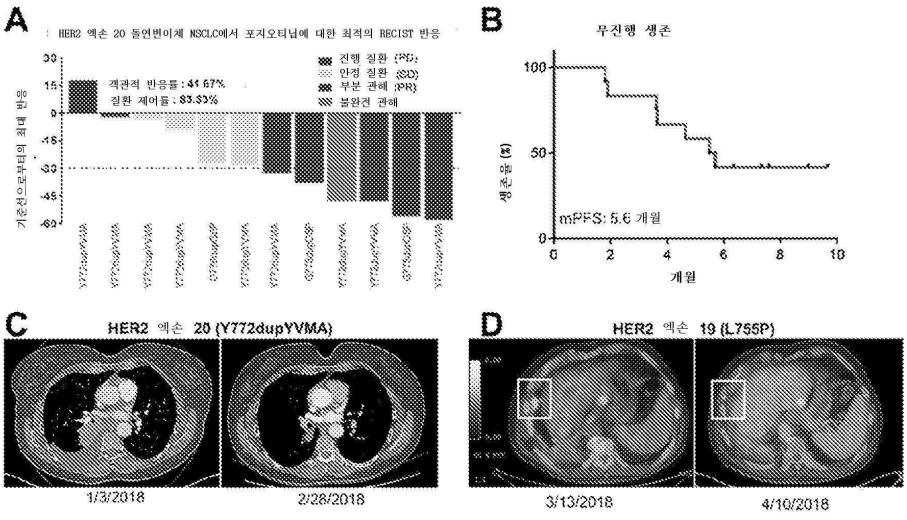
도면5


A
αC 헬릭스 거리 (Å)
αC 아웃
αC 확장
αC 인
V777L
Y772dupYVMA
시간 (ns)
B
αC 헬릭스 분율 집단(%)
αC 인
αC 아웃
Y772dupYVMA
V777L
C
αC 헬릭스
(아웃)
키나제
힌지
β-투프
αC 헬릭스
(인)
D
αC
헬릭스
L755S
L755P
V790
β-투프
L800
키나제
힌지

