



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0145161
(43) 공개일자 2021년12월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/517 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)

(52) CPC특허분류
A61K 31/517 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2021-7032121
(22) 출원일자(국제) 2020년03월27일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2021년10월06일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/025478
(87) 국제공개번호 WO 2020/205632
국제공개일자 2020년10월08일

(30) 우선권주장
62/826,758 2019년03월29일 미국(US)

(71) 출원인
더 보드 오브 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 텍
사스 시스템
미국, 텍사스 78701, 오스틴, 210 웨스트 7 스트
리트

(72) 발명자
로비쇼 재클린
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤
블러바드, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디
앤더슨 캔서 센터
헤이마치 존 브이.
미국, 텍사스 77030, 휴스턴, 1515 홀콤
블러바드, 씨/오 더 유니버시티 오브 텍사스 엠디
앤더슨 캔서 센터

(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 59 항

(54) 발명의 명칭 **HER2 엑손 21 삽입물을 갖는 암 세포에 대한 항종양 활성을 갖는 화합물**

(57) 요약

본 개시는, 포지오티닙 등의 제3 세대 티로신 키나제 억제제를 투여함으로써 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

C12Q 1/6886 (2018.05)

C12Q 2600/106 (2013.01)

C12Q 2600/118 (2013.01)

C12Q 2600/156 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

유효량의 포지오티닙(poziotinib)을 대상체(subject)에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 대상체는 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되는, 암을 치료하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 포지오티닙이 포지오티닙 하이드로클로라이드 염(hydrochloride salt)으로서 추가로 정의되는, 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 포지오티닙 하이드로클로라이드 염이 정제로서 제형화되는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 아미노산 832 내지 883 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 점 돌연변이(point mutation), 삽입 및/또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 2, 3 또는 4개의 HER 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 이전에 티로신 키나제 억제제(tyrosine kinase inhibitor)를 투여받은, 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 대상체가 이전에 투여된 티로신 키나제 억제제에 내성이 있는, 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 티로신 키나제 억제제가 라파티닙(lapatinib), 아파티닙(afatinib), 다코미티닙(dacomitinib), 오시메르티닙(osimertinib), 이브루티닙(ibrutinib), 나자르티닙(nazartinib) 또는 베라티닙(beratinib)인, 방법.

청구항 9

제4항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 V842, R868 및 L869로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 존재하는, 방법.

청구항 10

제4항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 잔기 V842 및/또는 R868에 존재하는, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 잔기 C797에서 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정되는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 V842I, R868W 및 L869R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 V842I 및/또는 R868W인, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 환자로부터 게놈 샘플(genomic sample)을 분석함으로써 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되는, 방법.

청구항 15

제15항에 있어서, 상기 게놈 샘플이 타액, 혈액, 소변, 정상 조직, 또는 종양 조직으로부터 단리되는, 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, HER2 엑손 21 돌연변이의 존재가 핵산 서열분석 또는 PCR 분석에 의해 결정되는, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 경구 투여되는, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 5 내지 25mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 8mg, 12mg, 또는 16mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 매일 투여되는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 연속 기준으로 투여되는, 방법.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 28일 주기로 투여되는, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 추가의 항암 요법을 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 추가의 항암 요법이 화학요법, 방사선요법, 유전자 요법, 수술, 호르몬 요법, 항-혈관신생 요법(anti-angiogenic therapy) 또는 면역요법인, 방법.

청구항 25

제23항 또는 제24항에 있어서, 상기 포지오티닙 및/또는 항암 요법이 정맥내로, 피하로, 골내로 (intraosseously), 경구로, 경피로, 지속 방출로, 조절 방출로, 지연 방출로, 좌제로서, 또는 설하로 투여되는, 방법.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙 및/또는 항암 요법의 투여가 국소, 국지 또는 전

신 투어를 포함하는, 방법.

청구항 27

제23항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙 및/또는 항암 요법이 2회 이상 투여되는, 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 구강암(oral cancer), 구강인두암(oropharyngeal cancer), 비인두암(nasopharyngeal cancer), 호흡기암(respiratory cancer), 비뇨생식기암(urogenital cancer), 위장암(gastrointestinal cancer), 중추 또는 말초 신경계 조직암(central or peripheral nervous system tissue cancer), 내분비 또는 신경내분비암 또는 조혈암(an endocrine or neuroendocrine cancer or hematopoietic cancer), 신경교종(glioma), 육종(sarcoma), 암종(carcinoma), 림프종(lymphoma), 흑색종(melanoma), 섬유종(fibroma), 수막종(meningioma), 뇌암(brain cancer), 구강인두암(oropharyngeal cancer), 비인두암(nasopharyngeal cancer), 신장암(renal cancer), 담관암(biliary cancer), 크롬친화세포종(pheochromocytoma), 췌도세포암(pancreatic islet cell cancer), 리-프라우메니 종양(Li-Fraumeni tumors), 갑상선암(thyroid cancer), 부갑상선암(parathyroid cancer), 뇌하수체 종양(pituitary tumors), 부신선 종양(adrenal gland tumors), 골형성 육종 종양(osteogenic sarcoma tumors), 다발성 신경내분비 I형 및 II형 종양(multiple neuroendocrine type I and type II tumors), 유방암(breast cancer), 폐암(lung cancer), 두경부암(head and neck cancer), 전립선암(prostate cancer), 식도암(esophageal cancer), 기관지암(tracheal cancer), 간암(liver cancer), 방광암(bladder cancer), 위암(stomach cancer), 췌장암(pancreatic cancer), 난소암(ovarian cancer), 자궁암(uterine cancer), 자궁경부암(cervical cancer), 고환암(testicular cancer), 결장암(colon cancer), 직장암(rectal cancer) 또는 피부암(skin cancer)인, 방법.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 암이 비-소세포 폐암(non-small cell lung cancer)인, 방법.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자가 인간인, 방법.

청구항 31

하나 이상의 HER 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에서 사용하기 위한, 포지오티닙을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 조성물이 경구 조성물로 추가로 정의되는, 약제학적 조성물.

청구항 33

제31항 또는 제32항에 있어서, 상기 조성물이 5 내지 25mg의 포지오티닙을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 34

제31항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 8mg, 12mg, 또는 16mg의 포지오티닙을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 35

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 포지오티닙 하이드로클로라이드 염으로서 추가로 정의되는, 약제학적 조성물.

청구항 36

제31항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 정제로 제형화되는, 약제학적 조성물.

청구항 37

제31항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 아미노산 832 내지 883 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 38

제31항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 2, 3 또는 4개 HER 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되는, 약제학적 조성물.

청구항 39

제37항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 V842, R868 및 L869로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 존재하는, 약제학적 조성물.

청구항 40

제37항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 잔기 V842 및/또는 R868에 존재하는, 약제학적 조성물.

청구항 41

제31항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 잔기 C797에서 EGFR 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정되는, 약제학적 조성물.

청구항 42

제31항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 V842I, R868W 및 L869R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 43

제31항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 엑손 21 돌연변이가 V842I 및/또는 R868W인, 방법.

청구항 44

제31항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체가 항암 요법으로 치료되고 있는, 조성물.

청구항 45

암을 갖는 대상체에서 포지오티닙 단독 또는 제2 항암 요법과의 조합에 대한 반응을 예측하는 방법으로서,

상기 환자로부터 취득된 게놈 샘플에서 HER2 엑손 21 돌연변이를 검출하는 것을 포함하고,

상기 샘플이 HER2 엑손 21 돌연변이의 존재에 대해 양성인 경우, 상기 환자는, 포지오티닙 단독 또는 항암 요법과의 조합에 대해 양호한 반응을 지니는 것으로 예측되는, 방법.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 HER 엑손 21 돌연변이가 엑손 20 삽입 돌연변이로서 추가로 정의되는, 방법.

청구항 47

제45항 또는 제46항에 있어서, 상기 게놈 샘플이 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리되는, 방법.

청구항 48

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, HER 엑손 21 돌연변이의 존재가 핵산 서열분석(nucleic acid sequencing) 또는 PCR 분석에 의해 결정되는, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 상기 HER2 엑손 21 돌연변이가 아미노산 832 내지 883 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함하는, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 HER2 엑손 21 돌연변이가 V842, R868 및 L869로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 존재하는, 방법.

청구항 51

제49항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 잔기 V842 및/또는 R868에 존재하는, 방법.

청구항 52

제45항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이가 V842I, R868W 및 L869R로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 방법.

청구항 53

제45항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 포지오티닙 단독 또는 항암 요법과의 조합에 대한 양호한 반응이 종양 크기 또는 부하(burden)의 감소, 종양 성장의 차단, 종양 관련 통증의 감소, 암 관련 병리(pathology)의 감소, 암 관련 증상의 감소, 암 비-진행(cancer non-progression), 무병 기간의 증가(increased disease free interval), 진행까지의 시간의 증가, 관해의 유도(induction of remission), 전이의 감소, 또는 환자 생존율의 증가를 포함하는, 방법.

청구항 54

제45항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 포지오티닙을 단독으로 또는 제2 항-암 요법과 조합하여 양호한 반응을 갖는 것으로 예측되는 상기 환자에게 투여하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 포지오티닙이 경구 투여되는, 방법.

청구항 56

제54항 또는 제55항에 있어서, 상기 포지오티닙이 5 내지 25mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 57

제54항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 8mg, 12mg, 또는 16mg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 58

제54항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙이 포지오티닙 하이드로클로라이드 염으로서 추가로 정의되는, 방법.

청구항 59

제54항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 포지오티닙 하이드로클로라이드 염이 정제로 제형화되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

본 출원은 2019년 3월 29일자로 출원된 미국 가특허출원 제62/826,758호의 이익을 주장하고, 그 전체가 참조에 의해 본원에 도입된다.

[0001]

[0002] 배경

[0003] 본 발명은, 국립 위생 연구소에 의해 수여된 조성금 번호 CA190628하의 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에서 일정의 권리를 갖는다

[0004] 1. 분야

[0005] 본 발명은 일반적으로 분자 생물학 및 의학의 분야에 관한 것이다. 보다 구체적으로, HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0006] 2. 관련 기술의 설명

[0007] 인간 상피 성장 인자 수용체 2(HER2) 증폭으로서도 공지되어 있는 Erb-b2 수용체 티로신 키나제 2(ERBB2)는 다수 종류의 암에서 발생하고, 트라스투주맙(trastuzumab), 페르투주맙(pertuzumab), 트라스투주맙 엠탄신(trastuzumab emtansine)(T-DM1), 라파티닙(lapatinib) 및 네라티닙(neratinib) 등의 표적 약제에는 화학요법 단독과 비교하여 임상적 결과를 개선시키는 것으로 밝혀졌다[참조: Vogel et al., 2002]. ERBB2(HER2)의 활성화 돌연변이는 다수 종류의 암에서 보고되었다[참조: Kris et al., 2015]. FDA-승인된 HER2 증폭을 갖는 암에 대한 표적 요법은 존재하지만, 특히 HER2 돌연변이에 대한 승인된 표적 요법은 없다. 그러나, 전미 종합 암 네트워크의 비소세포 폐암(NSCLC) 가이드라인은, HER2 돌연변이를 검출하기 위해, 새롭게 진단된 환자를 광범위한 분자 프로파일링으로 검사하는 것을 권장한다[참조: Ettinger et al., 2018].

[0008] HER2 돌연변이 암의 표적 약제에 관한 최근의 임상 연구는 아파티닙(afatinib), 네라티닙(neratinib) 및 다코미티닙(dacomitinib) 등의 제2 세대 티로신 키나제 억제제(tyrosine kinase inhibitor)(TKI)에 초점을 맞추고 있다. SUMMIT의 범-암 연구는 네라티닙을 투여받은 환자의 객관적 반응 속도(ORR)은 모든 HER2 돌연변이에서 15% 미만인 것으로 보고했다[참조: Hyman et al., 2018]. 그러나, 복수의 연구에 걸쳐, 환자가 암의 종류에 의해 층별화된 경우, 유방암 환자는 단일 약제 네라티닙에 대해 12.5% 내지 32%의 ORR을 나타낸 반면[참조: Hyman et al., 2018; Ma et al., 2017]; 폐암 환자는 단일 약제로서 네라티닙에 대해 0% 내지 4%의 ORR을 나타내고[참조: Hyman et al., 2018; Mazieres et al., 2015], 이는 HER2 억제의 효능에서 암-특이적 차이를 입증한다. 흥미롭게도, 단일 암 종류의 중에서, HER2 표적 약제는 변이체-특이적 차이를 유발하는 것처럼 보인다. SUMMIT 시험에서, HER2 키나제 도메인 점 돌연변이(point mutation)를 갖는 환자의 ORR은 21.4%이지만, 엑손 20이 삽입된 환자의 ORR은 네라티닙에 대해 7.1%였다[참조: Hyman et al., 2018]. 또한, 다코미티닙의 HER2 돌연변이 NSCLC에 대한 ORR은 11.5%였지만, HER2 엑손 20이 삽입된 돌연변이를 갖는 환자, p.Y772dupYVMA[참조: Kris et al., 2015] 및 아파티닙의 2개 별개 연구에서, 엑손 20 삽입 양성 NSCLC를 갖는 환자의 아파티닙에 대한 반응 속도는 18.2%였다.

[0009] HER2 모노클로날 항체 및 약물-항체 접합체의 연구에 의해 유사한 결과가 밝혀졌다. 범-암 연구 MyPathway는 35개의 상이한 종양 유형에서 항-HER2 모노클로날 항체 트라스투주맙 및 페르투주맙의 조합의 효과를 시험하고, 모든 HER2 돌연변이 및 암 유형에서 11%의 ORR을 보고했다. 이 연구에서, 포함된 35 종류의 종양 중, NSCLC 환자의 21%와 담관암 환자 1명만이 반응했다. 또한, T-DM1의 효능을 시험하는 범-HER2 돌연변이 NSCLC 연구에서, 엑손 20 삽입 돌연변이를 갖는 환자의 ORR은 54.5%였지만, 엑손 19 돌연변이를 갖는 환자는 부분적 반응이 없었다. 환자 결과에서 이들 암-특이적 및 변이체-특이적 차이는 암의 종류를 초월한 HER2 돌연변이의 상황을 상세하고 체계적으로 이해하고, 특정된 다양한 HER2 돌연변이의 효과적 치료법을 동정하는 충족되지 않은 필요성을 입증한다.

[0010] HER2 활성화 돌연변이의 전임상 연구는 또한 다양한 TKI에 대한 감수성의 차이를 보고했다. HER2 세포의 도메인 내의 돌연변이의 연구는 이들 돌연변이가 라파티닙 등의 비-공유 억제제에 대한 내성과 연관되지만, 네라티닙, 아파티닙 및 오시메르티닙을 포함하는 공유결합 TKI에 대한 강력한 감수성을 나타내고, 엑손 19 내의 돌연변이는 라파티닙 및 공유결합 억제제에 대한 상이한 감수성을 입증한다. 추가로, 연구에 의해, HER2 엑손 20 돌연변이는 오시메르티닙, 나자르티닙, 로실레티닙 및 올무티닙 등의 비-공유 및 공유 TKI에 대해 광범위한 내성이 있는 것으로 입증되어 있다. 더욱이, 공유결합 키나졸린아민-기반 TKI 네라티닙, 아파티닙 및 다코미티닙은 개개 HER2 엑손 20 돌연변이에 대해 상이한 반응을 유발한다. 그러나, 비통상의 HER2 돌연변이만이 임상적으로 적절한 농도에서 이들 TKI에 대한 감수성을 나타냈다. 보다 최근에, 포지오티닙(poziotinib)이 환자에서 달성가능한 농도에서 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이를 효과적으로 억제하고, 포지오티닙 치료가 HER2 엑손 20 돌연변이를 갖는 1명의 환자에서 방사선 반응을 유발한 것으로 보고했다. 그럼에도 불구하고, 단일 HER2 TKI는, HER2 돌연변이

이 암의 가장 일반적 변이체를 표적화하는 것은 확인되지 않았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명의 실시형태는 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 환자에서 암을 치료하기 위한 방법 및 조성물을 제공한다. 한 가지 실시형태에서, 유효량의 포지오티닙을 대상체(subject)에게 투여하는 것을 포함하는 대상체에서 암을 치료하는 방법이 제공되고, 상기 대상체는 하나 이상의 HER 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되었다. 특정 국면에서, 대상체는 인간이다.
- [0012] 일부 국면에서, 상기 포지오티닙은 포지오티닙 하이드로클로라이드 염(hydrochloride salt)으로서 정의된다. 특정 국면에서, 포지오티닙 하이드로클로라이드 염은 정제로서 제형화된다.
- [0013] 특정 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 아미노산 832 내지 886 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함한다. 일부 국면에서, 대상체는 2, 3 또는 4개 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되었다. 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842, R868 및 L869로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I, R868W 및 L869R로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842 및 R868로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I 및 R868W로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0014] 일부 국면에서, 대상체는 이전에 투여된 티로신 키나제 억제제에 대해 내성이 있거나 내성을 나타낸다. 특정 국면에서, 티로신 키나제 억제제는 라파티닙, 아파티닙, 다코미티닙, 오시메르티닙, 이브루티닙, 나자르티닙 또는 베라티닙이다.
- [0015] 특정 국면에서, 포지오티닙은 경구 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 5 내지 25mg, 예컨대, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25mg의 용량으로 투여된다. 특정 국면에서, 포지오티닙은 8mg, 12mg, 또는 16mg의 용량으로 투여된다. 일부 국면에서, 상기 포지오티닙은 매일 투여된다. 특정 국면에서, 포지오티닙은 연속적으로 투여된다. 일부 국면에서, 상기 포지오티닙은 28일 주기로 투여된다.
- [0016] 특정 국면에서, 대상체는, 대상체로부터 게놈 샘플(genomic sample)을 분석함으로써 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되었다. 일부 국면에서, 게놈 샘플은 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리된다. 특정 국면에서, HER2 엑손 21 돌연변이의 존재는 핵산 서열분석(nucleic acid sequencing)(예를 들면, 종양 조직의 DNA 서열분석 또는 혈장으로부터의 순환 유리 DNA) 또는 PCR 분석으로 결정된다.
- [0017] 특정 국면에서, 상기 방법은 추가의 항-암 요법을 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 국면에서, 항암 요법은 화학요법, 방사선 요법, 유전자 요법, 수술, 호르몬 요법, 항-혈관신생 요법(anti-angiogenic therapy) 또는 면역요법이다. 특정 국면에서, 포지오티닙 및/또는 항암 요법은 정맥내로, 피하로, 골내로(intraosseously), 경구로, 경피로, 지속 방출로, 지연 방출로, 좌제로서, 또는 설하로 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙 및/또는 항암 요법의 투여는 국소, 국지 또는 전신 투여를 포함한다. 특정 국면에서, 포지오티닙 및/또는 항암 요법은 매일, 격일 또는 매주 2회 이상 투여된다.
- [0018] 일부 국면에서, 상기 암은 구강암(oral cancer), 구강인두암(oropharyngeal cancer), 비인두암(nasopharyngeal cancer), 호흡기암(respiratory cancer), 비뇨생식기암(urogenital cancer), 위장암(gastrointestinal cancer), 중추 또는 말초 신경계 조직암(central or peripheral nervous system tissue cancer), 내분비 또는 신경내분비암 또는 조혈암(an endocrine or neuroendocrine cancer or hematopoietic cancer), 신경교종(glioma), 육종(sarcoma), 암종(carcinoma), 림프종(lymphoma), 흑색종(melanoma), 섬유종(fibroma), 수막종(meningioma), 뇌암(brain cancer), 구강인두암(oropharyngeal cancer), 비인두암(nasopharyngeal cancer), 신장암(renal cancer), 담관암(biliary cancer), 크롬친화세포종(pheochromocytoma), 췌도세포암(pancreatic islet cell cancer), 리-프라우메니 종양(Li-Fraumeni tumors), 갑상선암(thyroid cancer), 부갑상선암(parathyroid cancer), 뇌하수체 종양(pituitary tumors), 부신선 종양(adrenal gland tumors), 골형성 육종

종양(osteogenic sarcoma tumors), 다발성 신경내분비 I형 및 II형 종양(multiple neuroendocrine type I and type II tumors), 유방암(breast cancer), 폐암(lung cancer), 두경부암(head and neck cancer), 전립선암(prostate cancer), 식도암(esophageal cancer), 기관지암(tracheal cancer), 간암(liver cancer), 방광암(bladder cancer), 위암(stomach cancer), 췌장암(pancreatic cancer), 난소암(ovarian cancer), 자궁암(uterine cancer), 자궁경부암(cervical cancer), 고환암(testicular cancer), 결장암(colon cancer), 직장암(rectal cancer) 또는 피부암(skin cancer)이다. 특정 국면에서, 상기 암은 비-소세포 폐암(non-small cell lung cancer)이다.

