



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0144804
(43) 공개일자 2015년12월28일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
<i>C07K 16/28</i> (2006.01) <i>A61K 39/00</i> (2006.01)
<i>A61K 39/395</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
<i>C07K 16/2863</i> (2013.01)
<i>A61K 39/395</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-7033309</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2014년04월22일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2015년11월20일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2014/058118</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2014/173886
국제공개일자 2014년10월30일</p> <p>(30) 우선권주장
13002106.6 2013년04월22일
유럽특허청(EPO)(EP)
13002108.2 2013년04월22일
유럽특허청(EPO)(EP)</p> | <p>(71) 출원인
글리코토페 게엠베하
독일 베를린 로버트-로슬레 슈트라쎄 10 (우:13125)</p> <p>(72) 발명자
콜레츠, 슈테펜
독일 13125 베를린 로베르트-뢰슬레-슈트라쎄 10
체오 다니엘크지크, 안트제
독일 13125 베를린 로베르트-뢰슬레-슈트라쎄 10
체오 특허법인 남앤드남</p> <p>(74) 대리인
특허법인 남앤드남</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 208 항

(54) 발명의 명칭 **낮은 푸코실화를 갖는 항 - EGFR 항체를 이용한 항암 치료**

(57) 요약

본 발명은 항암 항체를 이용한 암 치료 분야에 관한 것이다. 항암 효능 및 개선된 부작용 프로파일을 나타내는 개선된 당화 특징, 특히 감소된 푸코실화를 갖는 항-EGFR 항체의 의학적 용도가 제공된다.

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/732 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체로서, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체), 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있는, 항-EGFR 항체.

청구항 2

제 1항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 80% 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 3

제 1항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 75% 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 4

제 1항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 70% 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 5

제 1항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 65% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 20% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 7

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 15% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 8

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 10% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 9

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 5% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 10

제 1항 내지 제 9항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 70% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 11

제 1항 내지 제 9항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 50% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 12

제 1항 내지 제 9항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 40% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 13

제 1항 내지 제 9항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 30% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 14

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 20% 이하에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 15

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 15% 이하에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 16

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 10% 이하에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 17

제 1항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 5% 이하에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 18

제 1항 내지 제 17항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 20% 이하, 바람직하게는 치료되는 환자의 15% 이하, 10% 이하 또는 5% 이하에서 저마그네슘혈증을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 19

제 1항 내지 제 18항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 30% 이하, 바람직하게는 치료되는 환자의 25% 이하, 20% 이하 또는 15% 이하에서 저칼륨혈증을 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 20

제 1항 내지 제 19항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 40% 이하, 바람직하게는 치료되는 환자의 35% 이하, 30% 이하 또는 25% 이하에서 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 21

제 2항 내지 제 20항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 용량 당 적어도 10 mg의 양으로 투여될 때 치료되는 환자 중 지시된 백분율 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용, 여드름모양 피부 발진, 3등급 이상의 피부 부작용, 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진, 저마그네슘혈증 및/또는 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 22

제 2항 내지 제 21항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 용량 당 적어도 50 mg의 양으로 투여될 때 치료되는 환자 중 지시된 백분율 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용, 여드름모양 피부 발진, 3등급 이상의 피부 부작용, 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진, 저마그네슘혈증 및/또는 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 23

제 2항 내지 제 22항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 용량 당 적어도 240 mg의 양으로 투여될 때 치료되는 환자 중 지시된 백분율 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용, 여드름모양 피부 발진, 3등급 이상의 피부 부작용, 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진, 저마그네슘혈증 및/또는 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 24

제 2항 내지 제 23항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 용량 당 적어도 500 mg의 양으로 투여될 때 치료되는 환자 중 지시된 백분율 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용, 여드름모양 피부 발진, 3등급 이상의 피부 부작용, 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진, 저마그네슘혈증 및/또는 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 25

제 21항 내지 제 24항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가, 적어도 4회 용량이 투여되었을 때 치료되는 환자 중 지시된 백분율 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용, 여드름모양 피부 발진, 3등급 이상의 피부 부작용, 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진, 저마그네슘혈증 및/또는 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 26

제 21항 내지 제 25항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가, 적어도 8회 용량이 투여되었을 때 치료되는 환자 중 지시된 백분율 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용, 여드름모양 피부 발진, 3등급 이상의 피부 부작용, 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진, 저마그네슘혈증 및/또는 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 27

제 25항 또는 제 26항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가, 용량들이 적어도 격주로 투여되었을 때 치료되는 환자 중 지시된 백분율 이하에서 임의의 등급의 피부 부작용, 여드름모양 피부 발진, 3등급 이상의 피부 부작용, 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진, 저마그네슘혈증 및/또는 설사를 발생시키는 항-EGFR 항체.

청구항 28

제 1항 내지 제 27항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 50% 초과에서 피부 부작용을 나타내는 것으로 밝혀진 EGFR 양성 신생물 질환을 앓고 있는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 29

제 28항에 있어서, 본 발명의 감소된 푸코스 항체가, 다른 항-EGFR 항체가 환자의 50% 초과에서 피부 부작용을 나타내고/거나 환자의 12% 초과에서 3등급 이상의 피부 부작용을 나타내는 투여량으로의 투여를 위한 것인 항-EGFR 항체.

청구항 30

제 1항 내지 제 29항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용할 때 환자의 적어도 50%에서 피부 부작용을 발생시키거나, 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용할 때 환자의 적어도 12%에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 치료 조건에 이용되는, 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 31

제 28항 내지 제 30항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 고 푸코스 세특시맵 (Erbix®), 파니투무맵, 잘루투무맵 및 GA201로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 32

제 28항 내지 제 31항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 주 당 적어도 200 mg의 투여량으로 투여되는 항-EGFR 항체.