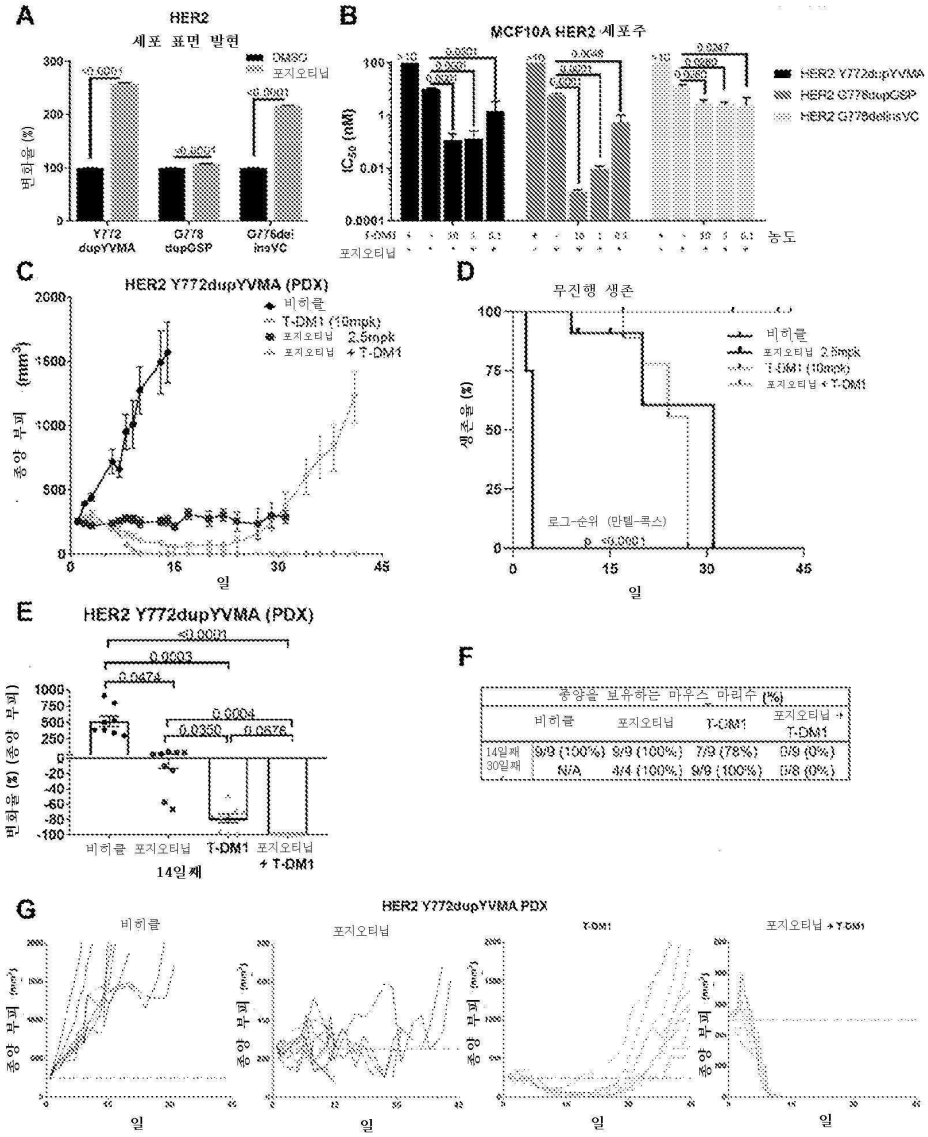
도면6


A
MCF10A
HER2 G776del insVC
B
MCF10A
HER2 Y772dupYVMA
C
MCF10A
HER2 G778dupGSP
D
MCF10A 선택 지수 (Si)
E
CW-2: 결장직장
(HER2 L755S)
F
CW-2: 결장직장
(HER2 L755S)
생존능(%)
[억제제, nM]
엘로티닙
라파티닙
아파티닙
다코미티닙
네라티닙
탈록소티닙-TKI
오시메르티닙
이브루티닙
나자티닙
올무티닙
로시레티닙
포지오티닙
종양 부피 (mm³)
비히클
네라티닙 (30mg/kg)
아파티닙 (20mg/kg)
포지오티닙 (5mg/kg)
21일째

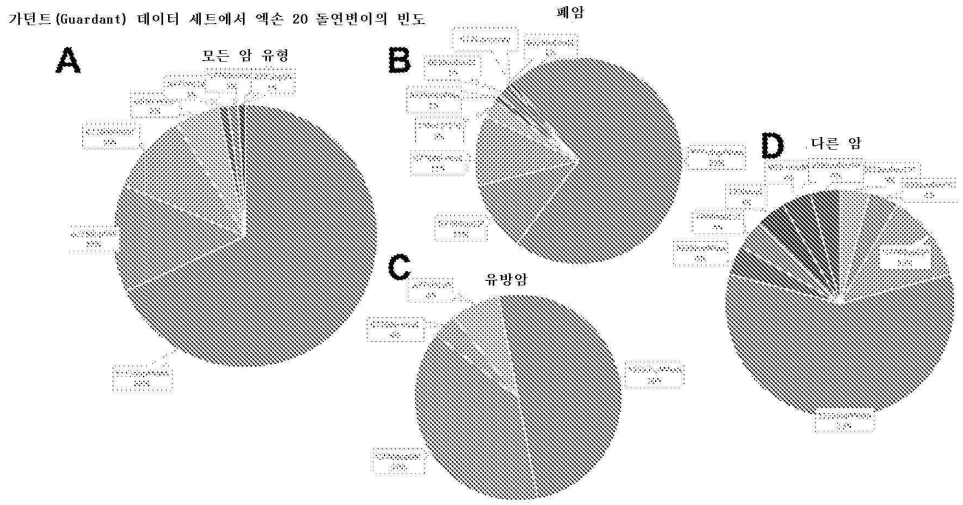
도면7


A
HER2 엑손 20 돌연변이제 NSCLC에서 포지오티닙에 대한 최적의 RECIST 반응
객관적 반응률 : 41.67%
질환 제어율 : 83.33%
진행 질환 (PD)
안정 질환 (SD)
부분 관해 (PR)
불완전 관해
기준선으로부터의 최대 반응
B
무진행 생존
생존율 (%)
mPFS: 5.6 개월
개월
C
HER2 엑손 20 (Y772dupYVMA)
1/3/2018
2/28/2018
D
HER2 엑손 19 (L755P)
3/13/2018
4/10/2018