- [0019] 또 다른 실시형태에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 환자를 위한 포지오티닙을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 특정 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 아미노산 832 내지 883 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함한다. 특정 국면에서, 대상체는 2, 3 또는 4개 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정되었다.
- [0020] 일부 국면에서, 상기 포지오티닙은 포지오티닙 하이드로클로라이드 염으로서 추가로 정의된다. 특정 국면에서, 상기 포지오티닙 하이드로클로라이드 염은 정제로서 제형화된다.
- [0021] 일부 국면에서, 상기 포지오티닙은 경구 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 5 내지 25mg, 예컨대, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25mg의 용량으로 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 8mg, 12mg 또는 16mg의 용량으로 투여된다. 특정 국면에서, 포지오티닙은 매일 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 연속하여 투여된다. 일부 국면에서, 상기 포지오티닙은 28일 주기로 투여된다.
- [0022] 일부 국면에서, 대상체는 이전에 투여된 티로신 키나제 억제제에 대해 내성이 있거나 내성을 나타낸다. 특정 국면에서, 티로신 키나제 억제제는 라파티닙, 아파티닙, 디코미티닙, 오시메르티닙, 이브루티닙, 나자르티닙 또는 베라티닙이다.
- [0023] 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842, R868 및 L869로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I, R868W 및 L869R로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842 및 R868로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I 및 R868W로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 국면에서, 환자는 항암 요법으로 치료된다.
- [0024] 또 다른 실시형태에서, 암을 갖는 대상체에서, 상기 환자로부터 수득된 게놈 샘플 중의 HER2 엑손 21 돌연변이를 검출하는 것을 포함하여, 포지오티닙 단독 또는 항암 요법과의 조합에 대한 반응을 예측하는 방법이 제공되고, 여기서 상기 샘플이 HER2 엑손 21 돌연변이의 존재에 대해 양성인 경우, 상기 환자는 포지오티닙 단독 또는 항-암 요법과의 조합에 대해 양호한 반응을 갖는 것으로 예측된다. 일부 국면에서, 게놈 샘플은 타액, 혈액, 소변, 정상 조직 또는 종양 조직으로부터 단리된다. 특정 국면에서, HER2 엑손 21 돌연변이의 존재는 핵산 서열분석 또는 PCR 분석에 의해 결정된다. 특정 국면에서, HER2 엑손 21 돌연변이는 아미노산 832 내지 883 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 하나 이상의 점 돌연변이, 삽입 및/또는 결실을 포함한다. 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842, R868 및 L869로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I, R868W 및 L869R로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842 및 R868로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I 및 R868W로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0025] 특정 국면에서, 포지오티닙 억제제 단독 또는 항암 요법과의 조합에 대한 양호한 반응은 종양 크기 또는 부하(burden)의 감소, 종양 성장의 차단, 종양 관련 통증의 감소, 암 관련 병리(pathology)의 감소, 암 관련 증상의 감소, 암의 비-진행(cancer non-progression), 무병 기간(disease-free interval)의 증가, 진행까지의 시간의 증가, 관해의 유도(induction of remission), 전이의 감소, 또는 환자 생존의 증가를 포함한다. 추가의 국면에서, 양호한 반응을 갖는 것으로 예측된 환자는 포지오티닙을 단독으로 또는 제2 항-암 요법과 조합하여 투여된다.
- [0026] 일부 국면에서, 포지오티닙은 또한 포지오티닙 하이드로클로라이드 염으로서 추가로 정의된다. 특정 국면에서, 포지오티닙 하이드로클로라이드 염은 정제로서 제형화된다.
- [0027] 일부 국면에서, 포지오티닙은 경구 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 5 내지 25mg, 예컨대, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25mg의 용량으로 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 8mg, 12mg 또는 16mg의 용량으로 투여된다. 특정 국면에서, 포지오티닙은 매일 투여된

다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 연속하여 투여된다. 일부 국면에서, 포지오티닙은 28일 주기로 투여된다.

[0028] 일부 국면에서, 대상체는 이전에 투여된 티로신 키나제 억제제에 대해 내성이 있거나 내성을 나타낸다. 특정 국면에서, 티로신 키나제 억제제는 라파티닙, 아파티닙, 다코미티닙, 오시메르티닙, 이브루티닙, 나자르티닙 또는 베라티닙이다.

[0029] 본 발명의 다른 목적, 특징 및 이점은 하기 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 그러나, 본 발명의 정신 및 범위 내의 다양한 변경 및 수정이 이러한 상세한 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이기 때문에, 상세한 설명 및 특정 예는 본 발명의 바람직한 실시형태를 나타내면서, 예시로서만 제공되는 것을 이해해야 한다.

도면의 간단한 설명

[0030] 이하의 도면은 본 명세서의 일부를 형성하고, 본 발명의 특정 태양을 추가로 설명하기 위해 포함된다. 본 발명은 본원에 제시된 특정 실시형태의 상세한 설명과 조합하여 이들 도면의 하나 이상을 참조함으로써 보다 잘 이해될 수 있다.

도 1A 내지 1J: HER2 돌연변이는 수용체를 다양한 종류의 암에서 발생하고, 수용체 전체에 걸쳐 돌연변이 핫스팟이 발생한다. 암에 의한 HER2 돌연변이(A) 및 HER2 엑손(20) 돌연변이(B) 빈도의 가중 평균의 막대 그래프. 막대는 가중 평균 ± SEM을 나타낸다. 도트 크기는 각 데이터베이스에서의 환자의 수를 나타낸다. 가던트 헬스(Gardant Health)에 의해 보고된 cfDNA에 의해 검출된 HER2 돌연변이의 빈도는 문헌[참조: Odegaard et al 2018]에 보고된 바와 같이 임상 감도에 대해 정규화했다.

도 2A 내지 2H: HER2 돌연변이 핫스팟은 암 유형에 의해 변화한다. cBioportal 및 MD Anderson 데이터베이스에서 보고된 (A) 모든 암(N = 2338), (B) 폐암(N = 177), (C) 유방암(N = 143), 및 (D)대장암(N = 219)에 걸친 HER2 돌연변이 위치의 빈도의 파이 차트. (E) cBioportal 및 MD Anderson 데이터베이스에서 복된 모든 암에 걸친 10개의 가장 일반적 HER2 돌연변이의 롤리팝 플롯(N = 2338 HER2 돌연변이). 바의 길이는 돌연변이의 빈도에 관련된다. (E-H) cBioPortal 및 MD Anderson 데이터베이스에서 NSCLC(F, N = 177), 유방암(G, N = 143) 및 대장암(H, N = 219)에 걸친 10개의 가장 일반적 HER2 돌연변이의 롤리팝 플롯; 바의 길이는 보고된 돌연변이의 빈도와 관련된다.

도 3A 내지 3C: 티로신 키나제 도메인에서의 가장 일반적 HER2 변이체는 활성화 돌연변이이다. IL-3 비함유 조건에서 14일 동안 성장시킨 HER2 엑손 19(A), HER2 엑손 20(B), 및 HER2 엑손 21(C) 돌연변이를 발현하는 안정한 Ba/F3 세포주의 세포 생존율. 세포 생존율은 Cell Titer Glo 검정에 의해 3일마다 결정되었다. 평균 ± SEM은 각 세포주에 대해 플롯되어 있다(n = 3개의 생물학적 독립 실험).

도 4A 내지 4F: 포지오티닙은 Ba/F3 세포에서 HER2 돌연변이에 대해 시험된 가장 강력한 억제제였다. (A) 72시간의 약물 치료 후에 지시된 돌연변이 및 약물을 안정적으로 발현하는 Ba/Fc 조직에 대한 GraphPad로 계산된 로그 IC₅₀ 값의 히트맵. 세포 생존율은 Cell Titer Glo 검정(N > 3)에 의해 결정되었다. 아파티닙, 네라티닙, 타록소티닙-TKI 또는 포지오티닙으로 72시간 동안 약물 치료한 후에, HER2 돌연변이(B), HER2 엑손 19 돌연변이 세포주(C), HER2 엑손 20 돌연변이 세포주(D), 또는 HER2 엑손 21 돌연변이 세포주(E)를 발현하는 모든 Ba/F3 세포주에 대한 평균 IC₅₀ 값. 막대는 평균 ± SEM(N > 3)을 나타낸다. (C-E) Dunn의 다중 비교 검정을 사용한 일원배치 분산분석(one way ANOVA)를 사용하여 그룹 사이의 통계적 유의성을 결정했다. (F) 지시된 억제제를 갖는 L755S 또는 L755P를 발현하는 Ba/F3 세포의 평균 IC₅₀ 값. 도트는 평균 ± SEM(N > 3)을 나타낸다. 통계적 유의성은 대응하는 t-검정에 의해 결정되었다.

도 5A 내지 5D: HER2 돌연변이의 분자 동역학 시뮬레이션에 의해, Y772dupYVMA 및 L755P 돌연변이에 대한 약물 감수성이 저하되는 가능한 메커니즘이 밝혀졌다. (A) 150ns 가속 분자 동역학 시뮬레이션 동안 HER2 V777L 및 Y772dupYVMA 엑손 20 돌연변이에 대한 α-C-헬릭스 위치. (B) α-C-헬릭스에서 "인(in)" 배좌와 "아웃(out)" 배좌의 HER2 엑손 20 돌연변이에 대한 분자 동역학 스냅샷의 분수 모집단. (C) V777L 및 Y772dupYVMA 돌연변이의 분자 동역학 스냅샷. P-루프 및 키나제 힌지 구조에서의 작은 차이가 있지만, α-C-헬릭스 위치(V777L의 경우는 "아웃" 위치, Y772dupYVMA의 경우는 "인" 위치)에서 상당한 시프트가 있다. (D) L755P 및 L755S HER2 돌연변이의 분자 동역학 스냅샷. L755P 돌연변이는 V790과의 백본 수소 결합이 결여되어 있고, 키나제 힌지의 불안정화 및 결합 부위에 대한 P-루프의 수축을 유도한다.

도 6A 내지 6F: HER2 돌연변이를 발현하는 인간 세포주는 또한 포지오티닙에 가장 감수성이다. 지시된 억제제로

72시간 처리한, 엑손 20 삽입 돌연변이를 발현하는 MCF10A 세포, HER2 G776delinsVC(A), HER2 Y772dupYVMA(B), HER2 G778dupGSP(C)의 용량 반응 곡선. (D) MCF10A HER2 선택성 지수의 막대 그래프. 돌연변이 세포주의 IC₅₀ 값을, 지시된 각 약물의 HER2 WT 발현 세포주의 평균 IC₅₀ 값에 의해 나누었다. 도트는 각 세포주의 평균 ± SEM을 나타내고, 막대는 모든 3개 세포주의 평균 ± min/max를 나타낸다(각 세포주에 대해 N > 3). (E) 72시간 동안 지시된 억제제로 처리된 HER2 엑손 19 돌연변이 L755S를 포함하는 CW-2 대장 세포의 용량 반응 곡선. (A-C, E) 곡선은 평균 ± SEM, N = 3을 나타낸다. (F) 21일차에 CW-2 종양 용적의 막대 그래프. 마우스를 비히클 대조군(N = 5), 30mg/kg의 네라티닙(N = 5), 20mg/kg의 아파티닙(N = 5), 또는 5mg/kg의 포지오티닙(N = 5)로 5일/주로 치료하고, 종양은 점선으로 나타낸 350mm³에서 랜덤화되었다. 도트는 개개 종양을 나타내고, 막대는 평균 ± SEM을 나타낸다. 통계적 유의성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)에 의해 결정되었다.

도 7A 내지 7D: HER2 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자는 포지오티닙에 대해 42% 확인된 반응 속도를 갖는다. (A) 임상 시험 NCT03066206에 대한 제1 12 HER2 엑손 20 환자 반응의 워터폴 플롯. 객관적 부분 반응이 도시되어 있고(좌측: 막대 7, 8, 10, 11 및 12로부터), 확인되지 않은 반응이 도시되어 있고(막대 9), 안정적인 질환이 도시되어 있고(막대 3-6), 진행성 질환이 도시되어 있다(막대 1-2). (B) 제1 12명의 HER2 엑손 20 환자의 무진행 생존에 대한 카플란-마이어(Kaplan-meier) 플롯은 mPFS가 2018년 12월의 시점에서 5.6개월인 것을 나타낸다. (C) 포지오티닙 치료 1일 전 및 치료의 8주간 후에 HER2 Y772dupYVMA 돌연변이를 갖는 환자의 CT 스캔. (D) 포지오티닙 치료 후 1일 전과 4주 후의 HER2 L755P 돌연변이 NSCLC 환자의 PET 스캔. 환자는 이전에 치료된, 트라스투주맵, 니볼루맵 및 항 TDM1과 조합하여 백금계 화학요법을 통해 진행되었지만, 포지오티닙 치료에 의해 표적 병변의 -12% 감소했다.

도 8A 내지 8G: 포지오티닙 치료는 세포 표면에 HER2의 축적을 유도하고, 포지오티닙과 T-DM1 치료의 조합은 항 종양 활성을 증강시킨다. (A) 10nM 포지오티닙 치료의 24시간 후의 HER2 Y772dupYVMA, HER2 G778dupGSP 및 HER2 G776delinsVC를 발현하는 MC10A 세포주에서 HER2 수용체 발현의 FACS 분석. 막대는 평균 ± SEM을 나타내고, DMSO 및 포지오티닙 치료된 그룹 사이의 스튜던트 t-검정에 의해 유의차가 결정되었다. (B) 포지오티닙, T-DM1 또는 포지오티닙 및 지시된 용량의 T-DM1으로 치료된 HER2 Y772dupYVMA, HER2 G778dupGSP 및 HER2 G776delinsVC를 발현하는 MCF10A 세포주의 IC₅₀ 값의 막대 그래프. 막대는 평균 ± SEM(n = 3개의 독립적 실험)을 나타내고, 유의차는 일원 배치 분산분석(One-way ANOVA) 및 Dunn의 다중 비교 사후-분석(post-hoc)에 의해 결정되었다. (C) 지시된 억제제로 치료된 HER2 Y772dupYVMA NSCLC PDX의 종양 성장 곡선. 포지오티닙 치료는 주 5일 동안 투여되었고, T-DM1은 치료 개시시에 1회 투여했다. (D) 카플란 마이어 무진행 생존기간(PFS) 곡선, 여기서 PFS는 최상의 반응으로부터 배증되는 종양으로서 정의된다. 만텔-콕스(Mantel-Cox) 로그 랭크 검정을 사용하여, 그룹 사이의 유의차를 결정했다. 마우스는 안락사시에 중단되었다. (E) 15일차에 지시된 억제제로 치료된 마우스의 종양 용적의 변화율의 도트 플롯. (F) 15일차 및 45일차에 각 그룹에서의 종양 보유 마우스의 수. (G) 지시된 억제제로 치료된 HER2 Y772dupYVMA 마우스의 종양 용적의 스파이더 플롯. 점선은 랜덤화 포인트(300mm³)를 나타낸다.

도 9A 내지 9D: 엑손 20 삽입 돌연변이 다양성은 문헌[참조: Guardant, cBioPortal, 및 MD 앤더슨 데이터베이스]에서 암 유형에 따라 상이하다. (A) 모든 암 유형에서 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이의 빈도의 파이 차트(N=517). 엑손 20 삽입 돌연변이의 빈도는 암의 유형에 따라 추가로 분석되었다: (B) 폐암, N=362, (C) 유방암, N=30, 및 (D) 기타 암, N=125.

도 10A 내지 10B: 일반적 HER2 돌연변이는 구성적으로 포스포틸화되고, p-HER2 발현은 약물 감수성과는 상관되지 않는다. (A) 상대적 p-HER2 발현은 ELISA에 의해 결정된 총 HER2에 대한 p-HER2의 비율을 취함으로써 결정되었다. 막대는 평균 ± SEM을 나타내고, n = 3이다. ND = 검출 한계 미만. (B) 상대적 HER2의 상관은 Ba/F3 HER2 돌연변이 세포주에 대한 포지오티닙 IC₅₀ 값에 대해 플롯팅했다. 피어슨 상관 및 p-값은 GraphPad Prism(n = 3)에 의해 결정되었다.

도 11A 내지 11B: 분자 모델링에 의해, HER2 돌연변이는 결합 포켓 크기가 상이한 것으로 밝혀졌다. (A) HER2 키나제 도메인 엑손 19, 20 및 21 단백질 골격은 각각 청색, 핑크색 및 오렌지색으로 착색되었다. 템플릿 X-선 구조(PDB 3PP0)로부터의 리간드는 녹색 봉(green stick)으로 렌더링되고, 돌연변이된 잔기/삽입 위치에 표지가 제공된다. (B) 가속 분자 동역학 시뮬레이션으로부터 수득된 HER2 돌연변이에 대한 결합 포켓 용적 프로파일.

도 12: 포지오티닙은 HER2 돌연변이 세포주에서 p-HER2를 억제한다. 지시된 약물 및 용량의 2시간의 치료 후에

G776delinsVC를 발현하는 MCF10A 세포의 웨스턴 블롯.

도 13: 포지오티닙은 엑손 19 돌연변이 대장암의 이중이식편에서의 종양 성장을 억제한다. HER2 L755S 돌연변이를 포함하는 CW-2 세포를 6주령의 암컷 nu/nu 누드 마우스의 옆구리에 주사했다. 종양이 350mm³에 도달하였을 때, 마우스는 4개의 그룹으로 랜덤화했다: 20mg/kg 아파티닙, 5mg/kg 포지오티닙, 30mg/kg의 네라티닙, 또는 비히클 대조군. 종양 용적을 1주 3회 측정하고, 마우스에게 월요일부터 금요일(1주에 5일)까지 약물을 투여했다. 기호는 각 시점에 대한 평균 ± SEM을 나타낸다. 터키(Tukey)의 다중 비교 검정을 사용한 이원 배치 분산분석(ANOVA)을 사용하여 통계적 유의성을 결정했다. 별표는 비히클과 포지오티닙 또는 네라티닙 사이의 유의성을 나타낸다. 각 비교를 위한 p-값은 유의차가 먼저 검출된 10일차부터 이까지 수록되어 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0031] 본 연구는 다양한 악성종양에 걸쳐 HER2 돌연변이의 가장 일반적 게놈 돌연변이의 빈도를 결정했다. 체계적으로, 16개의 가장 빈번한 HER2 돌연변이의 활성화 가능성이 실증되고, 11개의 일반적으로 이용되는 EGFR 및 HER2 TKI에 걸쳐 이들의 약물 감수성이 평가되었다. 엑손 20 삽입 돌연변이와 엑손 19의 p.L755P(p.L755S는 아님) 돌연변이는 시험된 다수의 TKI에 대해 불응성인 것으로 밝혀졌다. 약물 내성 HER2 변이체, L755P 및 엑손 20 삽입물의 분자 동역학 모델링은, 이들 돌연변이가 수용체의 순응성 상태에 영향을 미치고, 약물 결합 포켓의 전체 크기를 감소시키는 것으로 입증했다. 또한, 포지오티닙은 평가된 모든 HER2 돌연변이의 강력한 억제제로서 동정되었다. 또한, 본 연구는 포지오티닙이 가장 내성이 있는 HER2 변이체, 엑손 20 삽입, 엑손 21 돌연변이 및 L755P를 보유하는 NSCLC 환자에서 임상 활성을 갖는다는 것을 나타낸다. 마지막으로, 이 연구는 포지오티닙-매개된 세포 표면 수용체의 축적이 T-DM1 활성을 증강시키고, 이를 이용하여 생체내 항종양 활성을 증가시키고, HER2 돌연변이 NSCLC의 PDX 모델에서 완전한 종양 퇴축을 유도할 수 있음을 나타낸다.
- [0032] 따라서, 본 발명의 특정 실시형태는 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 암 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 특히, 본 발명의 방법은 HER 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 동정된 환자에 대한 포지오티닙(또한 HM781-36B로서 공지됨) 또는 아파티닙의 투여를 포함한다. 포지오티닙의 크기 및 유연성은 입체 장애를 극복하고, 낮은 나노몰 농도에서 HER2 엑손 21 돌연변이를 억제한다. 따라서, 포지오티닙 또는 아파티닙, 게다가 구조적으로 유사한 억제제는 비가역적 제2 세대 및 제3 세대의 TKI에 대해 내성이 있는 HER2 엑손 21 삽입물을 표적화하는데 사용될 수 있는 강력한 HER2 억제제이다.
- [0033] **I. 정의**
- [0034] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 단수형("a" 또는 "an")은 하나 이상을 의미할 수 있다. 청구범위에서 사용된 바와 같이, 단어 "포함하는"과 함께 사용될 때, 이 단어("a" 또는 "an")는 하나 이상을 의미할 수 있다.
- [0035] 청구범위에서 용어 "또는"의 사용은 대안만을 지칭하는 것으로 명시적으로 표시되지 않는 한, 또는 대안들이 상호 배타적이지 않는 한, "및/또는"을 의미하고자 사용되지만, 본 개시는 대안만 그리고 "및/또는"을 지칭하는 정의를 뒷받침한다. 본 설명에 사용된 바와 같이, "또 다른"은 적어도 제2의 또는 그 이상을 의미할 수 있다.
- [0036] 용어 "약"은 언급된 값 ± 5%를 지칭한다.
- [0037] "치료" 또는 "치료하는"은 (1) 질병의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자에서 이 질병을 억제(예컨대, 병리 및/또는 증상의 추가적인 발달을 저지), (2) 질병의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자에서 이 질병을 개선(예컨대, 병리 및/또는 증상을 역전), 및/또는 (3) 질병의 병리 또는 증상을 경험하거나 나타내는 대상체 또는 환자에서 이 질병의 임의의 측정 가능한 감소를 가져오는 것을 포함한다. 예를 들어, 치료는 유효량의 포지오티닙 또는 아파티닙의 투여를 포함할 수 있다.
- [0038] "예방적으로 치료하는"은 (1) 질병의 위험이 있고/있거나 질병에 걸리기 쉬울 수 있지만 이 질병의 임의의 또는 모든 병리 또는 증상을 아직 경험하거나 나타내지 않는 대상체 또는 환자에서 질병의 발병 위험의 감소 또는 완화, 및/또는 (2) 질병의 위험이 있고/있거나 질병에 걸리기 쉬울 수 있지만 이 질병의 임의의 또는 모든 병리 또는 증상을 아직 경험하거나 나타내지 않는 대상체 또는 환자에서 질병의 병리 또는 증상의 개시를 지연시키는 것을 포함한다.
- [0039] 본 설명에 사용된 바와 같이, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 살아있는 포유동물 유기체, 예컨대, 인간, 원숭이, 소, 양, 염소, 개, 고양이, 마우스, 랫트, 기니피그, 또는 이의 형질전환 종을 지칭한다. 특정 실시형태에서, 환자 또는 대상체는 영장류이다. 인간 환자의 비제한적인 예는 성인, 청소년, 유아 및 태아이다.