청구항 33

제 1항 내지 제 32항 중 어느 한 항에 있어서, 환자에서 3등급 이상의 부작용을 발생시킨 적어도 하나의 EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 34

제 1항 내지 제 33항 중 어느 한 항에 있어서, 3등급 이상의 공지된 심각한 부작용을 발생시킨 EGFR 억제제에 대해 상기 심각한 부작용을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 35

제 1항 내지 제 34항 중 어느 한 항에 있어서, 3등급 이상의 심각한 부작용을, 특히 환자의 10% 초과에서 발생시키는 EGFR 억제제로의 치료 동안 3등급 이상의 심각한 부작용을 발생시킬 위험이 증가된 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 36

제 1항 내지 제 35항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체로서, 상기 이전 치료가 상기 치료 동안 발생한 상기 EGFR 억제제에 대한 부작용으로 인해 중단, 종결되거나 EGFR 억제제의 투여량이 감소되어야 했던, 항-EGFR 항체.

청구항 37

제 1항 내지 제 36항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체로서, EGFR 억제제를 이용한 상기 이전 치료가 상기 EGFR 억제제에 대한 부작용이 발생했기 때문에 지속되지 않거나 지속될 수 없는, 항-EGFR 항체.

청구항 38

제 33항 내지 제 37항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제가 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맙 (Erbitux®), 파니투무맙 (Vectibix®) 및 GA201인 항-EGFR 항체.

청구항 39

제 33항 내지 제 37항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제가 티로신 키나제 억제제, 예컨대 게피티닙, 에를로티닙 및 라파티닙인 항-EGFR 항체.

청구항 40

제 38항 또는 제 39항에 있어서, EGFR 억제제에 의해 발생한 부작용이 3등급 이상의 부작용이었던 항-EGFR 항체.

청구항 41

제 33항 내지 제 40항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제에 의해 발생한 부작용이 피부 부작용이었던 항-EGFR 항체.

청구항 42

제 41항에 있어서, EGFR 억제제에 의해 발생한 피부 부작용이 피부 발진 및/또는 여드름모양 피부 발진을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 43

제 41항에 있어서, EGFR 억제제에 의해 발생한 피부 부작용이 3등급 이상의 피부 발진 및/또는 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 44

제 41항 내지 제 43항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제에 의해 발생한 피부 부작용이 심각한, 전신성 홍피

증, 황반, 구진 또는 소포성 발진; 신체 피부 면적의 적어도 50%를 덮는 표피탈락; 전신성 박탈성, 궤양성, 및/또는 수포성 피부염; 및/또는 동통, 기형, 궤양, 및/또는 표피탈락과 관련된 여드름모양 피부 발진; 임의로 가려움증 또는 압통의 증상과 관련된, 신체 피부 면적의 적어도 30%를 덮는 구진 및/또는 고름물집; 지시된 경구 또는 정맥내 항생제 이용시 국소 또는 광범위 중복감염과 관련된 구진 및/또는 고름물집을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 45

제 1항 내지 제 44항 중 어느 한 항에 있어서, 이전 치료에서 항-EGFR 항체에 대해 알레르기 반응이 발생한 인간 환자를 치료하고/거나 기존에 Gal-Gal IgE 항체를 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 46

제 1항 내지 제 45항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 EGFR 양성 암인 항-EGFR 항체.

청구항 47

제 46항에 있어서, EGFR-양성 암이 두경부암, 결장암, 신장암, 위암, 식도암, 담낭암, 자궁암, 유방암, 직장암, 폐암, 난소암 및 음경암으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 48

제 46항 또는 제 47항에 있어서, EGFR-양성 암이 결장 암종, 직장 암종, 비-소세포 폐 암종, 편평 세포 폐암, 신세포 암종, 삼중 음성 유방암, 두경부의 편평 세포 암종, 식도 샘암종, 위 샘암종, 위식도 접합부 샘암종, 자궁내막 암종 또는 육종, 자궁경부 암종으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 49

제 46항 내지 제 48항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 암이 투명 세포 신세포 암종, 호염기 및 호산구 유두 신세포 암종을 포함하는 유두 신세포 암종, 협색소성 신세포 암종, 벨리니관 암종, 집합관 암종 및 신장의 다형태 및/또는 육종모양 암종으로 구성된 군으로부터 선택되는 신세포 암종인 항-EGFR 항체.

청구항 50

제 46항 내지 제 48항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 암이 편평 비소세포 폐암 (sNSCLC), 및 샘암종 및 대세포 암종을 포함하는 비 편평 비소세포 폐암 (nsNSCLC)으로 구성된 군으로부터 선택되는 비소세포 폐암인 항-EGFR 항체.

청구항 51

제 46항 내지 제 48항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 암이 비-분화된, 분화된, 아데노이드-편평 및 사마귀 모양 두경부의 편평 세포암(SCCHN)을 포함하는 SCCHN인 항-EGFR 항체.

청구항 52

제 46항 내지 제 48항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 암이 관 샘암종, 유두 샘암종 및 점액 샘암종을 포함하는 샘암종, 반지 세포 암종, 아데노이드-편평 암종, 편평 암종, 속질 위 암종, 소세포 위 암종, 및 비-분화된 위 암종으로 구성된 군으로부터 선택되는 위암인 항-EGFR 항체.

청구항 53

제 46항 내지 제 48항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 암이 날문방, 체, 기저, 또는 전체 위에 미만성으로 위치하는 위암인 항-EGFR 항체.

청구항 54

제 46항 내지 제 53항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 암이 전이성 암인 항-EGFR 항체.

청구항 55

제 46항 내지 제 54항 중 어느 한 항에 있어서, 암이 신세포 암종인 항-EGFR 항체.