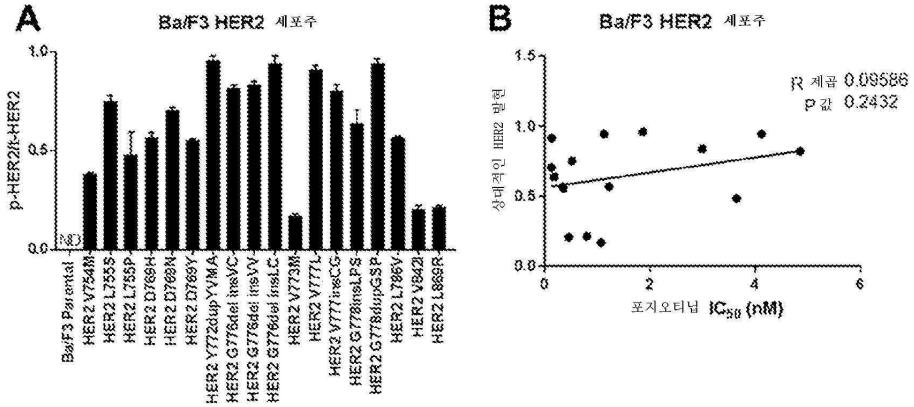
도면8


A
HER2
세포 표면 발현
DMSO
포지오티닙
변화율 (%)
Y772 dupYVMA
G778 dupGSP
G778del insYC
B
MCF10A HER2 세포주
HER2 Y772dupYVMA
HER2 G778dupGSP
HER2 G778delinsYC
농도
C
HER2 Y772dupYVMA (PDX)
비히클
T-DM1 (15mpk)
포지오티닙 2.5mpk
포지오티닙 + T-DM1
종양 부피 (mm3)
일
D
무진행 생존
비히클
포지오티닙 2.5mpk
T-DM1 (10mpk)
포지오티닙 + T-DM1
생존율 (%)
로그-순위 (만텔-콕스)
일
E
HER2 Y772dupYVMA (PDX)
변화율 (%) (종양 부피)
비히클
포지오티닙
T-DM1
포지오티닙 + T-DM1
14일째
F
종양을 보유하는 마우스 마리수 (%)
비히클
포지오티닙
T-DM1
포지오티닙 + T-DM1
14일째 9/9 (100%) 9/9 (100%) 7/9 (78%) 0/9 (0%)
30일째 N/A 4/4 (100%) 9/9 (100%) 0/8 (0%)
G
HER2 Y772dupYVMA PDX
비히클
포지오티닙
T-DM1
포지오티닙 + T-DM1
종양 부피
일