- [0040] 용어 "유효한"은, 그 용어가 본 명세서 및/또는 청구범위에 사용되는 바와 같이, 원하는, 기대한, 또는 의도한 결과를 달성하기에 적합한 것을 의미한다. "유효량", "치료적 유효량" 또는 "약제학적 유효량"은, 환자 또는 대상체를 화합물로 치료하는 맥락에서 사용될 때, 화합물이 질병을 치료 또는 예방하기 위하여 대상체 또는 환자에 투여될 때 질병의 이러한 치료 또는 예방을 가져오기에 충분한 양인 화합물의 양을 의미한다.
- [0041] 본 설명에 사용된 바와 같이, 용어 "IC₅₀"은 얻어진 최대 반응의 50%인 억제 용량을 지칭한다. 이 정량적인 척도는 얼마나 많은 특정 약물 또는 다른 물질(억제제)이 주어진 생물학적, 생화학적 또는 화학적 절차(또는 절차의 성분, 즉, 효소, 세포, 세포 수용체 또는 미생물)를 절반으로 억제하는 데 필요한지를 나타낸다.
- [0042] "항암"제는, 예를 들면, 암세포의 살상을 촉진시킴으로써, 암세포에서의 세포자멸사를 유도함으로써, 암세포의 성장 속도를 감소시킴으로써, 전이의 발생 정도 또는 수를 감소시킴으로써, 종양 크기를 감소시킴으로써, 종양 성장을 억제함으로써, 종양 또는 암세포로의 혈액 공급을 감소시킴으로써, 암세포 또는 종양에 대한 면역 반응을 촉진함으로써, 암의 진행을 예방하거나 억제함으로써, 또는 암을 앓는 대상체의 수명을 증가시킴으로써, 대상체의 암세포/종양에 부정적으로 영향을 미칠 수 있다.
- [0043] 용어 "삽입(들)" 또는 "삽입 돌연변이(들)"은 하나 이상의 뉴클레오티드 염기 쌍을 DNA 서열에 부가하는 것을 지칭한다. 예를 들면, HER2 엑손 21 삽입 돌연변이는 아미노산 832 내지 883 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 하나 이상의 삽입물을 포함한다.
- [0044] "하이브리드화하다" 또는 "하이브리드화"는 핵산 사이의 결합을 지칭한다. 하이브리드화 조건은 결합되는 핵산의 서열 상동성에 따라 다를 수 있다. 따라서, 대상 핵산 사이의 서열 상동성이 높은 경우, 엄격한 조건이 사용된다. 서열 상동성이 낮은 경우, 가벼운 조건이 사용된다. 하이브리드화 조건이 엄격할 때, 하이브리드화 특이성은 증가하며, 하이브리드화 특이성의 이러한 증가는 비-특이적 생성물의 수율 감소를 초래한다. 그러나, 가벼운 하이브리드화 조건하에서는, 하이브리드화 특이성이 감소하며, 하이브리드화 특이성의 이러한 감소는 비특이적 생성물 수율 증가를 초래한다.
- [0045] "프로브"는 적어도 여덟(8) 개의 뉴클레오티드 길이이며, 프로브 내의 적어도 하나의 서열의, 표적 영역 내의 서열과의 상보성으로 인해, 표적 서열과 혼성 구조체를 형성하는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 이 폴리뉴클레오티드는 DNA 및/또는 RNA로 구성될 수 있다. 특정 실시형태에서의 프로브는 검출 가능하게 표지된다. 프로브 크기는 상당히 다양할 수 있다. 일반적으로, 프로브는 예를 들면, 적어도 8개 내지 15개 뉴클레오티드 길이이다. 다른 프로브는 예를 들면, 적어도 20, 30 또는 40개 뉴클레오티드 길이이다. 또 다른 프로브는 다소 더 길어서, 적어도, 예를 들면, 50, 60, 70, 80, 또는 90개 뉴클레오티드 길이이다. 또한, 프로브는 전술한 범위 내에 속하는 임의의 특정 길이일 수 있다. 바람직하게는, 이 프로브는 중합효소 연쇄 반응 중에 표적 서열을 준비시키는 데 사용된 서열(들)에 대해 상보적인 서열을 함유하지 않는다.
- [0046] "올리고뉴클레오티드" 또는 "폴리뉴클레오티드"는 단일 가닥 또는 이중 가닥 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드의 고분자를 지칭하며, 이는 변형되지 않은 RNA 또는 DNA 또는 변형된 RNA 또는 DNA일 수 있다.
- [0047] "변형된 리보뉴클레오티드" 또는 데옥시리보뉴클레오티드는 핵산에서 자연 발생적인 염기 대신 이용될 수 있는 분자이며, 변형된 퓨린 및 피리미딘, 작은 염기, 전환 가능한 뉴클레오시드, 퓨린 및 피리미딘의 구조적 유사체, 표지된, 유도체화된 및 변형된 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드, 접합된 뉴클레오시드 및 뉴클레오티드, 서열 변형자, 말단 변형자, 스페이서 변형자, 및 리보스 변형 뉴클레오티드, 포스포아미데이트, 포스포로티오에이트, 포스포아미다이트, 메틸 포스포네이트, 메틸 포스포아미다이트, 메틸 포스포아미다이트, 5'-β-시아노에틸 포스포아미다이트, 메틸렌포스포네이트, 포스포로디티오에이트, 펩티드 핵산, 아키랄 및 중성 뉴클레오티드 내 연결을 포함하나 이에 한정되지 않는 백본 변형이 있는 뉴클레오티드를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0048] "변이체"는 각각 1개 이상의 뉴클레오티드 또는 아미노산의 교환, 결실, 또는 삽입에 의해, 야생형 또는 개체군에서 가장 보편적인 형태에 대해 상이한 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 지칭한다. 교환, 결실, 또는 삽입된 뉴클레오티드 또는 아미노산의 수는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 이상, 예컨대, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50일 수 있다.
- [0049] "프라이머" 또는 "프라이머 서열"은 핵산 합성 반응을 준비시키기 위하여 표적 핵산 서열(예를 들면, 증폭되는 DNA 주형)에 하이브리드화하는 올리고뉴클레오티드를 지칭한다. 프라이머는 DNA 올리고뉴클레오티드, RNA 올리고뉴클레오티드, 또는 키메라 서열일 수 있다. 프라이머는 천연, 합성, 또는 변형된 뉴클레오티드를 함유할 수 있다. 프라이머의 길이의 상한 및 하한은 경험적으로 결정된다. 프라이머 길이에 대한 하한은, 핵산 증폭 반응 조건 하에서 표적 핵산과 하이브리드화할 때 안정적인 중복 부위(duplex)를 형성하는 데 필요한 최소한의 길이

이다. (대개 3 또는 4개 뉴클레오티드 길이보다 작은) 매우 짧은 프라이머는 이러한 하이브리드화 조건 하에서 표적 핵산과 열역학적으로 안정적인 중복 부위를 형성하지 않는다. 상한은 종종 표적 핵산 내의 사전에 결정된 핵산 서열 이외의 영역에 중복 부위 형성을 가질 가능성에 의해 결정된다. 일반적으로, 적합한 프라이머 길이는 약 10 내지 약 40개 뉴클레오티드 길이 범위이다. 특정 실시형태에서는, 예를 들면, 프라이머는 10 내지 40, 15 내지 30, 또는 10 내지 20개 뉴클레오티드 길이일 수 있다. 프라이머는 적당한 조건 하에 놓였을 때 폴리뉴클레오티드 서열 상에서 합성 개시점으로 작용할 수 있다.

[0050] "검출", "검출 가능한" 및 이의 문법적 균등물은 표적 핵산 서열의 존재 및/또는 양 및/또는 정체를 결정하는 방법을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 검출은 표적 핵산 서열의 증폭시킴으로써 일어난다. 다른 실시형태에서, 표적 핵산의 서열분석은 표적 핵산 서열의 "검출"을 특징으로 할 수 있다. 프로브에 부착된 라벨은 예를 들면, 화학적 또는 물리적 수단에 의해 검출될 수 있는, 당해 분야에 공지된 다양한 상이한 라벨 중 임의의 것을 포함할 수 있다. 프로브에 부착될 수 있는 라벨은 예를 들면, 형광 및 발광 물질을 포함할 수 있다.

[0051] "증폭시키는", "증폭" 및 이의 문법적 균등물은 핵산 서열을 선형적으로 또는 기하급수적으로 증폭시키는 광범위한 기술을 제한 없이 포함하는, 표적 핵산 서열의 적어도 일부가 주형 의존적인 방식으로 재생산되는 임의의 방법을 지칭한다. 증폭 단계를 수행하는 예시적인 수단에는 리가아제 연쇄 반응(LCR), 리가아제 검출 반응(LDR), 라이게이션 후 Q-레플리카아제 증폭, PCR, 프라이머 신장, 가닥 변위 증폭(SDA), 초분기 가닥 변위 증폭, 다중 변위 증폭(MDA), 핵산 가닥-기반 증폭(NASBA), 2단계 다중화 증폭, 회전환 증폭(RCA), 재조합효소-중합효소 증폭(RPA)(TwistDx, 영국 케임브리지), 및 다중 버전을 포함한 자체 지속성 서열 복제(3SR) 또는 이의 조합이 포함되며, 예를 들면 OLA/PCR, PCR/OLA, LDR/PCR, PCR/PCR/LDR, PCR/LDR, LCR/PCR, PCR/LCR(조합된 연쇄 반응-CCR로도 알려져 있음) 등이 있으나, 이에 한정되지 않는다. 이러한 기술에 대한 설명은 다른 곳 중에서도 문헌[Sambrook et al. Molecular Cloning, 3rd Edition]에서 찾아볼 수 있다.

[0052] 본 설명에 일반적으로 사용된 바와 같이, "약제학적으로 허용되는"은 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응, 또는 합리적인 편익/위험비에 비례한 기타 문제 또는 합병증 없이, 타당한 의학적 판단의 범위 내에서 인간 및 동물의 조직, 기관 및/또는 체액과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 지칭한다.

[0053] "약제학적으로 허용되는 염"은 위에 정의된 바와 같이 약제학적으로 허용 가능하며, 원하는 약제학적 활성을 보유하는, 본 발명의 화합물의 염을 의미한다. 이러한 염의 비제한적인 예에는 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산 및 인산과 같은 무기산과 형성된 산 부가염; 또는 1,2-에탄디설포산, 2-하이드록시에탄설포산, 2-나프탈렌설포산, 3-페닐프로피온산, 4,4'-메틸렌비스(3-하이드록시-2-엔-1-카르복시산), 4-메틸비시클로[2.2.2]옥트-2-엔-1-카르복시산, 아세트산, 지방족 모노- 및 디카르복시산, 지방족 황산, 방향족 황산, 벤젠설포산, 벤조산, 캄포설포산, 탄산, 신남산, 시트르산, 시프로헨탄프로피온산, 에탄설포산, 푸마르산, 글루코헵탄산, 글루콘산, 글루탐산, 글리콜산, 헵탄산, 핵산산, 하이드록시나프토산, 락트산, 라우릴황산, 말레산, 말산, 말론산, 만델산, 메탄설포산, 뮤콘산, o-(4-하이드록시벤조일)벤조산, 옥살산, p-클로로벤젠설포산, 페닐-치환된 알칸산, 프로피온산, p-톨루엔설포산, 피루브산, 살리실산, 스테아르산, 숙신산, 타르타르산, 3차 부틸아세트산, 및 트리메틸아세트산과 같은 유기산과 형성된 산 부가염이 포함된다. 또한, 약제학적으로 허용되는 염은 존재하는 산성 양성자가 무기 또는 유기 염기와 반응할 수 있을 때 형성될 수 있는 염기 부가염을 포함한다. 허용 가능한 무기 염기에는 수산화나트륨, 탄산나트륨, 수산화칼륨, 수산화알루미늄 및 수산화칼슘이 포함된다. 허용 가능한 유기 염기의 비제한적인 예에는 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 트로메타민 및 N-메틸글루카민이 포함된다. 본 발명의 임의의 염의 일부를 형성하는 특정 음이온 또는 양이온은 염이 전체로서 약제학적으로 허용되는 한 중요하지 않음은 인정되어야 한다. 약제학적으로 허용되는 염 및 이의 제조 방법 및 용도의 추가적인 예는 문헌[Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use (P. H. Stahl & C. G. Wermuth eds., Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002)]에 제시되어 있다.

[0054] **II. HER2 엑손 21 돌연변이**

[0055] 본 발명의 특정 실시형태는 대상체가 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이, 특히 도 2에 도시된 바와 같은 하나 이상의 삽입 돌연변이를 갖는지를 결정하는 것에 관한 것이다. 대상체는 2, 3, 4 또는 그 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이를 가질 수 있다. 돌연변이 검출 방법은 PCR 분석 및 핵산 서열분석 뿐만 아니라 FISH 및 CGH를 포함하는 당해 기술분야에 공지되어 있다. 특정 국면에서, 엑손 21 돌연변이는 종양 또는 혈장으로부터의 순환 유리 DNA 등의 DNA 서열분석에 의해 검출된다.

[0056] HER2 엑손 21 돌연변이(들)은 아미노산 832 내지 886 사이에 1 내지 18개 뉴클레오티드의 하나 이상의 점 돌연

변이, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842, R868 및 L869로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I, R868W 및 L869R로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 국면에서, 하나 이상의 HER2 엑손 21 돌연변이는 V842 및 R868로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 잔기에 있다. 일부 국면에서, 하나 이상의 엑손 21 돌연변이는 V842I 및 R868W로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0057] 일부 국면에서, 대상체는 포지오티닙 등의 TKI에 대한 내성을 초래할 수 있는, EGFR 잔기 C797에서 돌연변이를 갖거나 또는 발증시킬 수 있다. 따라서, 특정 국면에서, 대상체는 EGFR C797 및/또는 T790, 예컨대, C797S 및/또는 T790M에서 돌연변이를 갖지 않는 것으로 결정된다. 일부 국면에서, T790M 등의 T790 돌연변이를 갖는 대상체에게는 오시메르티닙을 투여할 수 있고, C797S 등의 C797 돌연변이를 갖는 대상체에게는 화학요법 및/또는 방사선요법을 투여할 수 있다.

[0058] 환자 샘플은 대상체의 폐암으로부터의 핵산을 포함하는 임의의 체조직 또는 체액일 수 있다. 특정 실시형태에서, 샘플은 순환하는 종양 세포 또는 세포 유리 DNA를 포함하는 혈액 샘플일 것이다. 다른 실시형태에서, 샘플은 조직, 예컨대, 폐 조직일 수 있다. 폐 조직은 종양 조직으로부터 유래할 수 있고, 신선 냉동되거나 포르말린 고정, 파라핀 포매(FFPE)될 수 있다. 특정 실시형태에서, 폐 종양 FFPE 샘플이 얻어진다.

[0059] 본 설명에 기술된 방법에 사용하기에 적합한 샘플은 유전 물질, 예컨대, 게놈 DNA(gDNA)를 함유한다. 게놈 DNA는 전형적으로 혈액 또는 입 안의 점막 긁음 표본과 같은 생물학적 샘플로부터 추출되나, 소변, 종양 또는 거담체를 포함한 다른 생물학적 샘플로부터 추출될 수 있다. 샘플 그 자체는 전형적으로 유핵 세포(예컨대, 혈액 또는 구강 세포) 또는 정상 또는 종양 조직을 포함한 대상체로부터 제거된 조직을 포함할 것이다. 샘플 획득, 가공처리 및 분석 방법 및 시약은 당해 분야에 공지되어 있다. 일부 실시형태에서, 샘플은, 예컨대, 채혈을 위하여, 의료인의 도움으로 얻어진다. 일부 실시형태에서, 샘플은, 예컨대, 구강 면봉 또는 브러시를 이용하여 얻어지는 구강 세포를 포함하는 샘플, 또는 구강 세척제 샘플로서와 같이, 예컨대, 샘플이 비침습적으로 얻어지는 경우, 의료인의 도움 없이 얻어진다.

[0060] 일부 경우, 생물학적 샘플은 DNA 단리를 위하여 가공처리될 수 있다. 예를 들면, 세포 또는 조직 샘플 내 DNA는 샘플의 다른 성분들로부터 분리될 수 있다. 세포는 당해 분야에 공지된 표준적인 기술을 이용하여 생물학적 샘플로부터 수확될 수 있다. 예를 들면, 세포는 세포 샘플을 원심분리하고, 펠릿화된 샘플을 재현탁시켜 수확될 수 있다. 세포는 인산 완충 식염수(PBS)와 같은 완충 용액에 재현탁될 수 있다. 세포 현탁액을 원심분리하여 세포 펠릿을 획득한 후, 세포는 용해되어 DNA, 예컨대, gDNA를 추출할 수 있다. 예컨대, Ausubel et al. (2003) 참조. 이 샘플은 농축 및/또는 정제되어 DNA를 단리할 수 있다. 임의의 종류의 추가적인 가공처리를 거친 샘플을 포함한, 대상체로부터 획득된 모든 샘플은 대상체로부터 획득된 것으로 간주된다. 예를 들면, 폐놀 추출을 포함한, 통상적인 방법이 생물학적 샘플로부터 게놈 DNA를 추출하기 위하여 사용될 수 있다. 대안적으로, 게놈 DNA는 QIAamp[®] 조직 키트(Qiagen, 미국 캘리포니아 주 채츠워스 소재) 및 Wizard[®] 게놈 DNA 정제 키트(Promega)와 같은 키트로 추출될 수 있다. 샘플 공급원의 비제한적인 예에는 소변, 혈액 및 조직이 포함된다.

[0061] 본 설명에 기술된 바와 같이, 엑손 21 돌연변이의 존재 또는 부재는 당해 분야에 공지된 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 예를 들면, 겔 전기영동, 모세관 전기영동, 크기 배제 크로마토그래피, 서열분석, 및/또는 어레이는 삽입 돌연변이의 존재 또는 부재 검출에 사용될 수 있다. 필요한 경우, 핵산의 증폭은 당해 분야에 공지된 방법, 예컨대, PCR을 이용하여 달성될 수 있다. 한 가지 예에서, 샘플(예컨대, 게놈 DNA를 포함하는 샘플)은 대상체로부터 획득된다. 그런 다음, 샘플 내의 DNA는 본 설명에 기술된 바와 같이 삽입 돌연변이의 정체를 확인하기 위하여 조사된다. 삽입 돌연변이는 본 설명에 기술된 임의의 방법에 의해, 예컨대, 서열분석에 의해 또는 게놈 DNA, RNA, 또는 cDNA 내의 유전자의, 핵산 프로브, 예컨대, (cDNA 및 올리고뉴클레오티드 프로브를 포함하는) DNA 프로브 또는 RNA 프로브에 대한 하이브리드화에 의해, 검출될 수 있다. 핵산 프로브는 특정 변이체와 특이적으로 또는 우선적으로 하이브리드화하도록 설계될 수 있다.

[0062] 프로브 세트는 전형적으로, 프라이머 세트, 대개 프라이머 쌍, 및/또는 본 개시의 실행 가능한 치료 권고에 사용된 표적 유전자 변이(예컨대, HER2 엑손 21 돌연변이)를 검출하는 데 사용되는 검출 가능하게 표지된 프로브를 지칭한다. 프라이머 쌍은 전술된 유전자 각각에 대한 표적 유전자 변이 영역에 걸쳐 이어지는 앰플리콘을 정의하기 위하여 증폭 반응에 사용된다. 앰플리콘 세트는 매치된 프로브 세트에 의해 검출된다. 예시적인 실시형태에서, 본 방법은 HER2 엑손 21 돌연변이와 같은 표적 유전자 변이 세트를 검출하는 데 사용되는 TaqMan[™] (Roche Molecular Systems, 미국 캘리포니아 주 플레젠트 소재) 분석법을 이용할 수 있다. 한 가지 실시형태에서, 프로브 세트는 차세대 서열분석 반응과 같은, 핵산 서열분석 반응에 의해 검출되는 앰플리콘을 생성하기 위

하여 사용되는 프로브 세트이다. 이러한 실시형태에서, 예를 들면, AmpliSEQ™(Life Technologies/Ion Torrent, 미국 캘리포니아 주 칼스배드 소재) 또는 TruSEQ™(Illumina, 미국 캘리포니아 주 샌디에이고 소재) 기술이 사용될 수 있다.

[0063] 핵산 마커의 분석은 서열 분석, 및 전기영동 분석을 제한 없이 포함한, 당해 분야에 공지된 기술을 이용하여 수행될 수 있다. 서열 분석의 비제한적인 예에는 맥삼-길버트(Maxam-Gilbert) 서열분석, 생거(Sanger) 서열분석, 모세관 어레이 DNA 서열분석, 열 사이클 서열분석(Sears et al., 1992), 고체상 서열분석(Zimmerman et al., 1992), 매트릭스-보조 레이저 탈착/이온화 이동시보 질량 분광법과 같은 질량 분광법을 이용한 서열분석(MALDI-TOF/MS; Fu et al., 1998), 및 하이브리드화에 의한 서열분석(Chee et al., 1996; Drmanac et al., 1993; Drmanac et al., 1998)이 포함된다. 전기영동 분석의 비제한적인 예에는 아가로스 또는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동과 같은 슬랩 겔 전기영동, 모세관 전기영동 및 변성 구배 겔 전기영동이 포함된다. 추가적으로, 차세대 서열분석 방법은 Life Technologies/Ion Torrent PGM 또는 Proton과 같은 회사로부터의 상업적으로 이용 가능한 키트와 기기, Illumina HiSEQ 또는 MiSEQ, 및 Roche/454 차세대 서열분석 시스템을 이용하여 수행될 수 있다.

[0064] 핵산 분석의 기타 방법은 직접적인 수동식 서열분석(Church and Gilbert, 1988; Sanger et al., 1977; 미국 특허 번호 5,288,644); 자동화 형광 서열분석; 단일 가닥 구조 다형성 분석법(SSCP)(Schafer et al., 1995); 클램핑된 변성 겔 전기영동(CDGE); 2차원 겔 전기영동(2DGE 또는 TDGE); 형태 감수성 겔 전기영동(CSGE); 변성 구배 겔 전기영동(DGGE) (Sheffield et al., 1989); 변성 고성능 액체 크로마토그래피(DHPLC, Underhill et al., 1997); 적외선 매트릭스-보조 레이저 탈착/이온화(IR-MALDI) 질량 분광법(WO 99/57318); 이동성 변화(mobility shift) 분석(Orita et al., 1989); 제한 효소 분석(Flavell et al., 1978; Geever et al., 1981); 정량적 실시간 PCR(Raca et al., 2004); 이형이중가닥(heteroduplex) 분석; 화학적 미스매치 절단(CMC)(Cotton et al., 1985); RNA 가수분해효소 보호 분석(Myers et al., 1985); 뉴클레오티드 미스매치를 인식하는 폴리펩티드, 예컨대, E. coli mutS 단백질의 이용; 대립유전자 특이적 PCR 및 이러한 방법의 조합을 포함할 수 있다. 예컨대, 전체가 참조로서 본 설명에 포함되는 미국 특허 공개 번호 2004/0014095 참조.