청구항 56

제 55항에 있어서, 신세포 암종이 투명 세포 신세포 암종 또는 비-투명 세포 신세포 암종인 항-EGFR 항체.

청구항 57

제 1항 내지 제 56항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 신생물 질환이 악성 삼출을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 58

제 57항에 있어서, 악성 삼출이 악성 흉막 삼출 또는 악성 복막 삼출인 항-EGFR 항체.

청구항 59

제 57항 또는 제 58항에 있어서, 악성 삼출이 악성 복수인 항-EGFR 항체.

청구항 60

제 57항 내지 제 59항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR-양성 신생물 질환이 악성 삼출을 포함하는 위 및/또는 식도암인 항-EGFR 항체.

청구항 61

인간 환자에서 신장암을 치료하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체로서, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체), 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있는, 항-EGFR 항체.

청구항 62

제 61항에 있어서, 신장암이 신세포 암종인 항-EGFR 항체.

청구항 63

제 61항 또는 제 62항에 있어서, 신장암이 투명 세포 신세포 암종 또는 비-투명 세포 신세포 암종인 항-EGFR 항체.

청구항 64

제 61항 내지 제 63항 중 어느 한 항에 있어서, 신장암이 투명 세포 신세포 암종, 유두 신세포 암종, 협색소성 신세포 암종, 집합관 암종, 및 투명 세포 유두 신세포 암종으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 65

제 64항에 있어서, 신장암이 투명 세포 신세포 암종 및 유두 신세포 암종으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 66

제 61항 내지 제 65항 중 어느 한 항에 있어서, 신장암이 전이성 신장암인 항-EGFR 항체.

청구항 67

EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 인간 환자에서 악성 삼출을 치료하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체로서, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체), 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있는, 항-EGFR 항체.

청구항 68

제 67항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 위암, 식도암, 폐암, 유방암, 림프종, 난소암, 췌장암, 간암 및 결장암으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 69

제 67항 또는 제 68항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 전이성 암인 항-EGFR 항체.

청구항 70

제 69항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 복막, 흉막 및/또는 폐에 또는 복막, 흉막 및/또는 폐 내에 전이를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 71

제 67항 내지 제 70항 중 어느 한 항에 있어서, 삼출이 흉막 삼출인 항-EGFR 항체.

청구항 72

제 71항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 유방암, 폐암, 위암 및 식도암으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 73

제 71항 또는 제 72항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 흉막으로의 중앙 침습 및/또는 흉막에서의 또는 흉막 내의 전이를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 74

제 67항 내지 제 70항 중 어느 한 항에 있어서, 삼출이 복막 삼출인 항-EGFR 항체.

청구항 75

제 74항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 췌장암, 난소암, 위암, 식도암 및 결장암으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 76

제 74항 또는 제 75항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 복막으로의 중앙 침습 및/또는 복막에서의 또는 복막 내의 전이를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 77

제 67항 내지 제 76항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 위암 및/또는 식도암인 항-EGFR 항체.

청구항 78

제 77항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 위 암종 또는 식도/위 접합부의 샘암종인 항-EGFR 항체.

청구항 79

제 1항 내지 제 78항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬 내에 20% 이하의 푸코스의 양을 갖는 항-EGFR 항체.

청구항 80

제 79항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬 내에 15% 이하의 푸코스의 양을 갖는 항-EGFR 항체.

청구항 81

제 79항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬 내에 3% 내지 20% 범위의 푸코스의 양을 갖는 항-EGFR 항체.

청구항 82

제 1항 내지 제 81항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 CH2 도메인의 당화 부위 내에 하기 당화 특징 중 하나 이상을 포함하는 항-EGFR 항체:

- (i) 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 10%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (ii) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (iii) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (iv) 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%의 적어도 하나의 시알산, 특히 NeuAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (v) 적어도 0.5%, 바람직하게는 적어도 1%의 2개의 시알산, 특히 NeuAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양.

청구항 83

제 82항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 CH2 도메인의 당화 부위 내에 당화 특징 (i) 내지 (v)를 모두 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 84

제 1항 내지 제 83항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 중쇄 가변 영역 VH 내에 추가적인 당화 부위를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 85

제 84항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 VH 도메인의 당화 부위 내에 하기 당화 특징 중 하나 이상을 포함하는 항-EGFR 항체:

- (i) 40% 이하, 바람직하게는 35% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (ii) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 40%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (iii) 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (iv) 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (v) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (vi) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 45%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.

청구항 86

제 85항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 VH 도메인의 당화 부위 내에 당화 특징 (i) 내지 (vi)를 모두 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 87

제 84항 내지 제 86항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 전체 항체에 대해 하기 당화 특징 중 하나 이상을 포함하는 항-EGFR 항체:

- (i) 30% 이하, 바람직하게는 25% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (ii) 적어도 20%, 바람직하게는 적어도 25%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (iii) 적어도 60%, 바람직하게는 적어도 70%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (iv) 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 35%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (v) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (vi) 적어도 4%, 바람직하게는 적어도 6%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.

청구항 88

제 87항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 전체 항체에 대해 당화 특징 (i) 내지 (vi)를 모두 포함하는

항-EGFR 항체.

청구항 89

제 1항 내지 제 88항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 하기 당화 특징 중 하나 이상을 포함하는 항-EGFR 항체:

- (i) 검출할 수 없는 NeuGc;
- (ii) 검출할 수 없는 Gal α1,3-Gal;
- (iii) 검출할 수 있는 α2,6-커플링된 NeuAc.

청구항 90

제 1항 내지 제 89항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 인간 당화 프로파일을 갖는 항-EGFR 항체.