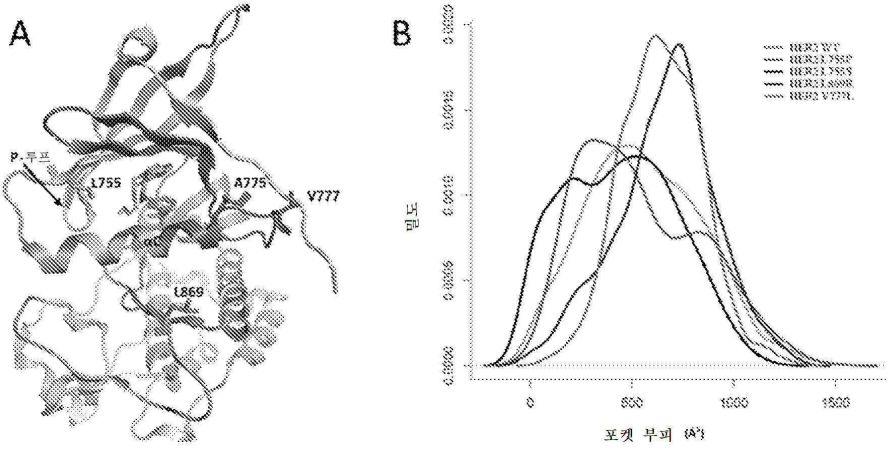
도면9



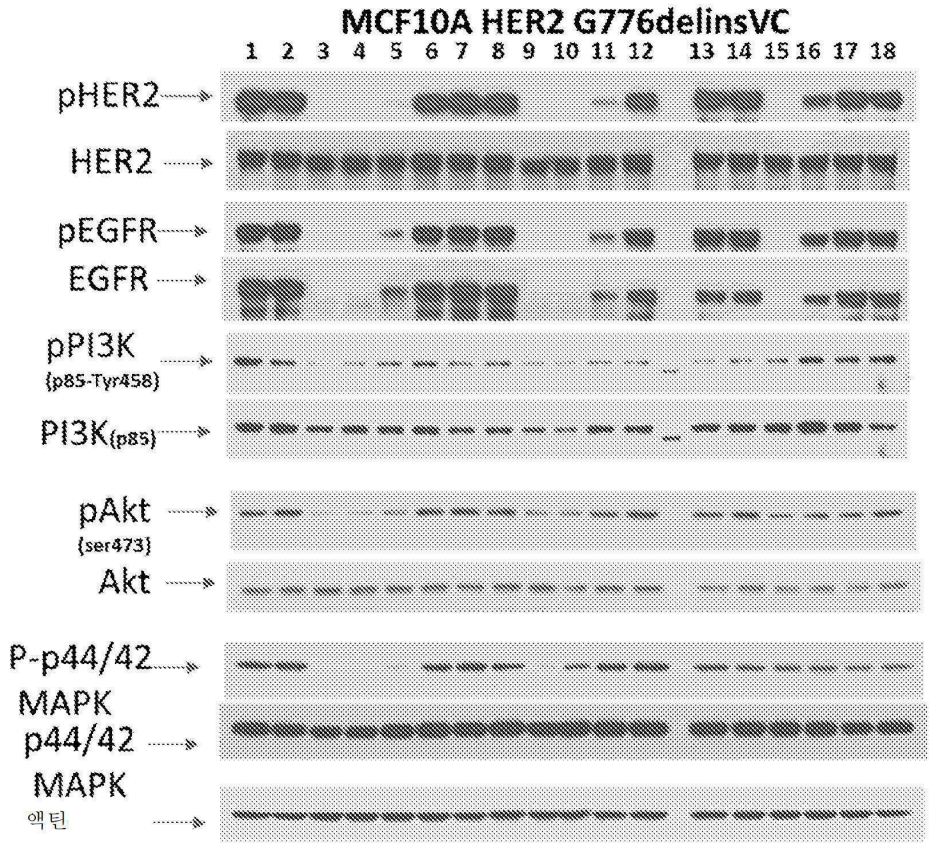
도면10



도면11



도면12

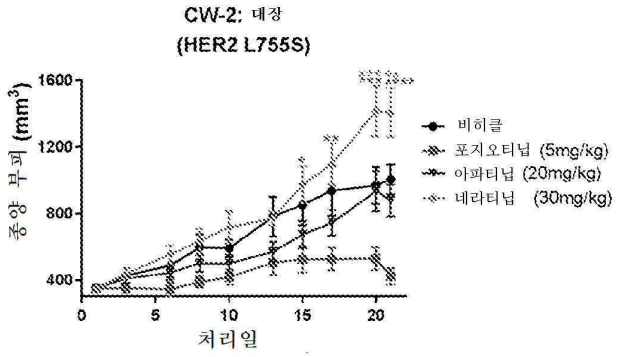


#1-6: No, DMSO, 1000, 100, 10, and 1 nM 포지오티닙

7-12: No, DMSO, 1000, 100, 10, and 1 nM 네라티닙

13-18: No, DMSO, 1000, 100, 10, and 1 nM 라파티닙

도면13



터키 다중 비교 검정	요약	조정된 P 값
10일째		
비히클 대 포지오티닙 (5mg/kg)	ns	0.3888
비히클 대 아파티닙(20mg/kg)	ns	0.8492
비히클 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.6826
포지오티닙 (5mg/kg)대아파티닙(20mg/kg)	ns	0.8809
포지오티닙 (5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	*	0.0333
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.2222
13일째		
비히클 대 포지오티닙 (5mg/kg)	ns	0.057
비히클 대 아파티닙(20mg/kg)	ns	0.2563
비히클 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.9996
포지오티닙 (5mg/kg)대아파티닙(20mg/kg)	ns	0.9286
포지오티닙 (5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.0737
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.3041
15일째		
비히클 대 포지오티닙 (5mg/kg)	*	0.0152
비히클 대 아파티닙(20mg/kg)	ns	0.391
비히클 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.7201
포지오티닙 (5mg/kg)대아파티닙(20mg/kg)	ns	0.5209
포지오티닙 (5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	***	0.0003
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	*	0.0452
17일째		
비히클 대 포지오티닙 (5mg/kg)	**	0.0012
비히클 대 아파티닙(20mg/kg)	ns	0.3219
비히클 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.5028
포지오티닙 (5mg/kg)대아파티닙(20mg/kg)	ns	0.193
포지오티닙 (5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	*	0.0118
20일째		
비히클 대 포지오티닙 (5mg/kg)	***	0.0005
비히클 대 아파티닙(20mg/kg)	ns	0.9896
비히클 대 네라티닙 (30mg/kg)	***	0.0007
포지오티닙 (5mg/kg)대아파티닙(20mg/kg)	**	0.0015
포지오티닙 (5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	***	0.0002
21일째		
비히클 대 포지오티닙 (5mg/kg)	****	<0.0001
비히클 대 아파티닙(20mg/kg)	ns	0.6886
비히클 대 네라티닙 (30mg/kg)	**	0.0029
포지오티닙 (5mg/kg)대아파티닙(20mg/kg)	***	0.0003
포지오티닙 (5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BOARD OF REGENTS, THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM

<120> COMBINATION THERAPY FOR THE TREATMENT OF CANCER

<130> IPA210831-US

<140> PCT/US2019/068153

<141> 2019-12-20

<150> US 62/784,084

<151> 2018-12-21

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligonucleotide

<400> 1

tatgtcatgg ct 12