[0065] 한 가지 예에서, 샘플에서 HER2 돌연변이를 확인하는 방법은 상기 샘플로부터의 핵산을, 돌연변이된 HER2 단백질을 암호화하는 핵산 또는 돌연변이를 포함하는 이의 단편에 특이적으로 하이브리드화할 수 있는 핵산 프로브와 접촉시키는 단계 및 상기 하이브리드화를 검출하는 단계를 포함한다. 특정 실시형태에서, 상기 프로브는 방사성 동위원소(3H, 32P, 또는 33P), 형광제(로다민, 또는 플루오레세인) 또는 발색제 같은 것으로 검출 가능하게 표지된다. 특정 실시형태에서, 프로브는 안티센스 올리고머, 예를 들면, PNA, 모르폴리노-포스포아미데이트, LNA 또는 2'-알콕시알콕시이다. 프로브는 약 8개 뉴클레오티드 내지 약 100개 뉴클레오티드, 또는 약 10개 내지 약 75개, 또는 약 15개 내지 약 50개, 또는 약 20개 내지 약 30개일 수 있다. 또 다른 양태에서, 본 개시의 상기 프로브는 샘플에서 HER2 돌연변이를 확인하기 위한 키트 내에 제공되며, 상기 키트는 HER2 유전자의 돌연변이 부위에 또는 이에 인접하여 특이적으로 하이브리드화하는 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 이 키트는 키트를 이용한 하이브리드화 시험 결과를 기반으로 하여 HER2 삽입 돌연변이를 함유하는 종양을 앓는 환자를 포지오티닙 또는 아파티닙으로 치료하기 위한 설명서를 추가적으로 포함할 수 있다.

[0066] 또 다른 국면에서, 샘플에서 엑손 21 돌연변이를 검출하는 방법은 상기 샘플로부터 돌연변이를 함유한다고 의심되는 상기 HER2 유전자의 엑손 20에 상응하는 핵산, 또는 이의 단편을 증폭시키는 단계, 및 증폭된 핵산의 전기영동 이동성을, 상응하는 야생형 HER2 유전자 또는 이의 단편의 전기영동 이동성과 비교하는 단계를 포함한다. 이동성 차이는 증폭된 핵산 서열 내의 돌연변이의 존재를 나타낸다. 전기영동 이동성은 폴리아크릴아미드 겔에서 결정될 수 있다.

[0067] 대안적으로, 핵산은 효소적 돌연변이 검출(EMD)을 이용한 돌연변이 검출을 위하여 분석될 수 있다(Del Tito et al., 1998). EMD는 박테리오파지 위치특이성 재조합촉진효소 T4 엔도뉴클레아제 VII을 이용하는데, 이는 점 돌연변이, 삽입 및 결실로부터 기인하는 염기 쌍 미스매치에 의해 유발된 구조적 왜곡을 검출하고 이를 절단할 때까지 이중 가닥 DNA를 따라 스캔한다. 위치특이성 재조합촉진효소 절단에 의해 형성된 두 개의 짧은 단편의, 예를 들면, 겔 전기영동에 의한, 검출은 돌연변이의 존재를 나타낸다. EMD 방법의 이점은 PCR 반응으로부터 직접적으로 분석된 점 돌연변이, 결실 및 삽입을 확인하는 단일 프로토콜로, 샘플 정제의 필요성을 없애고, 하이브리드화 시간을 단축하며, 신호 대 잡음비를 증가시킨다는 것이다. 최대 20배의 정상적인 DNA 및 최대 4 kb 크기의 단편을 함유하는 혼합 샘플이 분석될 수 있다. 그러나, EMD 스캐닝은 돌연변이 양성 샘플에서 발생하는 특정 염기 변화를 확인하지 않아, 필요한 경우 돌연변이의 정체에 대한 추가적인 서열분석 절차를 필요로 한다. 미국 특허 제5,869,245호에서 증명된 바와 같이, CEL I 효소가 위치특이성 재조합촉진효소 T4 엔도뉴클레아제 VII과

유사하게 사용될 수 있다.

III. 치료 방법

- [0068] **III. 치료 방법**
- [0069] 엑손 21 삽입 등의 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에, 유효량의 포지오티닙, 아파티닙, 또는 구조적으로 유사한 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 암을 치료하거나 암의 진행을 지연시키는 방법이 본 설명에서 추가적으로 제공된다. 대상체는 하나 이상의 HER 엑손 21 돌연변이를 가질 수 있다.
- [0070] 치료를 위해 고려되는 암의 예에는 폐암, 두경부암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 신장암, 골암, 고환암, 자궁경부암, 소화기 암, 림프종, 폐의 중앙전 병변, 결장암, 흑색종 및 방광암이 포함된다. 특정 양태에서, 암은 비소세포 폐암이다.
- [0071] 일부 실시형태에서, 대상체는 포유동물, 예컨대, 영장류, 바람직하게는 고등 영장류, 예컨대, 인간(예컨대, 본 설명에 기술된 장애를 앓는 환자, 또는 앓을 위험이 있는 환자)이다. 한 가지 실시형태에서, 대상체는 면역반응을 증진시킬 필요가 있다. 특정 실시형태에서, 대상체는 면역력이 약화되었거나 면역력 약화의 위험이 있다. 예를 들면, 대상체는 화학요법 치료 및/또는 방사선요법을 받고 있거나 받은 적이 있다. 대안적으로 또는 조합하여, 대상체는 감염의 결과로서 면역력이 약화되었거나 면역력 약화의 위험이 있다.
- [0072] 특정 실시형태는 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체에 대한 (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 알려져 있는) 포지오티닙의 투여에 관한 것이다. 포지오티닙은 HER1, HER2, 및 HER4를 포함한, 티로신 키나제 수용체의 HER 패밀리를 통한 신호 전달을 비가역적으로 차단하는 퀴나졸린 기반의 범-HER 억제제이다. 포지오티닙 또는 구조적으로 비슷한 화합물(예컨대, 미국 특허 제8,188,102호 및 미국 특허 공개번호 제20130071452호; 본 설명에 참조로 포함됨)이 본 방법에 사용될 수 있다.
- [0073] 포지오티닙 하이드로클로라이드 염 등의 포지오티닙은 정제 등으로 경구 투여할 수 있다. 포지오티닙은 4 내지 25mg, 예컨대, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 또는 24mg의 용량으로 투여될 수 있다. 투여는 매일, 격일, 3일마다 또는 매주일 수 있다. 투여는 28일 주기 등의 연속적 스케줄에 수행할 수 있다.
- [0074] 일부 국면에서, T790M 등의 T790 돌연변이를 갖는 대상체에게는 오시메르티닙을 투여할 수 있고, C797S 등의 C797 돌연변이를 갖는 대상체에게는 본원에 기술된 바와 같은 화학요법 및/또는 방사선요법을 투여할 수 있다. 오시메르티닙, 화학요법 및/또는 방사선요법은 단독으로 또는 포지오티닙과 조합하여 투여될 수 있다. 오시메르티닙은 25 내지 100mg, 예컨대, 약 40 또는 80mg의 용량으로 투여될 수 있다. 투여는 매일, 격일, 2일마다, 3일마다, 또는 매주일 수 있다. 오시메르티닙은 정제 등으로 경구 투여할 수 있다.
- [0075] 아파티닙은 10 내지 50mg, 예컨대, 10, 20, 30, 40 또는 50mg의 용량으로 투여될 수 있다. 아파티닙은 매일, 격일, 2일마다, 3일마다 또는 매주 투여될 수 있다. 아파티닙은 정제 등으로 경구 투여할 수 있다.
- [0076] **A. 약제학적 조성물**
- [0077] 엑손 21 삽입 등의 HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 것으로 결정된 대상체를 위한, 포지오티닙 또는 아파티닙 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물 및 제형 또한, 본 설명에 제공된다.
- [0078] 본 설명에 기술된 바와 같은 약제학적 조성물 및 제형은 원하는 정도의 순도를 갖는 활성 성분(예컨대 항체 또는 폴리펩티드)을 1종 이상의 선택적인 약제학적으로 허용되는 담체와 동결건조 제형 또는 수용액의 형태로 혼합하는 것에 의해 제조될 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences 22nd edition, 2012). 약제학적으로 허용되는 담체는 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 일반적으로 무독성이고, 완충제, 예컨대, 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대, 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥사놀; 3-펜타놀; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 당류, 이당류 및 글루코오스, 만노오스 또는 텍스트린을 포함한 기타 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대, EDTA; 당, 예컨대, 수크로오스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염 형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물(예를 들면, Zn-단백질 착물); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 설명의 예시적인 약제학적으로 허용되는 담체에는 간질성

약물 분산제, 예컨대, 가용성 중성-활성 히알루로니다아제 당단백질(sHASEGP), 예를 들면, 인간 가용성 PH-20 히알루로니다아제 당단백질, 예컨대 rHuPH20(힐레넥스(HYLENEX)[®], Baxter International, Inc.)이 추가적으로 포함된다. rHuPH20을 포함한, 특정의 예시적 sHASEGP 및 사용 방법은 미국 특허 공개번호 제2005/0260186호 및 제2006/0104968호에 기술되어 있다. 한 가지 국면에서, sHASEGP는 1개 이상의 추가적인 글리코사미노글리카나아제, 예컨대, 콘드로이티나아제와 조합된다.

[0079] **B. 병용 요법**

[0080] 특정 실시형태에서, 본 실시형태의 조성물 및 방법은 적어도 1종의 추가적인 요법과 조합한 포지오티닙 또는 아파티닙을 포함한다. 추가적인 요법은 방사선요법, 수술(예컨대, 유방 중앙 절제술 및 유방절제술), 화학요법, 유전자요법, DNA 치료법, 바이러스 요법, RNA 치료법, 면역요법, 골수이식, 나노요법, 모노클로날 항체 치료법, 또는 전술한 것들의 조합일 수 있다. 추가적인 요법은 보강제 또는 신 보강제 치료법의 형태일 수 있다.

[0081] 일부 실시형태에서, 추가적인 요법은 소분자 효소적 억제제 또는 항전이제의 투여이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 요법은 부작용 제한제(예컨대, 치료의 부작용의 발생 및/또는 중증도를 줄이고자 한 작용제, 예컨대, 항오심제 등)의 투여이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 요법은 방사선요법이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 요법은 수술이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 요법은 방사선요법과 수술의 조합이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 요법은 감마선 조사이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 요법은 PBK/AKT/mTOR 경로를 표적으로 하는 요법, HSP 억제제, 튜불린 억제제, 세포자멸사 억제제 및/또는 화학예방성 작용제이다. 추가적인 요법은 당해 분야에 공지된 1종 이상의 화학치료제일 수 있다.

[0082] 포지오티닙 또는 아파티닙은 면역 체크포인트 치료법과 같은 추가적인 암 치료법에 대해 이전에, 도중에, 이후에, 또는 다양한 조합으로 투여될 수 있다. 투여는 동시에 내지 수 분, 수 일, 수 주 범위의 간격으로 이루어질 수 있다. 포지오티닙 또는 아파티닙이 추가적인 치료제와는 별도로 환자에 제공되는 실시형태에서, 두 화합물이 여전히 환자에 대해 유리하게 조합된 효과를 발휘할 수 있도록 각각의 전달 시간 사이에는 상당한 기간이 끝나지 않았음을 일반적으로 확실히 할 것이다. 이러한 경우, 서로 약 12 내지 24 또는 72시간 이내에, 더욱 상세하게는 서로 약 6 내지 12시간 이내에 항체요법 및 항암요법을 환자에 제공할 수 있음이 고려된다. 일부 경우, 각각의 투여 사이에 수 일(2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일) 내지 수 주일(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8주)이 경과하는 경우, 치료 기간을 상당히 연장하는 것이 바람직할 수 있다.

[0083] 다양한 실시형태가 이용될 수 있다. 아래의 예에서, 포지오티닙 또는 아파티닙은 "A"이고, 항암요법은 "B"이다:

[0084] 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

[0085] B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A

[0086] B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

[0087] 본 실시형태의 임의의 화합물 또는 치료법의 환자로의 투여는, (만약에 존재한다면) 이러한 작용제의 독성을 고려하여, 이러한 화합물의 투여를 위한 일반적인 프로토콜을 따를 것이다. 따라서, 일부 실시형태에서는 병용 요법이 원인이 되는 독성을 모니터링하는 단계가 있다.

[0088] **1. 화학요법**

[0089] 다양한 화학요법제가 본 실시형태에 따라 사용될 수 있다. 용어 "화학요법"은 암을 치료하기 위한 약물의 사용을 지칭한다. "화학요법제"는 암 치료에 투여되는 화합물 또는 조성물을 의미하고자 사용된다. 이들 작용제 또는 약물은 세포 내에서의 활성 모드, 예를 들면, 세포 주기에 영향을 미치는지 여부 및 어느 단계에서 미치는지에 의해 분류된다. 대안적으로, 작용제는 DNA를 직접적으로 가교결합하는 능력, DNA에 삽입되는 능력, 또는 핵산 합성에 영향을 미침으로써 염색체 및 유사분열 이상을 유도하는 능력에 기초하여 특징지어질 수 있다.

[0090] 화학요법제의 예에는 알킬화제, 예를 들면, 티오테과 및 사이클로스포스파미드; 알킬 설포네이트, 예를 들면, 부설관, 임프로설관 및 피포설관; 아지리딘, 예를 들면, 벤조도파, 카보퀸, 메투레도파 및 우레도파; 에틸렌이민 및, 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포라미드 및 트리메틸올로멜라민을 포함한, 메틸아멜라민; 아세토게닌(특히, 불라타신 및 불라타시논); 캄프토테신(합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(이의 아도젤레신, 카젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토포신(특히, 크립토포신 1 및 크립토포신 8); 돌라스타틴; 듀오카마이신(합성 유사체인 KW-2189 및 CBI-TM1 포함), 엘루테로빈; 판크라티스타틴; 사르코디티인; 스폰기스타틴; 질소 머스타드, 예를 들면, 클로람부실, 클

로르나파진, 클로로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로로에타민, 메클로로에타민 옥사이드 하이 드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 및 우라실 머스타드; 니트로 스우레아, 예를 들면, 카무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님누스틴; 항생제, 예를 들면, 에네디인 항생제(예컨대, 칼리체아미신, 특히 칼리체아미신 감마II 및 칼리체아미신 오메가II; 디네미신 A를 포함한 디네미신; 비스포스포네이트, 예를 들면, 클로드로네이트; 에스페라미신; 및 네오카지노스타틴 발색 단 및 관련 발색단단백질 에네디인 항생제 발색단, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라르니신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신(모르폴리노-독소루비신, 시 아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 예소루비신, 이다 루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예를 들면 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플 로마이신, 포트피로마이신, 푸로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 및 조루비신; 항대사제, 예를 들면, 메토티렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체, 예를 들면, 데노프테린, 프테로프테린, 및 트리메트렉세이트; 푸린 유사체, 예를 들면, 플루다라빈, 6-메르캅토푸린, 티아미프린, 및 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예를 들면, 안시트라빈, 아자시티 딘, 6-아자우리딘, 카모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 및 플록수리딘; 안드로겐, 예를 들면, 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 및 테스톨락톤; 항부 신물(anti-adrenals), 예를 들면, 미토탄 및 트릴로스탄; 폴산 보충물, 예를 들면, 프롤린산; 아세글라톤; 알도 포스파미드 글리코시드; 아미노레블린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데 포파민; 데메콜신; 디아지퀸; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질화갈륨; 하이드록 시우레아; 렌티난; 로니다이인; 메이탄시노이드, 예를 들면, 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라지드; 프로 카바진; PSK 폴리사카라이드 복합체; 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지퀸; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센(특히, T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈 데신; 다카바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미톨락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노사이드("Ara-C"); 시클 로포스파미드; 탁소이드, 예를 들면, 파클리탁셀 및 도세탁셀 켐시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토푸린; 백금 배 위 착물, 예를 들면, 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카보플라틴; 빈블라стин; 백금; 에토포시드(VP-16); 이포스 파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테 린; 크셀로다; 이반드로네이트; 이리노테칸(예: CPT-11); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르 니틴(DMFO); 레티노이드, 예를 들면, 레티노산; 카페시타빈; 카보플라틴, 프로카바진, 폴리코마이신, 켐시타빈, 나벨바인, 파네실-단백질 전달효소 억제제, 트랜스백금, 및 이들 중 임의의 것의 약제학적으로 허용되는 염, 산, 또는 유도체가 포함된다.

[0091] **2. 방사선요법**

[0092] DNA 손상을 유발하고 널리 사용되었던 다른 인자들에는 일반적으로 γ -선, X-선 및/또는 종양 세포로의 방사성 동위원소의 지시된 전달로 알려져 있는 것들이 포함된다. DNA 손상 인자의 다른 형태, 예를 들면, 마이크로웨이 브, 양성자 빔 조사(미국 특허 제5,760,395호 및 제4,870,287호) 및 UV-조사 또한, 고려된다. 이들 인자 모두가 DNA, DNA의 전구체, DNA의 복제 및 수복, 그리고 염색체의 조립 및 유지에 대한 광범위한 손상에 영향을 미칠 가능성이 매우 높다. X-선의 투여량 범위는 장시간 동안(3 내지 4주) 50 내지 200뢴트겐의 1일 용량 내지 2000 내지 6000뢴트겐의 단일 용량이다. 방사성 동위원소의 투여량 범위는 매우 다양하고, 동위원소의 반감기, 방출 된 방사선의 강도 및 유형, 그리고 신생물 세포에 의한 흡수에 좌우된다.

[0093] **3. 면역요법**

[0094] 당업자는 추가적인 면역요법이 실시형태의 방법과 조합하여 또는 함께 사용될 수 있음을 이해할 것이다. 암 치 료의 맥락에서, 면역요법은 일반적으로, 종양 세포를 표적화하고 파괴하기 위하여 면역 이펙터 세포 및 분자의 사용에 의존한다. 리툭시맙(리툭산(RITUXAN®))은 이러한 예이다. 면역 이펙터는, 예를 들면, 종양 세포의 표면 상의 일부 마커에 대해 특이적인 항체일 수 있다. 항체는 단독으로 치료법의 이펙터로서 작용할 수 있거나, 세 포 사멸에 실제로 영향을 미치는 다른 세포를 모집할 수 있다. 항체는 또한, 약물 또는 독소(화학치료제, 방사 선택중, 리신 A 쇄, 콜레라 독소, 백일해 독소 등)에 접합될 수 있고, 표적화제로서 기능할 수 있다. 대안적으 로, 이펙터는 종양 세포 표적과 직접 또는 간접적으로 상호 작용하는 표면 분자를 동반하는 림프구일 수 있다. 다양한 이펙터 세포는 세포독성 T 세포 및 NK 세포를 포함한다.

[0095] 항체-약물 접합체는 암 치료제 개발의 획기적인 접근법으로서 등장하였다. 암은 전 세계적으로 주요 사망 원인

중 하나이다. 항체-약물 접합체(ADC)는 세포-사멸 약물에 공유 결합되는 모노클로날 항체(mAb)를 포함한다. 이러한 접근법은 항원 표적에 대한 고 특이성의 MAb를 매우 강력한 세포독성제와 조합하여, 탑재물(약물)을 농축된 항원 수준의 종양 세포들로 전달하는 "보강된(armed)" MAb를 생성한다. 약물의 표적화 전달은 또한, 정상 조직에서 약물의 노출을 최소화하여, 독성을 감소시키고 치료 지수를 개선한다. FDA의 2종의 ADC 약물 애드세트리스(ADCETRIS[®])(브렌투시맙 베도틴)(2011년) 및 캐드실라(KADCYLA[®])(트라스투주맙 엠탄신 또는 T-DM1)(2013년)에 대한 승인은 이 접근법이 유효함을 증명하였다. 30종이 넘는 ADC 약물 후보가 현재 암 치료를 위한 다양한 단계의 임상 시험 중에 있다(Leal et al., 2014). 항체 조작 및 링커-탑재물 최적화가 더욱 더 성숙해짐에 따라, 새로운 ADC의 발견 및 개발은 이 접근법에 적합한 새로운 표적의 확인 및 검증, 그리고 표적화 mAb의 생성에 점점 더 의존하고 있다. ADC 표적에 대한 2가지 기준은 종양 세포에서의 상향조절된/높은 수준의 발현 및 활발한 내재화이다.

[0096] 면역요법의 한 가지 국면에서, 종양 세포는 쉽게 표적화될 수 있는, 즉, 다수의 다른 세포들에 존재하지 않는, 일부 마커를 보유하여야 한다. 많은 종양 마커들이 존재하며, 이들 중 임의의 것은 본 발명의 실시형태의 맥락에서 표적화에 적합할 수 있다. 일반적인 종양 마커에는 CD20, 암배아 항원, 티로시나아제(p97), gp68, TAG-72, HMFG, 시알릴 루이스 항원, MucA, MucB, PLAP, 라미닌 수용체, erb B, 및 p15가 포함된다. 면역요법의 대안적 양태는 면역 자극 효과와 항암 효과를 조합하는 것이다. 다음을 비롯한 면역 자극 분자 또한, 존재한다: 사이토카인, 가령, IL-2, IL-4, IL-12, GM-CSF, 감마-IFN, 케모카인, 가령, MIP-1, MCP-1, IL-8, 및 성장 인자, 가령, FLT3 리간드.