청구항 91

제 1항 내지 제 90항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 92

제 1항 내지 제 91항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:7 또는 9의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:7 또는 9와 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 93

제 1항 내지 제 92항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 94

제 1항 내지 제 93항 중 어느 한 항에 있어서, SEQ ID NO:8 또는 10의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:8 또는 10과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 95

제 1항 내지 제 94항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 세특시말의 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 96

제 1항 내지 제 95항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 세특시말과 상호특이성을 나타내는 항-EGFR 항체.

청구항 97

제 1항 내지 제 96항 중 어느 한 항에 있어서, IgG 타입 항체, 바람직하게는 IgG1 타입 항체인 항-EGFR 항체.

청구항 98

제 1항 내지 제 97항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR의 세포외 부분, 특히 EGFR의 도메인 III에 특이적으로 결합할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 99

제 1항 내지 제 98항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR에 대한 리간드 결합을 차단할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 100

제 1항 내지 제 99항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR의 이합체화를 차단할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 101

제 1항 내지 제 100항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR의 활성화, 특히 EGFR의 키나제 활성화를 차단할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 102

제 1항 내지 제 101항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 표면에서의 EGFR의 양을, 특히 세포로의 EGFR의 내재화를 유도함으로써, 감소시킬 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 103

제 1항 내지 제 102항 중 어느 한 항에 있어서, ADCC를 유도함에 있어서 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖고 상기 당화 부위에 부착된 적어도 60%의 글리칸이 푸코스를 지니는 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 적어도 10배 더 효능있는 항-EGFR 항체.

청구항 104

제 1항 내지 제 103항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 표면 상의 EGFR에 결합함에 의해 세포 증식을 감소 또는 예방하고/거나 세포 아포토시스를 유도할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 105

제 1항 내지 제 104항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR을 발현하는 세포에 대해 항체-의존성 세포 세포독성을 유도할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 106

제 1항 내지 제 105항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR에 결합하여, 세포를 공격하는 과립구, 특히 호중구 및/또는 호산구 과립구를 활성화시킴에 의해, EGFR을 발현하는 세포의 용해를 유도할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 107

제 1항 내지 제 106항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR에 결합하여, 세포를 공격하는 대식세포를 활성화시킴에 의해, EGFR을 발현하는 세포의 용해를 유도할 수 있는 항-EGFR 항체.

청구항 108

제 1항 내지 제 107항 중 어느 한 항에 있어서, 하기 특징을 갖는 항-EGFR 항체:

(i) 이는 SEQ ID NO:7 또는 9의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7 또는 9와 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다;

(ii) 이는 SEQ ID NO:8 또는 10의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8 또는 10과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다;

(iii) 이는 CH2 도메인 내에 하기 당화 특징을 갖는다:

(a) 20% 이하, 바람직하게는 15% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;

(b) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 양분성 GlcNAc을 지니는 글리칸의 상대적인 양;

(c) 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양; 및

(d) 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 35%의 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;

- (e) 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 8%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양; 및
- (f) 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%의 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- (iv) 이는 임의로 VH 도메인 내에 당화 부위를 포함하고, 상기 당화 부위가 존재하는 경우, 이는 하기 당화 특징을 갖는다:
 - (a) 20% 이하, 바람직하게는 15% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - (b) 적어도 25%, 바람직하게는 적어도 30%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - (c) 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - (d) 적어도 40%, 바람직하게는 적어도 50%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - (e) 적어도 22%, 바람직하게는 적어도 28%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - (f) 적어도 8%, 바람직하게는 적어도 12%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - (v) 이는 IgG1 타입 항체이다.

청구항 109

제 1항 내지 제 108항 중 어느 한 항에 있어서, 추가 작용제에 컨쥬게이션된 항-EGFR 항체.

청구항 110

제 109항에 있어서, 추가 작용제가 치료적으로 활성인 물질인 항-EGFR 항체.

청구항 111

제 109항 또는 제 110항에 있어서, 추가 작용제가 방사성핵종, 화학요법제, 항체, 효소, 상호작용 도메인, 검출 가능한 표지, 독소, 세포용해 성분, 면역조절물질, 면역이펙터, MHC 클래스 I 또는 클래스 II 항원, 방사성동위원소 및 리포솜으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 112

제 1항 내지 제 111항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합 (Fc γ RIIIa-158F/F)이거나 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합 (Fc γ RIIIa-158V/F)인 항-EGFR 항체.

청구항 113

제 1항 내지 제 111항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합 (Fc γ RIIIa-158V/V)인 항-EGFR 항체.

청구항 114

제 1항 내지 제 113항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 이들의 Fc γ RIIIa 동종이형과 무관하게 환자를 치료하기 위한 것인 항-EGFR 항체.

청구항 115

제 1항 내지 제 114항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 K-RAS 돌연변이를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 116

제 1항 내지 제 115항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 EGFR 양성 신생물 질환의 K-RAS 돌연변이 상태와 무관하게 환자를 치료하기 위한 것인 항-EGFR 항체.

청구항 117

제 1항 내지 제 116항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 적어도 하나의 화학요법제에 내성이거나

나 적어도 하나의 화학요법제를 이용한 치료 후에 진행된 항-EGFR 항체.

청구항 118

제 1항 내지 제 117항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 EGFR 억제제에 내성이거나 EGFR 억제제를 이용한 치료 후에 진행된 항-EGFR 항체.

청구항 119

제 118항에 있어서, EGFR 억제제가 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®), 잘루투무맙 및 GA201인 항-EGFR 항체.

청구항 120

제 119항에 있어서, 항-EGFR 항체가 세톡시맙 (Erbix®)인 항-EGFR 항체.

청구항 121

제 118항에 있어서, EGFR 억제제가 티로신 키나제 억제제, 예컨대 게피티닙, 에를로티닙 및 라파티닙인 항-EGFR 항체.