[0097] 면역요법의 예에는, 면역 보강제, 예컨대, 소결핵균 (*Mycobacterium bovis*), 열대 열원충(*Plasmodium falciparum*), 디니트로클로로벤젠 및 방향족 화합물(미국 특허 제5,801,005호 및 제5,739,169호; Hui and Hashimoto, 1998; Christodoulides et al., 1998); 사이토카인 요법, 예컨대, 인터페론 α , β 및 γ , IL-1, GM-CSF, 및 TNF(Bukowski et al., 1998; Davidson et al., 1998; Hellstrand et al., 1998); 유전자요법, 예컨대, TNF, IL-1, IL-2, 및 p53(Qin et al., 1998; Austin-Ward and Villaseca, 1998; 미국 특허 제5,830,880호 및 제5,846,945호); 및 모노클로날 항체, 예컨대, 항-CD20, 항-강글리오시드 GM2, 및 항-p185(Hollander, 2012; Hanibuchi et al., 1998; 미국 특허 제5,824,311호)가 포함된다. 본 설명에 기술된 항체 요법과 함께 1종 이상의 항암 요법이 사용될 수 있음이 고려된다.

[0098] 일부 실시형태에서, 면역요법은 면역 체크포인트 억제제일 수 있다. 면역 체크포인트는 신호를 높이거나(예를 들면 공동 자극 분자) 또는 신호를 낮춘다. 면역 체크포인트 봉쇄에 의해 표적화될 수 있는 억제성 면역 체크포인트에는 아데노신 A2A 수용체(A2AR), B7-H3(CD276으로도 알려져 있음), B 및 T 림프구 감쇠자(BTLA), 세포독성 T-림프구 관련 단백질 4(CTLA-4, CD152로도 알려져 있음), 인돌아민 2,3-디옥시게나아제(IDO), 살해-세포 면역 글로불린(KIR), 림프구 활성화 유전자-3(LAG3), 예정세포사 1(PD-1), T-세포 면역 글로불린 도메인 및 뮤신 도메인 3(TIM-3) 및 T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제인자(VISTA)가 포함된다. 특히, 면역 체크포인트 억제제는 PD-1 축 및/또는 CTLA-4를 표적화한다.

[0099] 면역 체크포인트 억제제는 소분자, 리간드 또는 수용체의 재조합 형태와 같은 약물일 수 있거나, 특히 항체, 예를 들면 인간 항체이다(예를 들면, 국제 특허 공개 WO2015016718; Pardoll, *Nat Rev Cancer*, 12(4): 252-64, 2012; 둘은 본 설명에 참조로 포함됨). 면역 체크포인트 단백질 또는 이의 유사체의 공지된 억제제가 사용될 수 있으며, 특히 키메라화, 인간화 또는 인간 형태의 항체가 사용될 수 있다. 당업자가 알게 되는 바와 같이, 대안적 및/또는 동등한 명칭이 본 개시에 언급된 일부 항체에 대해 사용되고 있을 수 있다. 이러한 대안적 및/또는 동등한 명칭은 본 발명의 맥락에서 서로 교환 가능하다. 예를 들면, 람브롤리주맙은 대안적인 및 동등한 명칭 MK-3475 및 펄브롤리주맙 하에 알려져 있다.

[0100] 일부 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 PD-1의 리간드 결합 파트너에 대한 PD-1의 결합을 억제하는 분자이다. 특정한 양태에서, PD-1 리간드 결합 파트너는 PDL1 및/또는 PDL2이다. 또 다른 실시형태에서, PDL1 결합 길항제는 PDL1의 리간드 결합 파트너에 대한 PDL1의 결합을 억제하는 분자이다. 특정한 양태에서, PDL1 결합 파트너는 PD-1 및/또는 B7-1이다. 또 다른 실시형태에서, PDL2 결합 길항제는 PDL2의 리간드 결합 파트너에 대한 PDL2의 결합을 억제하는 분자이다. 특정한 양태에서, PDL2 리간드 결합 파트너는 PD-1이다. 길항제는 항체, 이의 항원 결합 단편, 면역부착소, 융합 단백질, 또는 올리고펩티드일 수 있다. 예시적인 항체는 미국 특허 제8,735,553호, 제8,354,509호, 및 제8,008,449호에 기술되어 있으며, 모두 본 설명에 참조로 포함된다. 모두 본 설명에 참조로 포함됨, 미국 특허 공개 번호 제US20140294898호, 제US2014022021호, 및 제US20110008369호에 기술된 바와 같이, 본 설명에 제공된 방법에 사용하기 위한 다른 PD-1 축 길항제는 당해 분야에 공지되어 있

다.

[0101] 일부 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 항-PD-1 항체(예를 들면 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체)이다. 일부 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 니볼루맵, 팜브롤리주맵 및 CT-011로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 면역부착소(예를 들면 불변 영역(예를 들면 면역 글로불린 서열의 Fc 영역)에 융합된 PDL1 또는 PDL2의 세포 외 또는 PD-1 결합 부분을 포함하는 면역부착소)이다. 일부 실시형태에서, PD-1 결합 길항제는 AMP-224이다. MDX-1106-04, MDX-1106, ONO-4538, BMS-936558, 및 옵디보(OPDIVO®)로도 알려져 있는 니볼루맵은 WO2006/121168에 기재된 항-PD-1 항체이다. MK-3475, 머크(Merck) 3475, 람브롤리주맵, 키트루다(KEYTRUDA®), 및 SCH-900475로도 알려져 있는 팜브롤리주맵은 WO2009/114335에 기재된 항-PD-1 항체이다. hBAT 또는 hBAT-1로도 알려져 있는 CT-011은 WO2009/101611에 기재된 항-PD-1 항체이다. B7-DCIg로도 알려져 있는 AMP-224는 WO2010/027827 및 WO2011/066342에 기재된 PDL2-Fc 융합 가용성 수용체이다.

[0102] 본 설명에 제공된 방법에서 표적화될 수 있는 또 다른 면역 체크포인트는 CD152로도 알려져 있는 세포독성 T-림프구 관련 단백질(CTLA-4)이다. 인간 CTLA-4의 완전한 cDNA 서열은 Genbank 접근 번호 L15006을 갖는다. CTLA-4는 T 세포의 표면 상에서 발견되며, 항원 제시 세포 표면의 CD80 또는 CD86에 결합될 때 "오프" 스위치로서 작용한다. CTLA4는, 헬퍼 T 세포의 표면상에서 발견되고 T 세포로 억제 신호를 전송하는 면역글로불린 슈퍼패밀리 구성원이다. CTLA4는 T-세포 공동자극 단백질 CD28과 유사하며, 두 분자는 모두 항원 제시 세포 상의 CD80 및 CD86(각각 B7-1 및 B7-2라 지칭되기도 함)에 결합한다. CTLA4는 억제 신호를 T 세포로 전송하는 반면 CD28은 자극 신호를 전송한다. 세포 내 CTLA4는 또한, 조절성 T 세포에서 발견되며, 그의 기능에 중요할 수 있다. T 세포 수용체 및 CD28을 통한 T 세포 활성화는 B7 분자에 대한 억제 수용체인 CTLA-4의 증가된 발현을 유도한다.

[0103] 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 억제제는 항-CTLA-4 항체(예를 들면 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체), 이의 항원 결합 단편, 면역부착소, 융합 단백질 또는 올리고펩티드이다.

[0104] 본 방법에 사용하기에 적합한 항-인간-CTLA-4 항체(또는 이로부터 유래된 VH 및/또는 VL 도메인)는 당해 분야에 주지된 방법을 이용하여 생성될 수 있다. 대안적으로, 당해 분야에 인정된 항-CTLA-4 항체가 이용될 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 제8,119,129호, 국제 특허 공개공보 제WO 01/14424호, 제WO 98/42752호 및 제WO 00/37504호(CP675,206, 트레멜리무맵으로도 알려져 있음; 이전에는 티실리무맵); 미국 특허 제6,207,156호; Hurwitz et al., 1998; Camacho et al., 2004; 및 Mokyr et al., 1998에 개시된 항-CTLA-4 항체가 본 설명에 개시된 방법에 사용될 수 있다. 전술된 간행물 각각의 교시는 본 설명에 참조로 포함된다. CTLA-4에 대한 결합에 대해 이러한 당해 분야에 인정된 항체들 중 임의의 것 과 경쟁하는 항체도 사용될 수 있다. 예를 들면, 인간화 CTLA-4 항체가 국제 특허 출원 번호 제WO2001014424호, 및 제WO2000037504호, 및 미국 특허 제8,017,114호에 기술되어 있으며; 모두 본 설명에 참조로 포함된다.

[0105] 예시적 항-CTLA-4 항체는 10D1, MDX-010, MDX-101, 및 예르보이(Yervoy®)로도 공지되어 있는 이필리무맵 또는 이의 항원 결합 단편 및 변이체이다(예컨대, 제WO 01/14424호 참조). 다른 실시형태에서, 항체는 이필리무맵의 중쇄 및 경쇄 CDR 또는 VR을 포함한다. 따라서, 한 가지 실시형태에서, 항체는 이필리무맵의 VH 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인, 및 이필리무맵의 VL 영역의 CDR1, CDR2 및 CDR3 도메인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 항체는 위에 언급된 항체와 동일한 CTLA-4 상의 에피토프와의 결합에 대해 경쟁하고/경쟁하거나 이에 결합한다. 또 다른 실시형태에서, 항체는 위에 언급된 항체와 적어도 약 90% 가변 영역 아미노산 서열 동일성(예를 들면 이필리무맵과 적어도 약 90%, 95%, 또는 99% 가변 영역 동일성)을 갖는다.

[0106] CTLA-4를 조절하기 위한 다른 분자에는 미국 특허 제5,844,905호, 제5,885,796호 및 국제 특허 출원 번호 제WO1995001994호 및 제WO1998042752호(모두 본 설명에 참조로 포함됨)에 기재된 바와 같은 CTLA-4 리간드 및 수용체, 및 본 설명에 참조로 포함된 미국 특허 제8,329,867호에 기재된 바와 같은 면역부착소가 포함된다.

[0107] **4. 수술**

[0108] 암을 보유한 사람들 중 대략 60%는 일부 유형의 수술을 받게 될 것이며, 이러한 수술에는 예방적, 진단적 또는 병기 결정, 치유 및 완화 수술을 포함한다. 치유 수술은 암 조직의 전부 또는 일부를 물리적으로 제거, 절제 및/또는 파괴하는 절제술을 포함하며 다른 요법, 가령, 본 실시형태의 치료, 화학요법, 방사선요법, 호르몬요법, 유전자요법, 면역요법 및/또는 대체 요법과 함께 사용될 수 있다. 종양 절제술은 종양의 적어도 일부를 물리적으로 제거하는 것을 지칭한다. 종양 절제술 이외에도, 수술에 의한 치료는 레이저 수술, 냉동수술, 전기수술, 및 현미경으로 제어되는 수술(모스 수술)을 포함한다.

[0109] 암 세포, 조직, 또는 종양의 일부 또는 모두를 절제 시, 신체에 공동이 형성될 수 있다. 치료는 관류, 직접 주

입, 또는 추가적인 항암 요법을 이용한 영역의 국소 적용에 의해 이루어질 수 있다. 이러한 치료는, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일마다, 또는 1, 2, 3, 4, 및 5 주마다 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12개월마다 반복될 수 있다. 이러한 치료는 다양한 투여량으로 이루어질 수도 있다.

[0110] **5. 기타 약제**

[0111] 치료의 치료 효능을 개선하기 위하여 다른 작용제가 본 실시형태의 특정 양태와 조합하여 사용될 수 있음이 고려된다. 이러한 추가적인 작용제에는 세포 표면 수용체 및 GAP 연결부의 상향 조절에 영향을 미치는 작용제, 세포증식억제제 및 분화제, 세포 부착 억제제, 세포사멸 유도인자에 대한 이상증식 세포의 민감도를 증가시키는 작용제, 또는 기타 생물학적 작용제가 포함된다. GAP 연결부의 수를 상승시킴에 의한 세포 간 신호전달 증가는 이웃한 이상증식 세포 모집단에 대한 항-이상증식 효과를 증가시킬 것이다. 다른 실시형태에서, 세포증식억제제 또는 분화제는 치료의 항-이상증식 효능을 개선하기 위하여 본 실시형태의 특정 양태와 조합하여 사용될 수 있다. 본 실시형태의 효능을 개선하기 위하여 세포 부착 억제제가 고려된다. 세포 부착 억제제의 예는 국소 부착 키나제(FAK) 억제제 및 로바스타틴이다. 치료 효능을 개선하기 위하여 이상증식 세포의 세포자멸사에 대한 감수성을 증가시키는 다른 작용제, 가령, 항체 c225가, 본 실시형태의 특정 양태와 조합하여 사용될 수 있음이 추가적으로 고려된다.

[0112] **IV. 키트**

[0113] 또한, 본 설명에 개시된 것들과 같은 HER2 엑손 21 돌연변이를 검출하기 위한 키트가 본 개시의 범위 내에 있다. 이러한 키트의 예는 엑손 21 돌연변이 특이적 프라이머 세트를 포함할 수 있다. 이 키트는 본 설명에 기술된 특이적인 HER2 엑손 21 돌연변이의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 프라이머 사용 설명서를 더 포함할 수 있다. 이 키트는 암 환자로부터의 샘플에서 본 설명에 기술된 HER2 엑손 21 돌연변이의 양성 확인이 티로신 키나제 억제제 포지오티닙 또는 아파티닙 또는 구조적으로 비슷한 억제제에 대한 감수성을 나타낸다고 지시하는, 진단 목적을 위한 설명서를 더 포함할 수 있다. 이 키트는 암 환자로부터의 샘플에서 본 설명에 기술된 엑손 21 돌연변이의 양성 확인이 환자가 포지오티닙, 아파티닙, 또는 구조적으로 비슷한 억제제로 치료되어야 함을 나타낸다고 지시하는 설명서를 더 포함할 수 있다.

[0114] **V. 실시예**

[0115] 다음 실시예는 본 발명의 바람직한 실시형태를 증명하기 위하여 포함된다. 당업자는 다음의 실시예에 개시된 기술들이 본 발명의 실시에서 잘 기능하기 위해 발명자에 의해 발견된 기술들을 나타내며, 따라서 이의 바람직한 실시 방식을 구성하는 것으로 간주될 수 있음을 알아야 한다. 그러나, 당업자는 본 개시의 관점에서 다수의 변화가 본 발명의 사상 및 범위로 벗어남이 없으면서, 개시되고 여전히 유사한 결과를 획득하는 특정한 실시형태에서 이루어질 수 있음을 알아야 한다.

[0116] **실시예 1 - HER2 엑손 21 돌연변이를 갖는 암 세포에 대한 약물의 확인**

[0117] **HER2 돌연변이는 방광, 위, 및 담관의 암에서 가장 빈번하게 발생한다:** 암 유형에 걸친 HER2 돌연변이의 다양성을 이해하기 위해, cBioPortal, MD 앤더슨 암 센터, 및 Foundation Medicine의 코호트, 및 Guardant Health의 cfDNA 코호트를 포함하는 몇몇 데이터베이스에 문의했다. 모든 데이터베이스에 걸쳐, 모든 비-동위원 HER2 돌연변이가 25개의 상이한 암 유형 내에서 분석되었다(표 2). HER2 돌연변이에 대한 가중 평균 빈도를 계산했다. AACR GENIE 데이터베이스(Meric-Bernstein et al, 2018)에서 관찰된 것과 유사하게, HER2 돌연변이는 방광(8.3%), 담관(5.3%) 및 위(4.5%)의 암에서 가장 빈번하게 발생했고(도 1A); HER2 엑손 20 돌연변이는 소장(1.8%), 폐(1.5%) 및 유방(0.9%)의 암에서 가장 빈번하게 발생했다(도 1B).

[0118] **HER2 돌연변이는 HER2의 티로신 키나제 도메인에서 가장 빈번하게 발생하고, 돌연변이의 핫스팟은 악성종양에 의해 상이하다:** 이어서, cBioPortal 및 MD 앤더슨에서 보고된 HER2 수용체의 다양한 영역 내에서 돌연변이의 빈도를 분석했다. 모든 암 유형에 걸쳐, HER2 돌연변이는 엑손 20(20%), 엑손 19(11%) 및 엑손 21(9%)의 돌연변이를 포함하는 티로신 키나제 도메인(46%)에서 가장 빈번하게 발생했다(도 2A). 또한, 세포외 도메인 돌연변이는 HER2 돌연변이의 37%를 점유했다. 질문된 모든 암들에 걸쳐, 가장 일반적 HER2 돌연변이는 p.S310F/Y(11.0%), p.Y772_A775dupYVMA(5.7%), p.L755p/S(4.6%), p.V842I(4.4%) 및 p.V777L/M(4.0%)였다(도 2E). 폐암에서, HER2 돌연변이의 대부분은 엑손 20 내에서 발생하고(48%), Y772_A775dupYVMA는 모든 HER2 돌연변이의 34%를 점유한다(도 2B, 2F). 유방암에서, HER2 돌연변이의 대부분은 엑손 19 내에서 발생하고(37%), L755 돌연변이는 HER2 돌연변이의 22%에서 가장 일반적이었다(도 2C). 그러나, 하나의 변이체가 우세한 폐암과는 달리, 유방암에서는, 엑손 19 돌연변이 중에서 보다 많은 돌연변이 다양성이 있었다(도 2G). 결장직장암에서는, HER2 돌연변이는 엑손

21(23%) 및 세포의 도메인(23%)에서 가장 빈번하게 발생하고, 엑손 21의 V842I 변이체는 가장 일반적(19%)이었다(도 2D, 2H).

[0119] **Y772dupYVMA는 암 유형 전반에 걸쳐 가장 일반적인 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이다:** HER2 엑손 20 돌연변이는 HER2의 티로신 키나제 도메인 내에서 가장 일반적으로 발생하는 돌연변이이고(모든 HER2 돌연변이의 16% 및 티로신 키나제 도메인 돌연변이의 43%), HER2 엑손 20 삽입 돌연변이는 임상적 과제이다. 엑손 20 삽입물의 다양성 및 유행율을 이해하기 위해, HER2 엑손 20 삽입 서열의 빈도를 cBioportal, MD 앤더슨, 및 Guardant Health 데이터베이스의 암 유형에 따라 분석했다. Y772dupYVMA 삽입물은 가장 일반적 HER2 엑손 20 삽입물이고, 모든 HER2 엑손 20 삽입물의 70%를 구성하고, p.G778dupGSP(14%) 및 p.G.776del insVC(9%) 삽입물은 제2 및 제3으로 가장 빈번하게 발생했다(도 9A). NSCLC(N = 362)에서의 엑손 20 삽입 돌연변이는 엑손 20 삽입 돌연변이(도 9B)에서 최대의 다양성을 나타내고, 유방암(N = 30)에서 엑손 20 삽입 돌연변이는 3개의 상이한 변이체에서 삽입 서열의 다양성을 거의 나타내지 않는 것을 보고되었다(도 9C). 추가의 희귀 삽입 돌연변이가 다른 암 유형 전체에 걸쳐 관찰되었지만, Y772 및 G778에서의 중복은 분석되는 모든 암 유형에서 가장 빈번하게 발생했다(도 9D).

[0120] **빈번하게 검출된 HER2 변화는 돌연변이를 활성화한다:** 일반적 HER2 돌연변이의 기능적 영향을 평가하기 위해, Ba/F3 세포를 안정하게 발현시켜, 엑손 19, 20 및 21에서 가장 빈번하게 검출된 HER2 돌연변이를 나타냈다. 시험된 16개의 HER2 돌연변이는 모두 Ba/F3 세포의 IL-3 독립성 생존율을 유도하는 것으로 밝혀졌다(도 3A 내지 3C). 추가로, 이들 16개 HER2 돌연변이의 발현은 포스포릴화된 HER2의 발현을 초래하고(도 10A), 이들 돌연변이가 수용체 활성화를 초래하는 것을 나타낸다.

[0121] **포지오티닙은 시험된 가장 강력한 TKI이고, 시험관내에서 가장 일반적인 HER2 돌연변이를 억제했다:** 최근의 보고는 HER2 돌연변이 질환의 사전-임상적 모델에서 공유 퀴나졸린아민-기반 TKI(즉, 아파티닙, 다코미티닙, 포지오티닙, 네라티닙)의 효능을 강조하고 있지만, 아파티닙, 다코미티닙 및 네라티닙의 임상적 연구에서는 ORR이 낮고, 환자의 결과에서 암-특이적 및 변이체-특이적 차이가 낮았다. 가장 일반적으로 검출된 HER2 변이체 전체에 걸친 약물 감수성을 체계적으로 평가하기 위해, HER2 돌연변이 Ba/F3 세포의 패널을 11개의 공유 및 비-공유 결합 EGFR 및 HER2 TKI에 대해 스크리닝했다. HER2 돌연변이는 비공유결합 억제제, 라파티닙 및 사파티닙에 대해 강력한 내성을 나타냈다(도 4A). 공유결합 TKI인 오시메르티닙, 이브루티닙 및 나자르티닙은 엑손 20 돌연변이를 발현하는 세포의 세포 생존율을 억제하는데 효과적이지 않았고, 그러나 이들 TKI는 D769 변이체를 발현하는 세포에 대해 활성을 나타냈다(도 4A). 비교하면, 공유결합, 퀴나졸린아민-기반 TKI, 아파티닙, 네라티닙, 다코미티닙, 타르록소티닙-TKI 및 포지오티닙은 3개의 엑손 모두에 걸쳐 HER2 돌연변이에 대해 억제 활성을 나타냈다(도 4A). 시험된 모든 HER2 변이체 및 TKI 중에서, 포지오티닙은 평균 IC₅₀이 가장 낮고, 아파티닙, 네라티닙 또는 타르록소티닙-TKI보다도 세포 생존율의 저하에 유의적으로 효과적이었다(도 4B). 추가로, 포지오티닙은 HER2 엑손 19 및 20 돌연변이에 대해, 아파티닙, 네라티닙 또는 타르록소티닙-TKI 중의 어느 것보다도 유의적으로 효과적이었지만, 엑손 21 돌연변이의 평균 IC₅₀에 유의차는 없었고, 이는 돌연변이 장소가 약물 결합에 영향을 미치는 것을 시사한다. 추가로, 엑손 19 내에서, L755S 및 L755P 변이체는 시험된 모든 TKI에 걸쳐 약물 감수성에 유의차가 있고(도 4F), 이는 이 부위에서의 특정 아미노산 변화가 약물 결합 친화성에 영향을 미치는 것을 나타낸다.

[0122] **HER2 돌연변이 부위 및 아미노산 변화는 약물 결합 친화성에 영향을 미친다:** 돌연변이의 위치 및 아미노산 변화가 약물 결합 친화성 및 억제 효능에 어떻게 영향을 미칠 수 있는지를 추가로 이해하기 위해, 분자 동역학 시뮬레이션을 사용하여, 이들 돌연변이가 HER2 키나제 도메인의 구조 및 동태에 어떻게 영향을 미치는지를 조사했다. L755S, L755P, Y772dupYVMA 및 V777L HER2 돌연변이의 분자 모델(도 11A)은 공개되어 있는 X선 구조(PDB 3PPO)를 주형으로서 사용하여 작제했고, 가속된 분자 동역학에 제공하여 단백질 배좌 샘플링을 증가시켰다. 특히, P-루프 및 α-C-헬릭스의 위치와 관련하여, 샘플링된 단백질 배좌의 범위는, 이들 HER2 돌연변이 사이에서 상이했다. 특히 α-C-헬릭스의 배좌의 지속시간이 "인"(보다 작은 결합 포켓을 갖는 활성 배좌) 및 "아웃"(보다 긴 결합 포켓을 갖는 불활성 배좌) 사이에서 변화하는 α-C-헬릭스 영역에서는 엑손 20 돌연변이 사이에서도 차이가 명확하게 나타났다. V777L 돌연변이는 "아웃" 배좌를 대량으로 샘플링하고, Y772dupYVMA 돌연변이는 "인" 배좌 및 "아웃" 배좌 둘 다를 샘플링했다(도 5A). 전체로서, 배좌 상태에서 이들 차이에 의해, Y772dupYVMA 돌연변이는 V777L 돌연변이보다 10배 빈번하게 "인" 배좌로 존재하고(도 5B), 평균하여, V777L과 비교하여 Y772dupYVMA의 결합 포켓 크기는 보다 작아졌다(도 5C 및 11B). 또한, 네라티닙은 α-C-헬릭스로 지향된 피리딜 환을 함유하기 때문에, Y772dupYVMA의 결합 포켓이 보다 작은 것은, V777L과 비교하여 Y772dupYVMA에 대한 네라티닙의 효능이 약해지는 원인이 될 수 있다.

[0123] HER2 돌연변이 결합 포켓 용적의 추가의 분석(도 10B)는 동일한 잔기에서의 돌연변이가 단백질 배좌에 극적으로 상이한 영향을 미칠 수 있음을 입증했다. 특히, L755P 돌연변이의 프롤린 잔기는 L755 및 V790 사이에서 $\beta 3$ 쇠 및 $\beta 5$ 쇠 사이의 골격 수소 결합을 각각 절단하는 수소 결합 공여체를 결여한다. 이들 2개의 β 쇠 사이의 안정화의 결여는 β -시트의 불안정화 및 키나제 힌지 영역에서 구조적 재정렬을 초래했다(도 5D). 특히, L755P의 L800 잔기가 활성 부위로 돌출하고, 포켓 크기를 대폭 축소시켰다. $\beta 3$ 쇠 배좌의 변화에 의해, P-루프도 내측으로 붕괴하고, 포켓 용적이 추가로 감소하고, 이 돌연변이는 대부분의 TKI에 대한 감수성이 저하했다. 추가로, 힌지 이동성의 변화도 키나제 활성화에 관여할 수 있다. L755P 돌연변이 확인에서 이들 명확한 변화는, 야생형 HER2와 보다 유사한 배좌 및 포켓 용적 프로파일을 갖는 L755S 돌연변이의 거동과는 대조적이었다(도 11B).

[0124] **HER2 돌연변이 인간 암 세포주는 포지오티닙에 대한 감수성의 증가를 나타냈다:** HER2 억제제를 시험하는 임상 연구에서는, 약제 감수성에서 암 유형 특이적 차이가 밝혀졌다[참조: Hyam et al., 2018]. 공유 퀴나졸린아민-기반 TKI가 HER2 돌연변이 질환의 모델에서 활성을 갖는지를 판단하기 위해, EGFR/HER2 TKI의 패널을 인간 암 세포주에서 시험했다. 사전-종양성 MCF10A 유선 상피 세포에 HER2 엑손 20 돌연변이를 형질감염시키고, 12개의 EGFR/HER2 TKI에 대한 시험관내 감수성을 평가했다. G776del insVC, Y772dupYVMA 및 G778dupGSP HER2 돌연변이를 발현하는 MCF10A 세포는 포지오티닙에 대해 가장 감수성이 높았고, IC₅₀ 값은 각각 12nM, 8.3nM 및 4.5nM이었다(도 6A 내지 6C). 비교하면, 타르록소티닙-TKI 및 네라티닙은 각각 21nM 및 150nM의 평균 IC₅₀ 값을 가졌고(도 6A-C), 포지오티닙이 각각 타르록소티닙-TKI 및 네라티닙보다도 2.6배 및 19배 강력한 것을 나타낸다(p<0.001). 추가로, MCF10A HER2 G776del insVC 세포를 포지오티닙 및 네라티닙으로 웨스턴 블롯하면, 네라티닙에서는 아닌 포지오티닙이 10nM에서 p-HER2를 완전히 억제하는 것으로 밝혀졌다(도 12A). 야생형(WT) HER2는 Ba/F3 세포를 형질전환하여 IL-3과는 독립적으로 성장하지 않기 때문에, MCF10A 세포를 사용하여, WT HER2와 비교된 돌연변이 HER2에 대한 TKI의 선택성을 결정했다. 이 목적을 위해, 선택성 지수(SI, IC₅₀ 값 돌연변이/IC₅₀ 값 WT)가 각 억제제에 대해 계산되고, 포지오티닙이 MCF10A 세포주(SI=0.028)에서 시험된 가장 돌연변이 선택적 TKI이고, 이어서 피로티닙(SI=0.063) 및 타르록소티닙(SI=0.111)이었다(도 6D). Ba/F3 세포를 사용하여 수득된 데이터(도 3C)와 일치하여, HER2 엑손 19 돌연변이 결합직장암(CW-2)의 모델에서, 포지오티닙, 타르록소티닙-TKI 및 네라티닙 사이의 감도의 차이는 유의적이었지만 덜 극적이었고(p=0.02 및 p=0.0004), 평균 IC₅₀ 값은 각각 3.19nM, 4.24nM 및 68.8nM이었다(도 6E). 추가로, CW-2 결합직장 세포의 이중이식 마우스 모델에서, 21일차에, 포지오티닙(5mg/kg) 치료된 동물은 비히클 치료 그룹과 비교하여 종양 용적의 58%의 감소를 나타냈다(p=0.011). 비교하면, 네라티닙(30mg/kg) 치료 동물은 비히클 대조군(p=0.023)과 비교하여 종양 용적의 증가(28%)를 나타내고, 아파티닙(20mg/kg) 치료는 비히클 대조군과 비교하여 종양 성장에 유의적으로 영향을 미치지 않았다(도 6F, 13).

[0125] **포지오티닙은 HER2 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자에 항종양 활성을 나타낸다:** 이들 전임상 데이터와 이전에 발표된 엑손 20 돌연변이에 관한 연구[참조: Robichaux et al., 2018]에 기초하여, EGFR 및 HER2 엑손 20 돌연변이 NSCLC(NCT03066206)에서 포지오티닙의 연구자 주도의 제2상 임상 시험이 개시되었다. 환자는 진행, 사망 또는 이탈할 때까지 포지오티닙 16mg을 매일 경구 투여했다. 객관적 반응은 RECIST v1.1에 기초하여 8주마다 평가했다. HER2 엑손 20 삽입 돌연변이를 갖는 최초 12명의 평가가능한 환자 중, 6/12(50%)의 환자가 부분 반응(PR)의 최상의 반응을 나타냈다. 이 반응은, 2개월 후의 5/12명의 반복 스캔에 의해 확인되었다(확인된 객관적 반응율, 42%)(도 7A). 이들 12명의 환자 중, 2명의 환자는 최초 반응 평가에서 진행성 질환(PD)을 갖고, 83%의 질환 조절율(DCR)을 초래했다. 2018년 12월의 시점에서, 12명의 환자중 10명이 진행하고 있고, 최초 12명 환자의 PFS의 중앙치는 5.6개월이었다(도 7B). 지금까지 연구에 포함된 모든 환자는 2개의 가장 일반적 HER2 엑손 20 삽입 중의 하나, Y772dupYVMA 및 G778dupGSP를 보유했다(도 7A). 치료 전후(8주간)에 Y772dupYVMA 돌연변이를 갖는 1명의 NSCLC 환자의 대표적 이미지는 우측 폐에 강력한 종양 축소를 나타냈다(도 7C). 이전의 치료 라인의 수를 포함하는 환자의 특징을 표 3에 나타낸다. 추가로, HER2 엑손 19 점 돌연변이를 갖는 1명의 고도로 전치료된 NSCLC 환자, L755P는 사례 깊은 케어 사용 프로토콜(C-IND18-0014)로 치료되었다. 환자는 매일 16mg의 포지오티닙으로 치료되고, 4주에서 종양이 축소했다(도 7D, 백색 박스). 환자는 RECIST v1.1에 따라 안정한 질환(SD)을 나타냈다(표적 병변에서 -12% 감소). 환자는, 이미지 진단에 의해 환자의 진행이 명백해지고 포지오티닙이 중지될 때까지, 7개월 이상에 걸쳐 질환 조절과 함께 포지오티닙으로 유지했다. 환자는 포지오티닙 치료의 종료시에 임상적으로 양호하고, 추가로 전신 요법을 제공받기 시작했다.

[0126] **포지오티닙 및 T-DM1 치료의 조합은 항-종양 활성을 증강시킨다:** HER2 양성 유방암 모델에서 HER2 TKI 라파티닙 및 EGFR 돌연변이 NSCLC 모델에서 EGFR 억제제의 이전 연구에서는 TKI 치료에 의해 세포 표면의 수용체 축적이

증가하고, 세포 표면의 HER2/EGFR이 증가하면, 항체-의존성 세포 세포독성(ADCC)에 대한 감수성이 증가하는 것으로 밝혀졌다. 포지오티닙 치료가 세포 표면에서의 총 HER2 수용체 발현을 증가시키는지를 결정하기 위해, 24 시간의 저용량 포지오티닙 치료 후에 HER2 발현을 FACS에 의해 분석했다. 평균하여, 포지오티닙 치료는 세포 표면의 HER2 발현을 2배 증가시키는 것으로 밝혀졌다(도 8A, $p < 0.0001$). 이어서, 포지오티닙 및 T-DM1의 조합이 시험관내에서 세포 생존율을 저하시키는지를 시험하고, T-DM1 단독에서는 MCF10A HER2 돌연변이 세포주의 세포 생존율을 억제하지 않았지만, T-DM1과 포지오티닙의 조합에 의해 용량 의존적으로 어느 하나의 약제 단독보다도 유의적으로 낮은 IC_{50} 값을 초래했다(도 8B). 이들 소견을 생체내에서 검증하기 위해, 저용량의 포지오티닙과 단일 용량의 T-DM1과의 조합을 HER2 돌연변이 NSCLC PDX 모델, HER2 Y772dupYVMA에서 시험했다(도 8C). 치료에 대한 반응을 평가하기 위해, 무진행 생존율(PFS)가 결정되었고, 최상의 반응으로부터 종양이 2배로 될 때까지의 시간으로서 정의되었다. 비히클 대조군을 제공받은 마우스의 PFS 중앙값(mPFS)는 3일이었지만, 저용량의 포지오티닙 또는 T-DM1을 제공받은 마우스의 mPFS는 각각 15일 및 27일이었다. 그러나, 저용량의 포지오티닙과 조합하여 T-DM1의 단일 투여를 제공받은 (14/20) 마우스는 45일에서 종양이 없어졌다(도 8D). 추가로, 최상의 반응의 시점인 15일차에, 저용량의 포지오티닙(2.5mg/kg) 및 단일용량(10mg/kg)의 T-DM1과의 조합에 의해, T-DM1 단독을 투여한 2/9 마우스 또는 저용량의 포지오티닙을 투여한 0/12 마우스와 비교하여, 20/20마리 마우스(100%)에서 완전한 종양 퇴축을 초래했다(도 8C-F). 30일차까지, T-DM1 단독을 투여한 모든 마우스에서 종양의 성장이 재개되었지만, 병용 요법을 제공받은 14/20마리 마우스에서는 종양의 재발의 증거는 없었다(도 8F, G).

[0127] 여기서, 특정 돌연변이 핫스팟은 악성종양에 의해 상이하지만, HER2 돌연변이는 다양한 종양 유형에서 발생하는 것으로 보고되어 있다. 더욱이, HER2 TKI에 대한 감수성은, 돌연변이 부위 전체에서 불균일하고, HER2 엑손 20 삽입 및 L755P 돌연변이는, 아마도 약물 결합 포켓의 용적의 감소에 기인하여, 대부분의 HER2 TKI에 내성이 있다. 추가로, 포지오티닙은, HER2 엑손 20 삽입 및 L755P 돌연변이를 갖는 NSCLC 환자에서 임상 효과를 갖는, 강력한 범-HER2 돌연변이-선택적 억제제로서 확인되었다. 마지막으로, 포지오티닙 치료가 세포 표면에 대한 HER2의 축적을 유발하고, 포지오티닙 및 T-DM1 치료의 조합이 시험관내에서 및 생체내에서 항-종양 활성을 증강하는 것이 확립되었다.

[0128] 범-암 분석은, HER2 돌연변이 핫스팟이 암 유형에 의해 상이하고, 시험관내에서의 HER2 TKI에 대한 감수성이 상이한 것으로 나타나고, 이는 임상 효과에 영향을 미칠 수 있다. SUMMIT 시험에서는, 네라티닙이 유방암 환자에 가장 효과적이고, 응답자의 대다수가 L755S, V777L 또는 L869R 돌연변이에 양성이었다. 시험관내 Ba/F3 약물 스크리닝에서는, 이들 돌연변이가 낮은 IC_{50} 값과 상관되었다. 대조적으로, 결장직장암 환자는 네라티닙에 반응하지 않았다. 이 임상 관찰과 일치하여, V842I 돌연변이는 결장직장암의 증례에서 가장 일반적인 HER2 돌연변이이고, 이 특정의 돌연변이는 약물 스크리닝 검증에서 네라티닙에 감수성이 없는 것으로 밝혀졌다. 이들 데이터는, 악성종양 사이에서 TKI 감수성의 차이가 약제 감수성에 직접 영향을 미치는 암-특이적 돌연변이 핫스팟에 의해 부분적으로 설명될 가능성이 있음을 시사한다. 그러나, HER2 돌연변이의 분포가 종양의 유형에 의해 상이한 이 유와, 특정 돌연변이가 상이한 종양의 유형에서 유사한 약물 반응을 제공하는지와 관련하여, 중요한 의문이 남아 있다. SUMMIT 시험의 데이터는, 특정 엑손 20 삽입이 유방암 환자의 네라티닙 감수성과 관련되어 있음을 나타냈고, 이들 동일한 돌연변이가 다른 모든 암 유형에서의 내성과 연관되었고, 이는, 추가로 조사할 가치가 있는 감도에서 이들 종양-유형 특이적 차이의 근본이 되는 잠재적 메커니즘이 있을 수 있음을 입증한다.

[0129] 엑손 20 삽입 돌연변이 및 엑손 19 L755P 돌연변이는 대부분의 HER2 TKI에 내성이 있다. 시험관내 약물 스크리닝은 엑손 20 삽입 돌연변이 및 L755P 돌연변이가 시험된 각 TKI에 대해 최고의 IC_{50} 값을 갖는 것으로 나타났다. 분자 동역학 시뮬레이션에 의해, 이들 돌연변이가 약물 결합 포켓의 전체적 크기 및 이동성에 영향을 미치는 배좌 변화를 유발하는 것으로 나타났다. 정리하면, 이들 시험관내 및 인 실리코 발견은 HER2 엑손 20 삽입 돌연변이를 갖는 환자가 역사적으로 TKI에 대한 반응이 불량하다는 임상적 관찰과 일치한다. 엑손 20 삽입이 빈번하게 발생하는 폐암에서, HER2 엑손 20 삽입 돌연변이를 갖는 환자는 네라티닙, 다코미티닙 및 아파티닙에 대해 각각 0%, 11.5% 및 18.2%-18.8%의 반응율을 나타냈다. 더욱이, L755S 돌연변이는 네라티닙에 반응하는 것을 나타냈지만, L755P 돌연변이는 TKI 및 항체-약물 접합체의 둘 다에 대해 매우 내성이 있다.

[0130] **실시예 2 - 재료 및 방법**

[0131] **HER2 돌연변이의 유병률 및 변이체 빈도의 분석:** MD 앤더슨 암 센터, cBioPortal, Foundation Medicine, 또는 Guardant Health의 데이터베이스에서 보고된 각 HER2 돌연변이의 빈도를 결정하기 위해, 각 데이터베이스는 개별적으로 조회하고, 빈도는 각 데이터베이스의 환자의 총 수에 의해 가중시키고, 가중 평균으로서 보고된다. cBioPortal의 암 유형 전체에서 HER2 돌연변이의 빈도를 결정하기 위해, 중첩하지 않는 모든 연구를 선택하고

수출했다. 중첩하는 연구에서는, 최대 데이터세트만이 사용되었다. MD 앤더슨 암 센터에서 HER2 돌연변이의 빈도를 결정하기 위해, 개별화 암 치료 연구소(Institute for Personalized Cancer Therapy) 데이터베이스는 암의 유형과 관계없는 모든 HER2 돌연변이에 대해 조회했다. Foundation Medicine으로부터의 HER2 엑손 20 돌연변이의 빈도를 결정하기 위해, HER2 결실, 프레임 시프트, 삽입 및 점 돌연변이를 갖는 환자 수의 익명화된 데이터를 표로 작성하고, 돌연변이가 5개 미만인 암 유형을 제외했다. 마지막으로, Guardant Health에서 HER2 엑손 20 돌연변이의 빈도를 결정하기 위해, 2015년 10월부터 2018년 5월 사이에 ERBB2 엑손 20 돌연변이로 시험된 샘플(70 및 73 유전자 패널)에 대해 Guardant360 임상 데이터베이스를 조회했다. Guardant360[®]은 CLIA 인정, CAP/NYSDOH 인정의 포괄적 cfDNA NGS 시험이고, 최대 73개 유전자의 SNV, 인델, 융합 및 SNV를 보고한다. 이어서, Guardant Health로부터 보고된 빈도는 오데가드 등(Odegaard et al 2018)에서 보고된 바와 같이, 임상 감도를 보정하기 위해 정규화했다. 구체적으로, 빈도를 임상 감도의 퍼센트, 85.9%로 나누었다.

[0132] **Ba/F3 세포주 생성 및 IL-3 고갈:** Ba/F3 세포주는 이전에 기재된 바와 같이 확립했다[참조: Robichaux et al., 2018]. 요약하면, 안정한 Ba/F3 세포주는 Ba/F3 세포주의 12시간의 레트로바이러스 형질도입에 의해 생성했다. 레트로바이러스는 Lipofectamine 2000(Invitrogen)을 사용하여 표 1(Addgene 및 Bioinnovatise)에 요약되어 있는 pBabe-Puro 기반 벡터를 Phoenix 293T-ampho 세포(Orbigen)에 형질감염시킴으로써 생성했다. 형질도입 3일 후, 2 μ g/ml 푸로마이신(Invitrogen)을 RPMI 배지에 첨가했다. 선택 5일 후, 세포를 FACS로 선별한 FITC-HER2(Biolegend)로 염색했다. 이어서, 세포주를 IL-3의 부재하에 2주 동안 성장시키고, Cell Titer Glo 검정(Progenia)을 사용하여 3일마다 세포 생존율을 평가했다. 수득된 안정화된 세포주는 IL-3 부재하에 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640 배지에서 유지했다.

[0133] **세포 생존율 검정 및 IC₅₀ 추정:** 세포 생존율은 전술한 바와 같이 Cell Titer Glo 검정(Promega)을 사용하여 결정했다(Robichaux et al., 2018). 요약하면, 웰당 2000 내지 3000개의 세포를 384 웰 플레이트(Greiner Bio-One)에 기술적으로 3회 플레이팅했다. 세포를 7개의 상이한 농도의 티로신 키나제 억제제 또는 비히클 단독으로 웰당 40 μ L의 최종 용적으로 처리했다. 3일 후, 11 μ L의 Cell Titer Glo를 각 웰에 첨가했다. 플레이트를 15분 동안 진탕시키고, FLUOstar OPTIMA 멀티-모드 마이크로-플레이트 판독기(BMG LABTECH)를 사용하여 생물발광을 측정했다. 생물발광 값은 DMSO 처리 세포에 대해 정규화하고, 정규화된 값은 가변 구배의 정규화된 데이터에 대한 비-선형 회귀 피트를 사용하여 GraphPad Prism에 의해 계산했다. IC₅₀ 값은 50% 억제에서 GraphPad Prism에 의해 계산했다.

[0134] **포스포-(phospho-) 및 총- HER2의 ELISA 및 IC₅₀ 값과의 상관:** 단백질은 양친 Ba/F3 세포주 및 상기한 바와 같은 HER2 돌연변이를 발현하는 Ba/F3 세포주 각각으로부터 수집했다. 5 μ g/ml의 단백질을 각 ELISA 플레이트에 첨가하고, 포스포릴화 HER2 세포 신호전달(#7968) 및 총 HER2(세포 신호전달, #7310)의 제조 설명서에 기재된 바와 같이 ELISA를 실시했다. 상대적 p-HER2 발현은 ELISA에 의해 결정된 총 HER2에 대한 p-HER2의 비율을 취함으로써 결정되었다. 상대적 p-HER2 비율은 상기한 바와 같이 계산된 포지오티넵 IC₅₀ 값에 대해 플롯되었다. 피어슨 상관 및 p-값은 GraphPad Prism에 의해 결정되었다.