청구항 122

제 1항 내지 제 121항 중 어느 한 항에 있어서, 원발성 종양을 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 123

제 1항 내지 제 121항 중 어느 한 항에 있어서, 재발성 종양을 치료하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 124

제 1항 내지 제 123항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 애쥬번트 치료, 네오애쥬번트 치료, 네오애쥬번트-애쥬번트 치료 또는 완화 치료를 위한 것인 항-EGFR 항체.

청구항 125

제 1항 내지 제 124항 중 어느 한 항에 있어서, 단일요법으로서 사용하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 126

제 1항 내지 제 125항 중 어느 한 항에 있어서, 조합 요법에 사용하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 127

제 126항에 있어서,

- (i) 적어도 하나의 화학요법제; 및/또는
- (ii) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 적어도 하나의 추가의 치료적 항체; 및/또는
- (iv) 암 수술 및/또는 방사선요법과 함께 사용하기 위한 항-EGFR 항체.

청구항 128

제 127항에 있어서, 적어도 하나의 화학요법제가 탁산, 예컨대 파클리탁셀(탁솔), 도세탁셀(탁소테레) 및 SB-T-1214; 사이클로포스파미드; 라파티닙; 카페시타빈; 시타라빈; 비노렐빈; 베바시주맙; 겐시타빈; 안트라사이클린, 예컨대 다우노루비신, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신, 발루비신 및 미톡산트론; 아로마타제 억제제, 예컨대 아미노글루테티미드, 테스토락톤 (테슬락), 아나스트로졸 (아리미렉스), 레트로졸 (페마라), 엑세메스탄 (아로마신), 보로졸 (리비조르), 포르메스탄 (렌타론), 파드로졸 (아페마), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온 (ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온 (6-OXO); 국소이성화 효소 억제제, 예컨대 이리노테칸, 토포테칸, 캄포테신, 라멜라린 D, 에토포시드 (VP-16), 테니포시드, 독소루비신, 다우노루비신, 미톡산트론, 암사크린, 엘리프티신, 아우르인트리카르복실산 및 HU-331; 백금 기반 화학요

법제, 예컨대 시스-디아민디클로로백금(II) (시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이트)백금(II) (카르보플라틴) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II) (옥살리플라틴), 및 항대사물질, 특히 항폴린산제, 예컨대 메토티렉세이트, 페메트렉세드, 알티트렉세드 및 프랄라트렉세이트, 피리미딘 유사체, 예컨대 플루오로우라실, 겐시타빈, 플록스우리딘, 5-플루오로우라실 및 테가푸르-우라실, 및 퓨린 유사체, 선택적인 에스트로겐 수용체 조절제 및 에스트로겐 수용체 하향조절제로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 129

제 127항 또는 제 128항에 있어서, 적어도 하나의 화학요법제가 백금 기반 화학요법제 또는 국소이성화효소 억제제인 항-EGFR 항체.

청구항 130

제 127항 내지 제 129항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 화학요법제가 이리노테칸인 항-EGFR 항체.

청구항 131

제 127항 내지 제 129항 중 어느 한 항에 있어서, 항-EGFR 항체가,

- (i) 폴린산, 플루오로우라실 및 옥살리플라틴 (FOLFOX); 또는
- (ii) 폴린산, 플루오로우라실 및 이리노테칸 (FOLFIRI)과 조합되는 항-EGFR 항체.

청구항 132

제 127항 내지 제 131항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 추가의 치료적 항체가 항-EGFR 항체, 예컨대 파니투모맵 (Vectibix) 및 니모투주맵(Theraloc); 항-HER2 항체, 예컨대 트라스투주맵(Herceptin) 및 퍼투주맵; 항-VEGF 항체, 예컨대 베바시주맵(Avastin); 항-CD52 항체, 예컨대 알렘투주맵(Campath); 항-CD30 항체, 예컨대 브렌텍시맵(Adcetris); 항-CD33 항체, 예컨대 겐투주맵(Mylotarg); 및 항-CD20 항체, 예컨대 리톡시맵(Rituxan, Mabthera), 토시투모맵(Bexxar) 및 이브리투모맵(Zevalin)으로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 133

제 1항 내지 제 132항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 또 다른 EGFR 억제제와 함께 이용되지 않는 항-EGFR 항체.

청구항 134

제 1항 내지 제 133항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 12 내지 2000 mg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 135

제 134항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 240 내지 1200 mg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 136

제 134항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 700 내지 1500 mg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 137

제 1항 내지 제 136항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 0.5 내지 50 mg/환자의 체중 kg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 138

제 137항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 2 내지 20 mg/환자의 체중 kg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의

투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 139

제 137항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 10 내지 25 mg/환자의 체중 kg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 140

제 1항 내지 제 139항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 5 내지 1000 mg/환자의 체표면적 m^2 의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 141

제 140항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 100 내지 600 mg/환자의 체표면적 m^2 의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 142

제 140항에 있어서, 상기 치료가 용량 당 300 내지 750 mg/환자의 체표면적 m^2 의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 143

제 1항 내지 제 142항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료가 5일마다 또는 덜 빈번하게 1회 용량의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 144

제 143항에 있어서, 상기 치료가 매주 또는 덜 빈번하게 1회 용량의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 145

제 143항에 있어서, 상기 치료가 격주 또는 덜 빈번하게 1회 용량의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 146

제 1항 내지 제 145항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료에서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 초기 용량이 후속 용량에 존재하는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 1.1 내지 3배 양을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 147

제 146항에 있어서, 상기 치료에서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 초기 용량이 후속 용량에 존재하는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 1.2 내지 1.6배 양을 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 148

제 1항 내지 제 147항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 적어도 6회 용량의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 149

제 1항 내지 제 148항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 적어도 6주 동안 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료되는 항-EGFR 항체.

청구항 150

제 1항 내지 제 149항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 감소된 푸코스 항

-EGFR 항체의 첫 번째 용량의 투여 후에 사이토카인 방출의 유도를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 151

제 150항에 있어서, 사이토카인이 IFN- γ , IL-6, IL-8, TNF- α , IP-10 및 IL-1ra로 구성된 군으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.

청구항 152

제 1항 내지 제 151항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 첫 번째 용량이 2개의 분리된 부분 용량으로서 환자에게 4일 내에 투여되는 항-EGFR 항체.

청구항 153

제 152항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 첫 번째 용량이 2개의 분리된 부분 용량으로서 환자에게 2일 연속 투여되는 항-EGFR 항체.

청구항 154

제 152항 또는 제 153항에 있어서, 첫 번째 부분 용량이 150 mg 이하의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 포함하고, 적어도 1시간의 기간에 걸쳐 환자에게 투여되는 항-EGFR 항체.

청구항 155

제 154항에 있어서, 첫 번째 부분 용량이 100 mg 이하의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 포함하고, 적어도 2시간의 기간에 걸쳐 주입을 통해 환자에게 투여되는 항-EGFR 항체.

청구항 156

제 1항 내지 제 155항 중 어느 한 항에 있어서, 히스타민 길항제 및/또는 스테로이드 및/또는 테트라사이클린이 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여 전에 전-투약으로서 또는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여 후에 제공되지 않는 항-EGFR 항체.

청구항 157

제 1항 내지 제 156항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 해열 특성을 갖는 작용제를 이용한 환자의 전-투약과 조합되는 항-EGFR 항체.

청구항 158

제 157항에 있어서, 해열 특성을 갖는 작용제가 N-(4-하이드록시페닐)아세트아미드인 항-EGFR 항체.

청구항 159

제 157항 또는 제 158항에 있어서, 전-투약이 적어도 2개의 분리된 용량의 해열 특성을 갖는 작용제를 포함하는 한편, 첫 번째 용량이 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 투여하기 8시간 내지 48시간 전에 제공되고 두 번째 용량이 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 투여하기 5분 내지 6시간 전에 제공되는 항-EGFR 항체.

청구항 160

제 159항에 있어서, 각각의 용량이 250 mg 내지 1500 mg, 특히 약 1000 mg의 해열 특성을 갖는 작용제를 함유하는 항-EGFR 항체.

청구항 161

제 157항 내지 제 160항 중 어느 한 항에 있어서, 전-투약이 하기 단계를 포함하거나 이로 구성되는 항-EGFR 항체:

- a) 항체의 투여 전 저녁에 약 1000 mg의 N-(4-하이드록시페닐)아세트아미드의 첫 번째 용량, 및
- b) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 투여하기 1시간 전에 약 1000 mg의 N-(4-하이드록시페닐)아세트아미드의 두

번째 용량.

청구항 162

제 1항 내지 제 161항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료가 하기 중 하나 이상, 바람직하게는 전부를 포함하는 항-EGFR 항체:

(i) 특히 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 EGFR의 결합을 통해, EGFR 양성 신생물 질환의 세포 상에서 EGFR 활성화 억제;

(ii) 특히 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해, 면역 세포, 바람직하게는 자연살세포의 활성화를 통해, EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대해 유도된 항체-의존성 세포 세포독성의 유도;

(iii) 특히 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 과립구의 결합 및 활성화를 통해, EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 공격하고 바람직하게는 파괴하는 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 유도;

(iv) 특히 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화를 통해, EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 공격하고 바람직하게는 파괴하는 대식세포의 유도.

청구항 163

제 1항 내지 제 162항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료가 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해, 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 파괴하는 상기 활성화된 과립구의 유도를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 164

제 1항 내지 제 163항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료가 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 파괴하는 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 165

인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대한 과립구-유래된 면역 반응을 유도하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체로서, 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체), 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있는, 항-EGFR 항체.

청구항 166

제 165항에 있어서, 과립구-유래된 면역 반응이 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 파괴하는 상기 활성화된 과립구의 유도를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 167

제 165항 또는 제 166항에 있어서, 과립구가 호중구 및/또는 호산구 과립구인 항-EGFR 항체.

청구항 168

인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대한 대식세포-유래된 면역 반응을 유도하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체로서, 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체), 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있는, 항-EGFR 항체.

청구항 169

제 168항에 있어서, 대식세포-유래된 면역 반응이 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 파괴하는 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함하는 항-EGFR 항체.

청구항 170

제 165항 내지 제 169항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 제 1항 내지 제 164항 중 어느 한 항에 정의된 항체이고/거나, EGFR 양성 신생물 질환이 제 1항 내지 제 164항 중 어느 한 항에 정의된 질환이고/거나, 환자가 제 1항 내지 제 164항 중 어느 한 항에 정의된 환자인 항-EGFR 항체.

청구항 171

제 1항 내지 제 170항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적 조성물 내에 포함되는 항-EGFR 항체.

청구항 172

제 171항에 있어서,

- (i) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 모든 글리칸의 20% 이하, 바람직하게는 15% 이하가 푸코스를 지니고;
- (ii) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 모든 글리칸의 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%가 양분성 GlcNAc를 지니고;
- (iii) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 모든 글리칸의 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%가 적어도 하나의 갈락토스를 지니고;
- (iv) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 모든 글리칸의 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 35%가 2개의 갈락토스를 지니고;
- (v) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 모든 글리칸의 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 8%가 적어도 하나의 시알산을 지니고;
- (vi) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 모든 글리칸의 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%가 2개의 시알산을 지니고;
- (vii) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 글리칸이 검출가능한 양의 NeuGc를 지니지 않고;
- (viii) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 글리칸이 검출가능한 양의 Gal α1,3-Gal을 지니지 않고;
- (ix) 상기 약학적 조성물 내의 상기 항-EGFR 항체 모두의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 글리칸이 검출가능한 양의 α2,6-커플링된 NeuAc을 지니는 항-EGFR 항체.