[0135] **티로신 키나제 억제제 및 T-DM1:** 메드캠 익스프레스(MedChem Express)로부터 구입한 EGF816 및 피로티넵을 제외하고, 모든 억제제는 셀렉 케미칼(Selleck Chemical)로부터 구입했다. 모든 억제제를 10mM 농도에서 DMSO에 용해시키고, -80 $^{\circ}$ C에서 보존했다. 억제제는 폐기하기 전에 2회의 동결 해동/사이클로 제한되었다. T-DM1은 M.D. 앤더슨 암 센터 약국으로부터 재구성된 것을 구입했다.

[0136] **분자 동역학 시뮬레이션:** HER2 돌연변이체의 단백질 구조 모델은 MOE 컴퓨터 프로그램(Chemical Computing Group)을 사용하여 PDB 3PPO X-선 구조에 인 실리코 돌연변이를 도입함으로써 작제했다. NAMD 시뮬레이션을 사용하여, 고전적 및 가속 분자 동역학 시뮬레이션을 실행했다. 추가의 상세는 보충 정보 섹션에 기재되어 있다.

[0137] **인간 세포주:** MCF10A 세포는 ATCC로부터 구입하고, 1% 페니실린/스트렙토마이신, 5% 말 혈청(sigma), 20ng/ml EGF, 0.5mg/ml 하이드로코르티손 및 10 μ g/ml 인슐린을 보충한 DMEM/F12 배지에서 배양했다. 안정한 세포주는 레트로바이러스 형질도입에 의해 생성하고, 레트로바이러스는 표 1(Addgene 및 Bioinnovatise)에 요약된 pBabe-Pure 기반 벡터를 Lipofectamine(Invitrogen)을 사용하여 피닉스(Phoenix) 293-T 암포 세포(Orbigen)에 형질감염시킴으로써 생성했다. 형질도입 2일 후, 0.5 μ g/mL 푸로마이신(Invitrogen)을 RPMI 배지에 첨가했다. 선택 14일 후, 세포를 상기한 바와 같이 세포 생존율 검정으로 시험했다. CW-2 세포는 MTA하에 리켄(Riken) 세포주 데이터베이스에 의해 제공되었고, 10% FBS 및 1% 페니실린/스트렙토마이신을 함유하는 RPMI에서 유지되었다.

[0138] **생체내 이중이식 연구:** CW-2 세포주 이중이식편은 50% 매트릭젤 중의 1×10^6 세포를 6주령의 암컷 nu/nu 누드 마우스에게 주사함으로써 생성했다. 종양이 350mm^3 에 도달했을 때, 마우스를 4개 그룹으로 랜덤화했다: 20mg/kg 아파티닙, 5mg/kg 포지오티닙, 30mg/kg 네라티닙 또는 비히클 대조군(0.5% 메틸셀룰로스, dH₂O 중의 2% 트윈-80). 종양 용적은 주당 3회 측정했다. 마우스는 월요일부터 금요일(주 5일)에 약물을 투여했지만, 수요일에 투약을 개시하고, 투약의 최초 3일 후에 2일간 휴일을 제공했다.

[0139] Y772dupYVMA PDX 마우스는 Jax Lab(모델 번호 TM01446)으로부터 구입했다. HER2 Y772dupYVMA를 발현하는 종양의 단편을 5 내지 6주령의 암컷 NSG 마우스(Jax Labs #005557)에 접종했다. 마우스를 주당 3회 측정하고, 종양의 용적이 200 내지 300mm^3 에 도달했을 때에 마우스를 4개 치료 그룹으로 랜덤화했다: 비히클 대조군(0.5% 메틸셀룰로스, dH₂O 중의 0.05% 트윈-80), 2.5mg/kg 포지오티닙, 10mg/kg T-DM1 또는 2.5mg/kg 포지오티닙과 10mg/kg T-DM1의 조합. 종양 용적 및 체중을 주당 3회 측정했다. 2.5mg/kg의 포지오티닙으로 치료된 마우스는 월요일부터 금요일까지 경구 투여했다(주당 5일). 10mg/kg의 T-DM1으로 치료된 마우스는 랜덤화의 일자에 T-DM1의 정맥내(IV) 용량을 1회 투여했다. 포지오티닙 및 T-DM1의 조합으로 치료된 마우스는 T-DM1을 1회 IV 투여하고, T-DM1의 투여로부터 3일 후, 주당 5일 2.5mg/kg의 포지오티닙을 개시했다. 마우스의 체중이 10%를 초과하여 저하된 경우, 또는 체중이 20 그램을 하회한 경우, 마우스는 투약으로부터 휴일을 제공받았다. 무진행 생존기간은 2회의 연속 측정으로 최상의 반응으로부터 종양이 배증하는 것으로 정의되었다. 완전한 퇴행은 종양 양의 95%를 초과하는 감소로서 정의되고, 완전한 퇴행을 수반하는 마우스의 경우, 종양의 배증은 2회 이상의 연속 측정으로 75mm^3 을 초과하는 것으로 정의되었다. 실험은 Good Animal Practices에 동의하고, MD 앤더슨 암 센터의 시설내 동물 관리 사용 위원회(MD Anderson Cancer Center Institutional Animal Care and Use Committee)(Houston, TX)의 승인을 획득하여 완료했다.

표 1

안정한 세포주를 생성하기 위해 사용되는 벡터

[0140]

명칭	돌연변이	공급업자
HER2 L755S	c.2264T>C	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 D769H	c.2305G>A	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 D769N	c.2305G>C	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 D769Y	c.2305G>T	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 Y772dupYVMA	c.2323_2324insTATGTCATGGCT (서열번호 1)	Addgene(#40982)으로부터 구입함
HER2 G776del insVC	c.2326_2328insTCT	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 G776del insVV	c.2327del insTTGT	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2G776del insLC	c.2326G>TTGT	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 V773M	c.2317G>A	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 V777L	c.2329G>T	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 G778insLPS	c.2332_2333insGGCTCCCCA	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2P780insGSP	c.2339_2340insTGGCTCCCC	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 L786V	c.2356C>G	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 V842I	c.2524G>A	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨
HER2 L869R	c.2606T>G	Addgene(#40978)으로부터 pBabe-puro HER2 WT로부터의 Bioinnovatise에 의해 생성됨

표 2

[0141]

데이터베이스 전체에 걸친 암 유형별 환자들의 총 수

암 유형	총 수	HER2 돌연변이의 가중 평균 빈도(도 1A)	HER2 엑손 20 돌연변이의 가 중 평균 빈도(도 1B)
담관	829	5.307%	0.724%
방광	3146	8.295%	0.858%
뇌	10105	0.350%	0.040%
유방	29609	3.115%	0.882%
자궁경부	1301		0.384%
결장직장	33302	2.185%	0.287%
초기 위암	341	3.812%	0.293%
자궁내막	4962	2.156%	0.181%
식도	4824	2.902%	0.435%
두경부	3428	1.083%	0.146%
신장	3600	1.164%	0.167%
백혈병	2451	0.122%	0.082%
비-소세포 폐암	7859	2.150%	1.525%
흑색종	7409	0.892%	0.165%
신경내분비계	60085	0.896%	0.121%
난소	11762	2.380%	0.188%
췌장	7988	0.964%	0.100%
복막	693	0.937%	0.433%
전립선	5319	1.154%	0.019%
타액선	962	0.303%	0.832%
육종	3198	0.534%	0.063%
소 세포	2380		0.336%
소장	1028	4.730%	1.751%
위장	2969	4.515%	0.370%
갑상선	2175	0.181%	0.046%

표 3

[0142]

환자 특성 및 치료의 이전 라인의 수

연령	성별	이전 라인의 #	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

[0143]

FACS: HER2 돌연변이를 과발현하는 MCF10A 세포를 6-웰 플레이트에 밤새 플레이팅하고, 이어서 10mM 포지오티닙으로 처리했다. 24시간 후, 세포를 PBS로 2회 세척하고, 트립신 처리했다. 이어서, 세포를 PBS 중의 0.5% FBS에 재현탁시키고, Biologend(#324404)의 항-HER2-FITC 항체로 아이스 상에서 45분 동안 염색했다. 세포를 PBS 중의 0.5% FBS로 2회 세척하고, 유세포 분석으로 분석했다. IgG 및 미염색 대조군을 게이팅에 사용했다.

- [0144] **웨스턴 블로팅:** 웨스턴 블로팅을 위해, 세포를 PBS로 세척하고, RIPA 용해 완충액(ThermoFisher) 및 프로테아제 억제제 콕테일 정제(Roche)에 용해시켰다. 단백질을(30 내지 40g)을 BioRad로부터 구입한 겔에 로딩했다. BioRad 반-건조 이동을 사용하고, 이어서 pHER2, HER2, pPI3K, PI3K, p-AKT, AKT, p-ERK1/2 및 ERK1/2(1:1000; Cell Signaling)에 대한 항체로 프로빙했다. 블롯은 로딩 대조군으로서 빈쿨린 또는 β -액틴(Sigma-Aldrich)에 대한 항체로 프로빙하고, ECL 웨스턴 블로팅 기질(Promega)을 사용하여 노광시켰다.
- [0145] **HER2 발현 수준 및 Ba/F3 돌연변이 IC₅₀과의 상관:** 단백질을 Ba/F 세포주로부터 회수하고, 총 HER2의 제조 설명서(Cell Signaling, #7310)에 기재된 바와 같이 결정된 상대적 발현을 상기한 바와 같이 계산된 IC₅₀ 값에 대해 플로팅했다. 피어슨 상관 및 p-값은 GraphPad Prism에 의해 결정되었다.
- [0146] **임상 시험 및 CIND 식별자:** 환자는 사례 깊은 사용 프로토콜(MD 앤더슨 암 센터 CIND-18-0014) 또는 임상 시험 NCT03066206 중의 어느 하나로 포지오티닙 치료에 대한 서면 동의를 제공했다. 프로토콜은 MD 앤더슨 기관 심사 위원회 및 식품 의약품국 둘 다에 의해 승인되었다.
- [0147] * * *
- [0148] 본 설명에 개시되고 청구된 방법 전부는 본 개시의 관점에서 과도한 실험 없이 이루어지고 실행될 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법은 바람직한 실시형태의 측면에서 설명되었지만, 본 발명의 개념, 사상 및 범위로부터 벗어나지 않고 방법 및 본 설명에 기술된 방법의 단계 또는 이러한 단계의 순서에 변화가 적용될 수 있음은 당업자에게 분명할 것이다. 더욱 구체적으로, 동일하거나 비슷한 결과가 달성되는 동안, 화학적으로 및 생리적으로 관련된 특정 약제가 본 설명에 기술된 약제를 대체할 수 있음이 분명할 것이다. 당업자에게 분명한 이러한 비슷한 대체물 및 변형 모두는 첨부된 청구범위에 의해 한정된 바와 같이, 본 발명의 사상, 범위 및 개념 내에 있는 것으로 간주된다.
- [0149] **참조문헌**
- [0150] 다음의 참고문헌은 그것들이 예시적인 절차 또는 본 설명에 기재된 것들에 대해 보충적인 기타 세부 사항을 제공하는 정도까지 본 설명에 참조로 구체적으로 포함된다.

- 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.
- 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.
- Ettinger *et al.*, *J Natl Compr Canc Netw* 16:807-21, 2018.
- 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).
- 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.
- 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.

[0151]

Hyman *et al.*, *Nature* 554:189-94, 2018.
 International Patent Publication No. WO 99/57318
 International Patent Publication No. WO1995001994
 International Patent Publication No. WO1998042752
 International Patent Publication No. WO2000037504
 International Patent Publication No. WO2001014424
 International Patent Publication No. WO2009/101611
 International Patent Publication No. WO2009/114335
 International Patent Publication No. WO2010/027827
 International Patent Publication No. WO2011/066342
 International Patent Publication No. WO2015016718
 International Patent Publication No. WO 00/37504
 International Patent Publication No. WO01/14424
 International Patent Publication No. WO98/42752
 Kosaka *et al.*, *Cancer Res* 2017.
 Kris *et al.*, *Ann Oncol* 26:1421-7, 2015.
 Kris *et al.*, *Ann Oncol* 26:1421-7, 2015.
 Leal, M., *Ann N Y Acad Sci* 1321, 41-54, 2014.
 Lynch *et al.*, *N Engl J Med.* 350(21):2129-2139, 2004.
 Ma *et al.*, *J Clin Oncol* 33, 2015.
 Maemondo *et al.*, *N Engl J Med* 362:2380-8, 2010.
 Meric-Bernstam *et al.*, *Clin Cancer Res*, 2018.
 Mitsudomi and Yatabe, *Cancer Sci.* 98(12):1817-1824, 2007.
 Mokyr *et al.* *Cancer Res* 58:5301-5304, 1998.
 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.
 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* 24:638-46, 2018.
 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).

[0152]

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

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

U.S. Patent No. 4,870,287

U.S. Patent No. 5,288,644

U.S. Patent No. 5,739,169

U.S. Patent No. 5,760,395

U.S. Patent No. 5,801,005

U.S. Patent No. 5,824,311

U.S. Patent No. 5,830,880

U.S. Patent No. 5,844,905

U.S. Patent No. 5,846,945

U.S. Patent No. 5,869,245

U.S. Patent No. 5,885,796

U.S. Patent No. 6,207,156

U.S. Patent No. 8,008,449

U.S. Patent No. 8,017,114

U.S. Patent No. 8,119,129

U.S. Patent No. 8,188,102

U.S. Patent No. 8,329,867

U.S. Patent No. 8,354,509

U.S. Patent No. 8,735,553

U.S. Patent Publication No. 2004/0014095

U.S. Patent Publication No. 2005/0260186

U.S. Patent Publication No. 2006/0104968

U.S. Patent Publication No. 20110008369

U.S. Patent Publication No. 20130071452

U.S. Patent Publication No. 2014022021

U.S. Patent Publication No. 20140294898

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

Vogel *et al.*, *J Clin Oncol* 20:719-26, 2002.

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

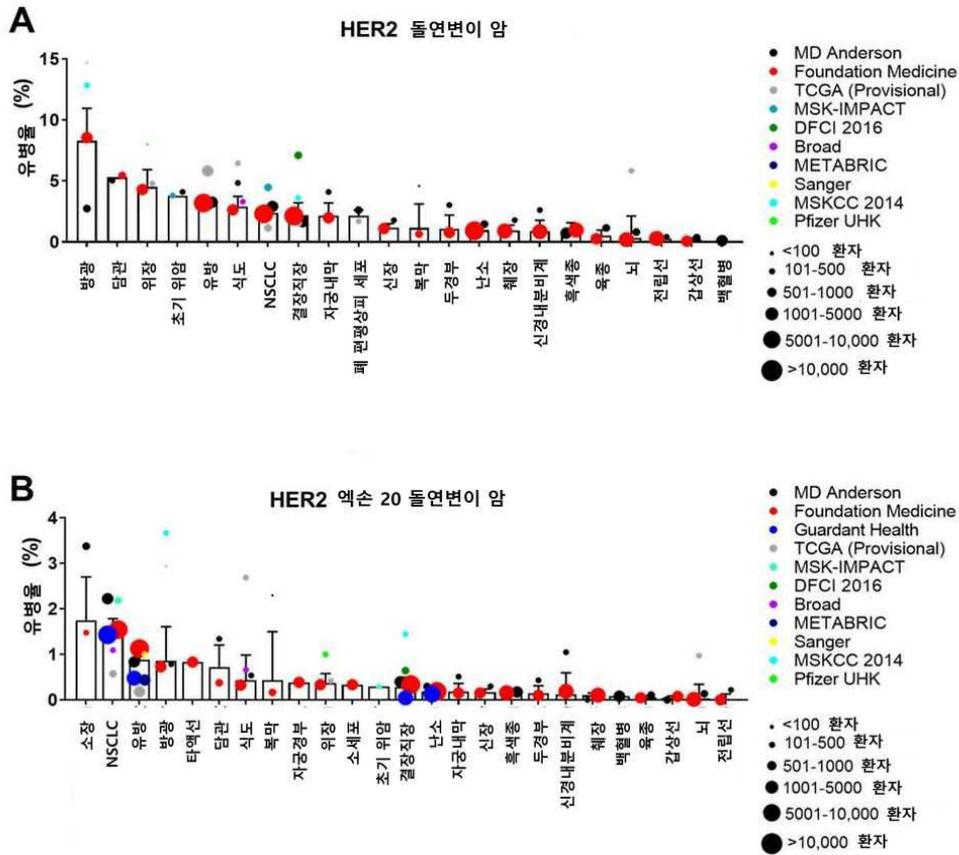
Yasuda *et al.*, *Sci Transl Med* 5(216):216ra177, 2013.

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

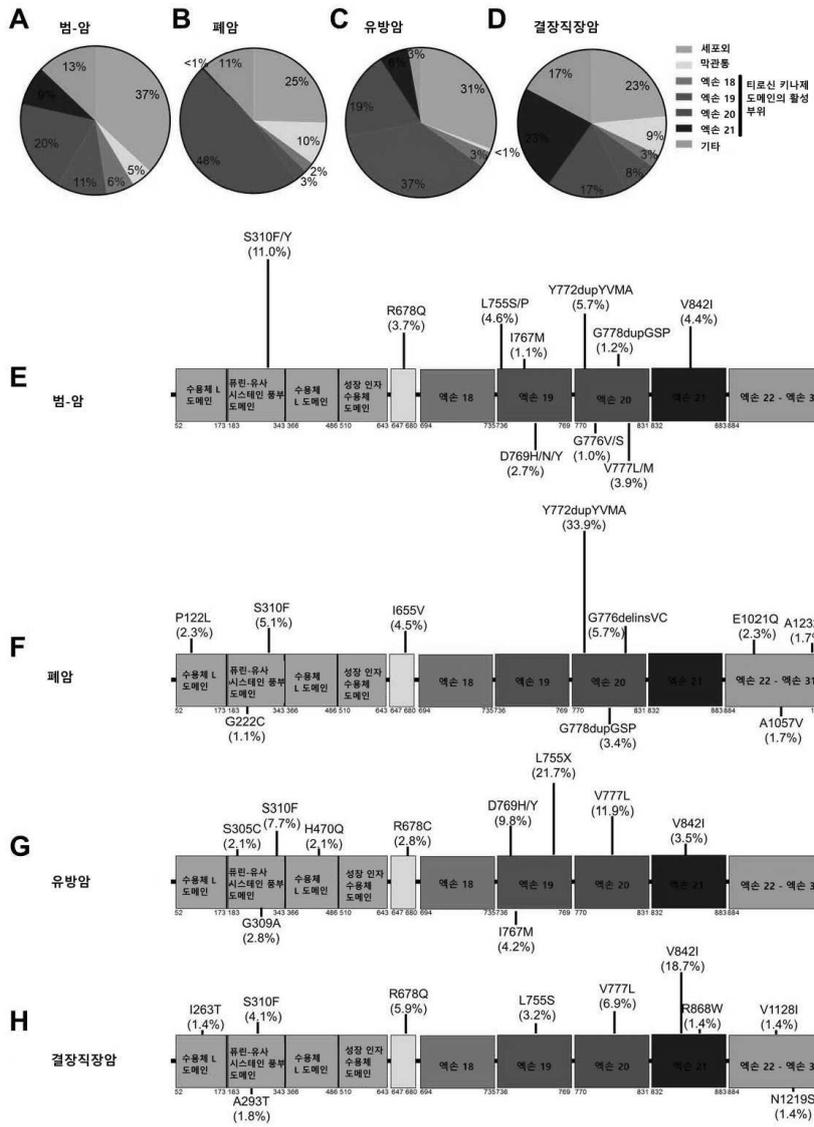
[0153]