청구항 173

CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체로서, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체), 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있는 항-EGFR 항체를 이용하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는, EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 환자의 EGFR 억제제를 이용한 치료에서의 부작용을 감소시키는 방법.

청구항 174

제 173항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 용량당 적어도 200 mg의 양으로 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 175

제 173항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 용량당 적어도 500 mg의 양으로 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 176

제 173항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 용량 당 적어도 700 mg의 양으로 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 177

제 173항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 용량 당 적어도 900 mg의 양으로 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 178

제 173항 내지 제 177항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 5일마다 1회 용량 내지 3주마다 1회 용량의 간격으로 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 179

제 178항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 매주 투여되는 방법.

청구항 180

제 178항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 격주 투여되는 방법.

청구항 181

제 173항 내지 제 180항 중 어느 한 항에 있어서, 환자가 EGFR 억제체에 의해 발생한 여드름모양 피부 발진으로 고통받았던 방법.

청구항 182

제 181항에 있어서, 여드름모양 피부 발진이 3등급 이상이었던 방법.

청구항 183

제 182항에 있어서, 여드름모양 피부 발진의 중증도가 적어도 한 등급만큼 감소하는 방법.

청구항 184

제 181항 내지 제 183항 중 어느 한 항에 있어서, 피부 부작용을 앓고 있는 환자의 신체 표면적이 적어도 10%만큼 감소하는 방법.

청구항 185

제 184항에 있어서, 피부 부작용을 앓고 있는 환자의 신체 표면적이 적어도 20%만큼 감소하는 방법.

청구항 186

제 185항에 있어서, 피부 부작용을 앓고 있는 환자의 신체 표면적이 적어도 50%만큼 감소하는 방법.

청구항 187

제 181항 내지 제 186항 중 어느 한 항에 있어서, 피부 부작용이 감소되어 더 이상 발생하지 않는 방법.

청구항 188

제 173항 내지 제 187항 중 어느 한 항에 있어서, 부작용의 감소가 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 8주 이내의 치료 후에 발생하는 방법.

청구항 189

제 188항에 있어서, 부작용의 감소가 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 6주 이내의 치료 후에 발생하는 방

법.

청구항 190

제 189항에 있어서, 부작용의 감소가 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 4주 이내의 치료 후에 발생하는 방법.

청구항 191

제 173항 내지 제 190항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 70% 이상에서 피부 부작용을 발생시키는 방법.

청구항 192

제 191항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 80% 이상에서 피부 부작용을 발생시키는 방법.

청구항 193

제 191항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 90% 이상에서 피부 부작용을 발생시키는 방법.

청구항 194

제 173항 내지 제 193항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 25% 이상에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 방법.

청구항 195

제 194항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 30% 이상에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 방법.

청구항 196

제 195항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 35% 이상에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 방법.

청구항 197

제 173항 내지 제 196항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 60% 이상에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 방법.

청구항 198

제 197항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 70% 이상에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 방법.

청구항 199

제 198항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 80% 이상에서 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 방법.

청구항 200

제 173항 내지 제 199항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 25% 이상에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 방법.

청구항 201

제 200항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 30% 이상에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 방법.

청구항 202

제 201항에 있어서, EGFR 억제제가 치료되는 환자의 35% 이상에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 방법.

청구항 203

제 173항 내지 제 202항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제가 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맵 (Erbix®), 파니투무맵 (Vectibix®) 및 GA201인 방법.

청구항 204

제 173항 내지 제 203항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제를 이용한 치료가 높은 투여량 치료인 방법.

청구항 205

제 173항 내지 제 204항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제를 이용한 치료가 환자의 신체 표면적 1 m²에 대해 적어도 200 mg의 세톡시맵 (Erbix®)의 매주 투여를 포함하는 방법.

청구항 206

제 205항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 세톡시맵 (Erbix®)과 동일하거나 보다 높은 양으로 환자에게 투여되는 방법.

청구항 207

제 173항 내지 제 206항 중 어느 한 항에 있어서, EGFR 억제제를 이용한 치료가 중단되는 방법.

청구항 208

제 173항 내지 제 207항 중 어느 한 항에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 제 1항 내지 제 172항 중 어느 한 항에 정의된 항체이고/거나, EGFR 양성 신생물 질환이 제 1항 내지 제 172항 중 어느 한 항에 정의된 질환이고/거나, 환자가 제 1항 내지 제 172항 중 어느 한 항에 정의된 환자이고/거나, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 제 1항 내지 제 172항 중 어느 한 항에 정의된 치료인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

발명의 분야

[0002]

본 발명은 항암 치료에 개선된 특징을 갖는 항-EGFR 항체의 신규한 의학적 용도에 관한 것이다. 상기 항-EGFR 항체는 피부 반응과 같은 부작용 효과의 발생이 크게 감소한 양호한 치료적 효능을 나타낸다. 따라서, 이러한 항체를 이용한 암 환자의 치료는 잘 관용되며 통상적인 항-EGFR 항체에 의해 야기된 심각한 부작용으로 인해 달리 치료할 수 없었던 환자를 치료할 수 있다.

배경 기술

[0003]

발명의 배경

[0004]

항체는 의학 및 연구 분야에서 널리 사용되는 작용제이다. 의학에서, 이들은 많은 다양한 분야, 특히 다양한 질병, 특히 신생물 질병, 예를 들어, 암의 치료 및 예방에서 치료제로서 실용성을 갖는다. 그러나, 암 환자의 항체 요법에 의해 수득되는 치료 결과는 매우 가변적이다. 항암 항체를 이용한 요법의 유의한 백분율은 질병의 완화를 나타내지 않거나 완화를 매우 적게 나타내고, 때때로 특정 환자 그룹으로 제한된다.