도면

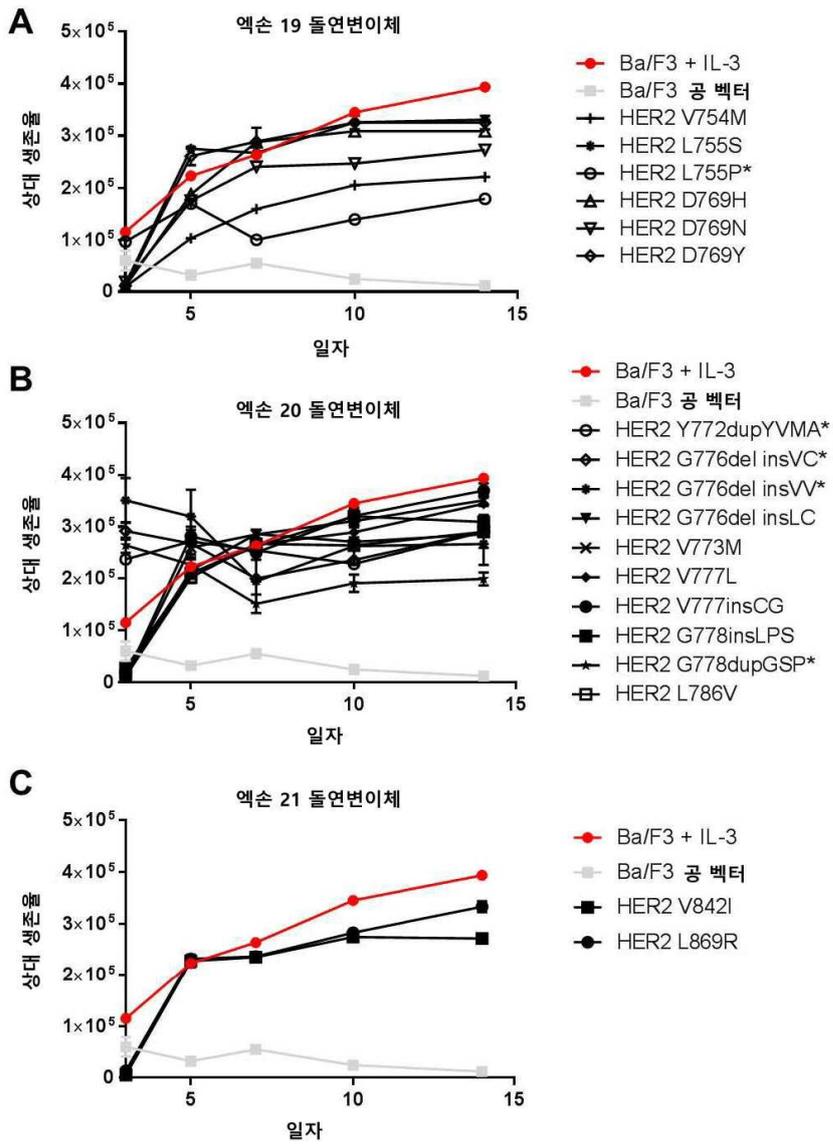
도면1



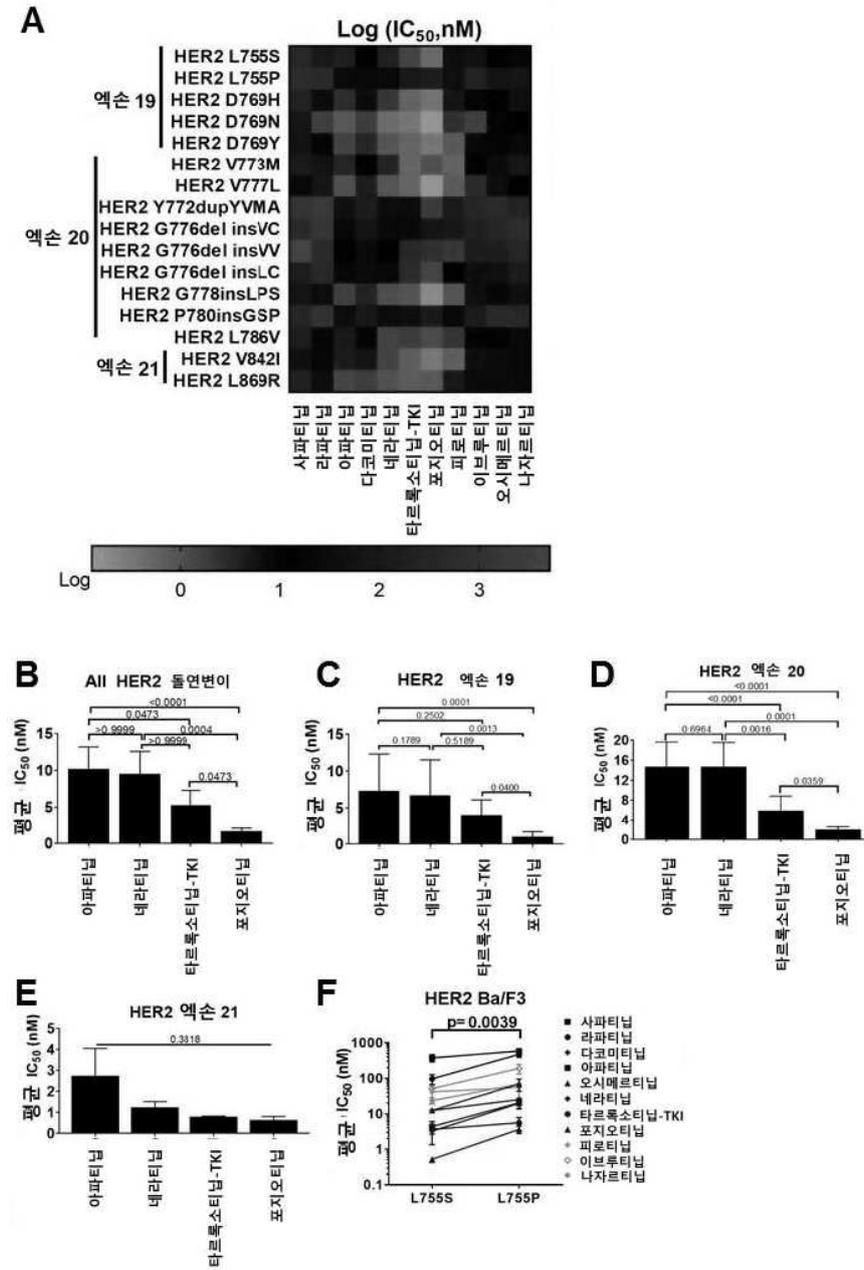
도면2



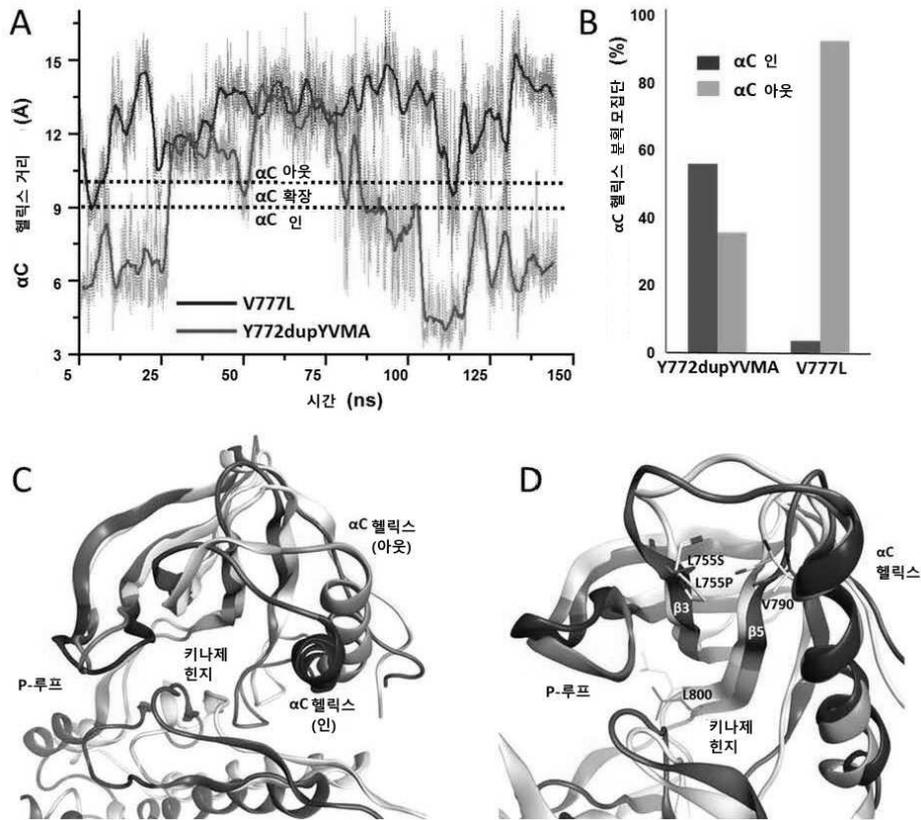
도면3



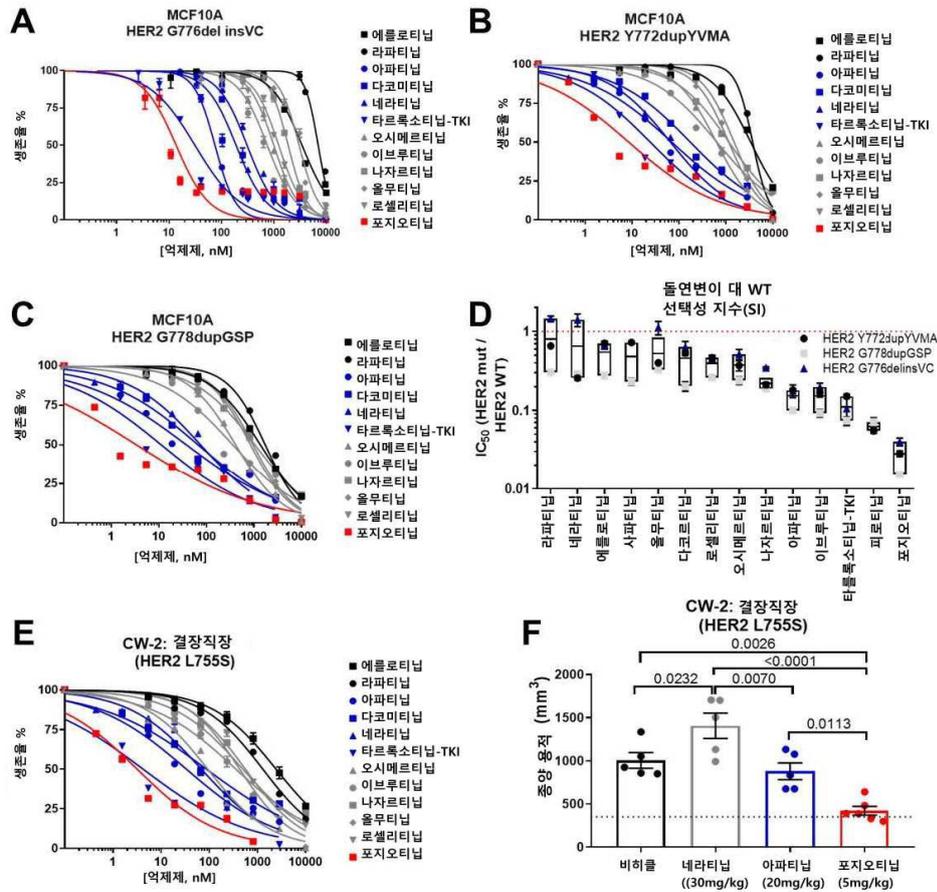
도면4



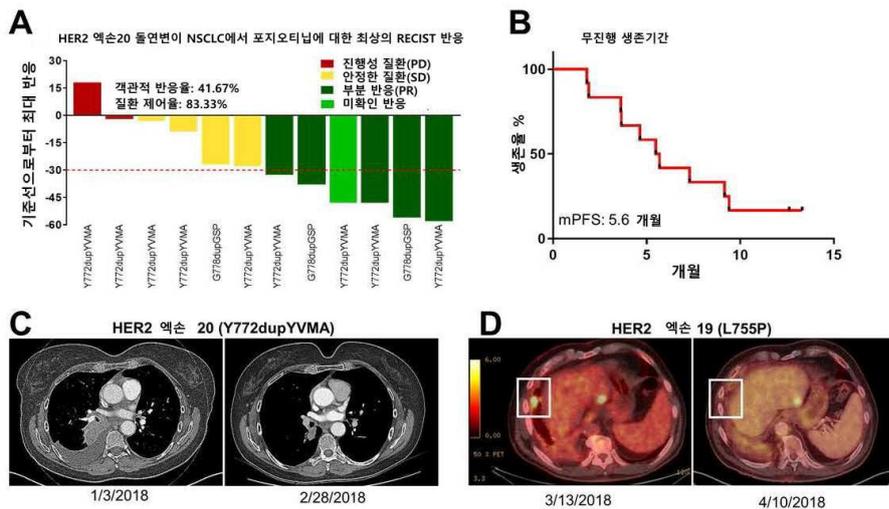
도면5



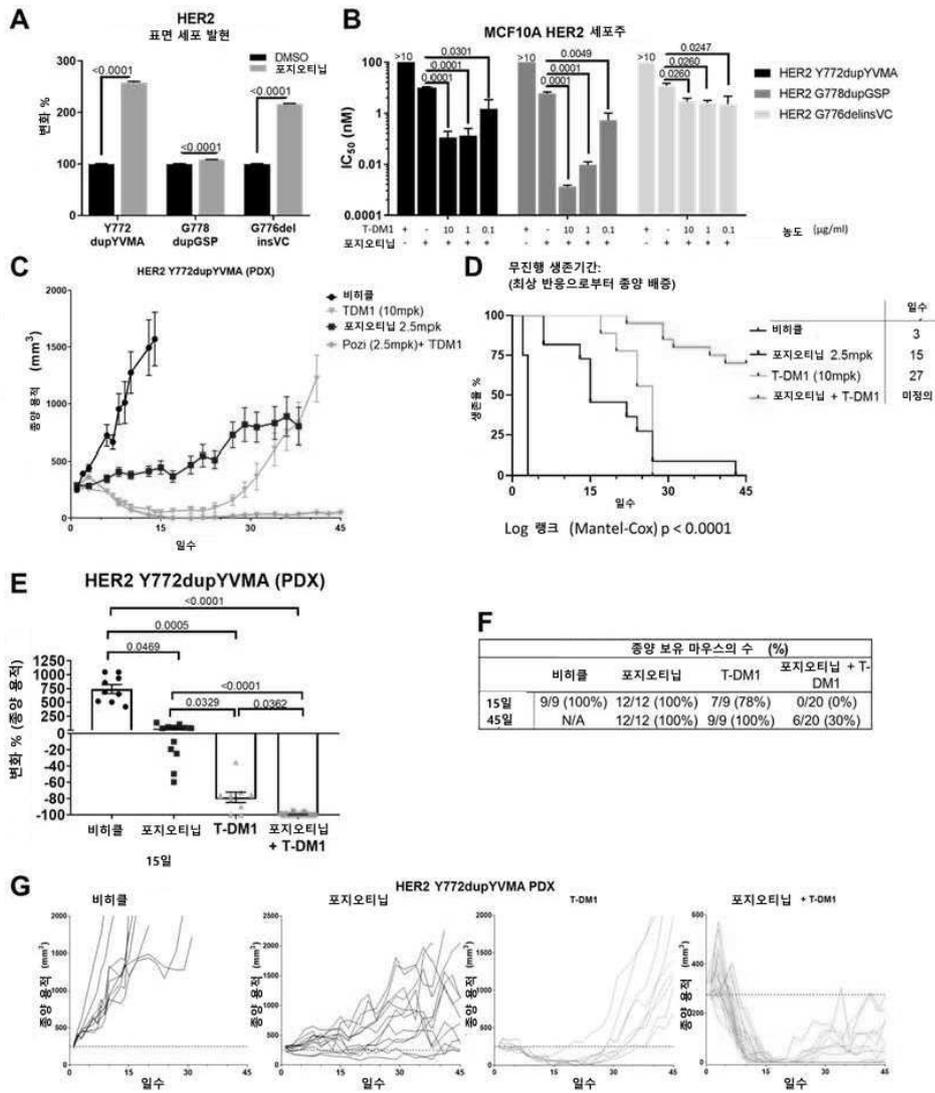
도면6



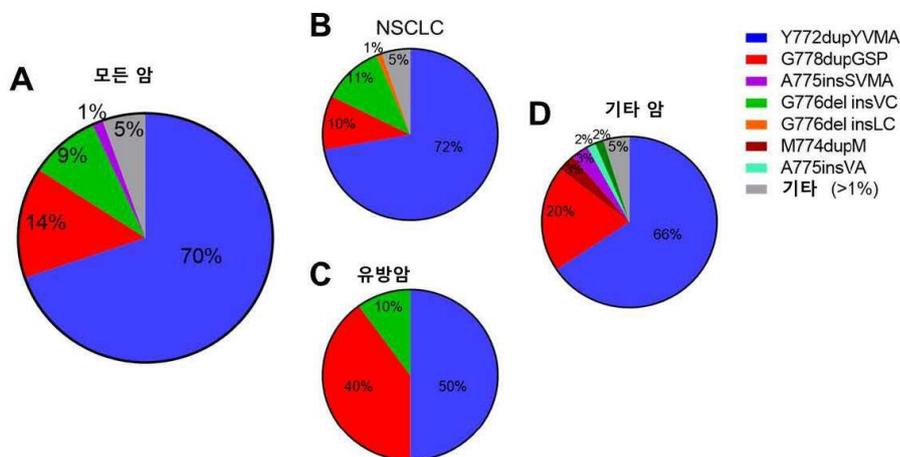
도면7



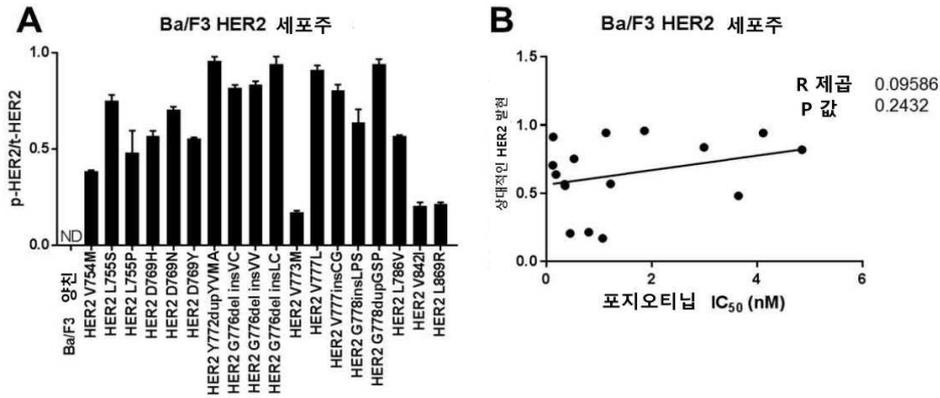
도면8



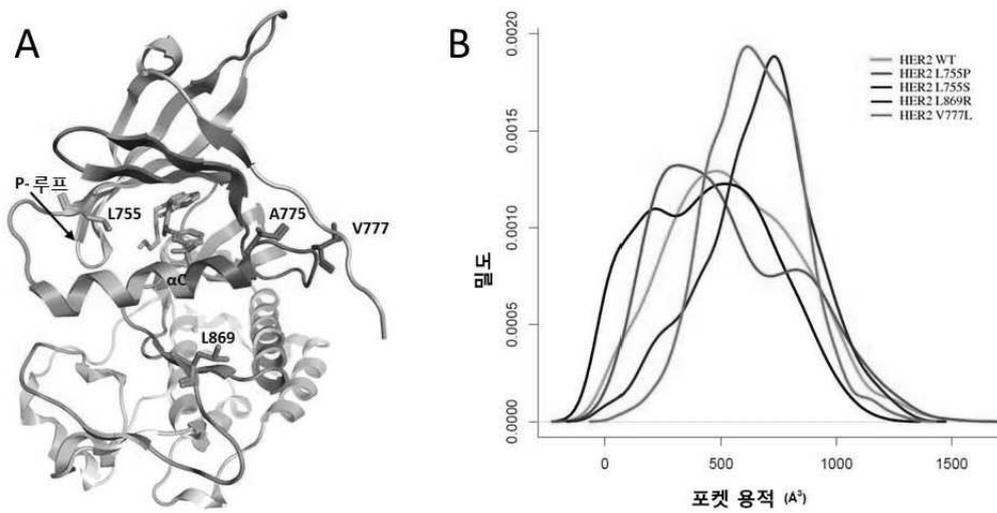
도면9



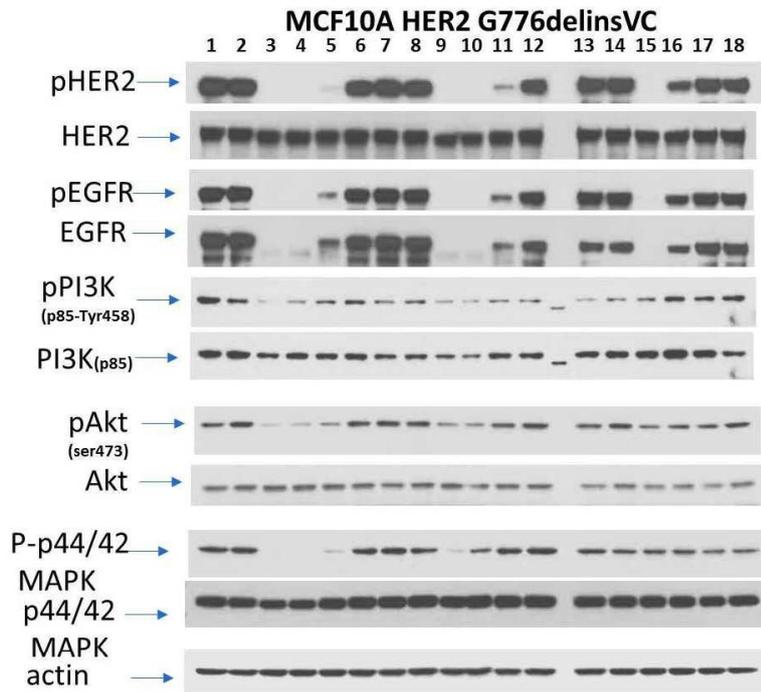
도면10



도면11

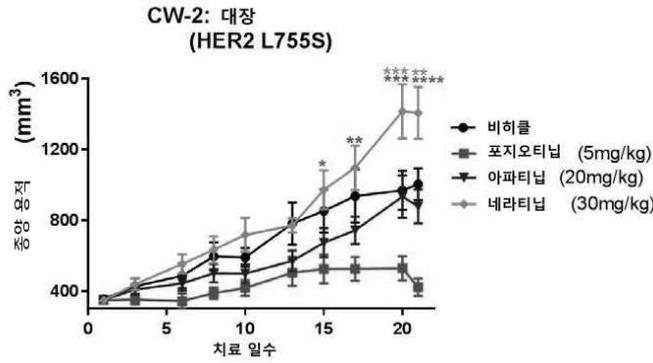


도면12



#1-6: No, DMSO, 1000, 100, 10, 및 1 nM 포지오티닙
 # 7-12: No, DMSO, 1000, 100, 10, 및 1 nM 네라티닙
 # 13-18: No, DMSO, 1000, 100, 10, 및 1 nM 라파티닙

도면13



타키 다중 비교 검정	요약	조정된 P 값
10일		
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) 대 아파티닙 (20mg/kg)	ns	0.8809
포지오티닙(5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	*	0.0333
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.2222
13일		
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) 대 아파티닙 (20mg/kg)	ns	0.9266
포지오티닙(5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.0737
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	ns	0.3041
15일		
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) 대 아파티닙 (20mg/kg)	ns	0.5209
포지오티닙(5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	***	0.0003
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	*	0.0452
17일		
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) 대 아파티닙 (20mg/kg)	ns	0.193
포지오티닙(5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	*	0.0118
20일		
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) 대 아파티닙 (20mg/kg)	**	0.0015
포지오티닙(5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	***	0.0002
21일		
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) 대 아파티닙 (20mg/kg)	***	0.0003
포지오티닙(5mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001
아파티닙(20mg/kg) 대 네라티닙 (30mg/kg)	****	<0.0001

서열목록

SEQUENCE LISTING

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

<120> COMPOUNDS WITH ANTI-TUMOR ACTIVITY AGAINST CANCER CELLS BEARING
HER2 EXON 21 INSERTIONS

<130> UTFC.P1455WO

<140> Unknown

<141> 2020-03-27

<150> US 62/826,758

<151> 2019-03-29

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic oligo

<400> 1

tatgtcatgg ct

12