[0005]

확립된 예시적인 항암 항체는 표피 성장 인자 수용체 (EGFR)에 대한 항체이다. EGF 수용체는 형질막에 고정된 수용체 티로신 키나제이다. EGFR의 세포의 도메인에 리간드 표피 성장 인자 (EGF) 또는 전환 성장 인자 알파 (TGF α)의 결합은 수용체의 이합체화 및 이의 세포내 단백질-티로신 키나제 활성의 자극을 발생시킨다. 활성 수용체 이합체에 의해 개시되는 신호 전달 캐스케이드는 세포 이동, 부착, 및 증식을 제어한다. 인간 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 단백질은 EGFR 과발현에 의해 또는 EGFR 단백질에서의 돌연변이에 의해, 높은 EGFR 활성을 포함하는 암에 대한 항체 요법에 있어서 독특하고 유용한 표적인 것으로 여겨진다. EGFR은 결장직장암, 폐암, 췌장암 및 두경부암을 포함하지만 이로 제한되지 않는 여러 암에서 과발현된다. EGFR 또는 패밀리 구성원의 돌연변이, 증폭 또는 탈조절은 모든 상피암의 약 30%의 원인이며 불량한 예후와 연관된다.

- [0006] EGFR에 대해 유도되는 여러 항체가 당 분야에 알려져 있다. 이들 중 일부는 의학적 적용을 위해 이미 승인되었다. 예를 들어, 재조합 키메라 마우스/인간 IgG1 항-EGFR 모노클로날 항체 세톡시맵 (Erbix®TM, Merck)은 전이성 결장직장암 및 두경부의 편평세포암의 치료를 위해 유럽 및 미국에서 임상 사용이 승인되었다. 세톡시맵은 단일요법 및 조합요법으로 이용된다. 세톡시맵은 SP2/0 세포 (뮤린 세포주)에서 발견되고, 따라서 고도로 푸코실화되며 전반적인 뮤린 당화 패턴을 갖는다. 의학적 적용을 위해 승인된 다른 항-EGFR 항체는 인간 모노클로날 IgG2 항체 파니투무맵 (Vectibix®TM, Amgen)이다.
- [0007] 이러한 항-EGFR 항체는 EGFR 신호전달을 억제할 수 있으므로 암 치료에 효과적이다. 이들은 EGFR의 세포외 도메인에 결합하여 EGF 및 TGF α 와 같은 자연 활성화 리간드의 결합을 억제함에 의해, EGFR의 이합체화 및 활성화 및 이의 다운스트림 신호전달 캐스케이드를 억제한다. 이러한 작용 메커니즘은 증식을 위해 EGFR의 활성화에 의존하는 종양에만 관련됨을 주목해야 한다. 그러나, 특히 결장직장암에서, 종양의 대부분은 K-Ras 단백질이 지속적으로 활성이 되게 하는 Kirsten Ras 유전자 (KRAS)에서의 돌연변이를 포함한다. K-Ras는 EGFR의 다운스트림 신호전달 캐스케이드의 중요한 구성원이고 EGFR 신호전달의 억제는 일반적으로 K-Ras가 지속적으로 활성인 종양에 아무런 효과를 갖지 않을 것이다. 이것 때문에, 세톡시맵 및 파니투무맵은 KRAS 야생형 전이성 결장직장암의 치료에 대해서만 승인된다.
- [0008] 추가 작용 방식으로서, IgG1 항체 세톡시맵은 또한 항체-의존적인 세포-매개된 세포독성 (ADCC)을 유도한다. 표적 암세포의 표면 위의 그 항원에 결합된 항체는 면역 세포를 동원하고, 이어서 암세포를 파괴한다. 이는 면역 세포 상의 Fc γ 수용체에 대한 항체의 불변 영역의 결합에 의해 매개된다. 특히, IgG1 항체의 Fc 영역은 자연살세포 상의 Fc γ RIIIa에 결합한다.
- [0009] 비푸코실화된(afucosylated) IgG1 항체를 포함하는 감소된 푸코스는 향상된 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 갖는 것으로 밝혀졌고, 따라서 바이오베터(biobetter) 항체의 개발 기회를 제공한다. 증거는 일차 N-아세틸글루코사민으로부터의 푸코스의 부재가 Fc γ RIIIa 수용체에 대한 IgG1 항체 결합의 증가된 친화성, 및 결과로서 자연살세포(NK)에 의해 매개되는 증가된 ADCC 효능을 발생시키는 것을 암시한다. 이는 푸코스 잔기의 첨가에 있어서 불완전한 돌연변이 CHO 세포, 특히 α (1-6) 푸코실트랜스퍼라제 효소가 녹아웃된 CHO 세포에서 생성된 푸코실화되지 않은 글리코폼을 이용한 연구에서 확인된다. Fc γ RI 또는 보체의 C1 성분에 대한 푸코실화되지 않은 IgG1 글리코폼의 친화성은 영향을 받지 않는 것으로 보고되었고; Fc γ RIIIa 및 Fc γ RIIb에 대한 친화성에서의 작은 증가가 보고되었으나, 활성/억제 비가 유지됨에 따라, 기능적으로 유의하지 않은 것으로 결론 내려졌다. 비푸코실화된 IgG-Fc에 대해 관찰된 향상된 ADCC는 부분적으로 정상 혈청 IgG의 경쟁을 극복하는 Fc γ RIIIa에 대한 증가된 친화성으로부터 발생한다. 개선된 ADCC가 또한 비푸코실화된 세톡시맵에 대해 제공되었다. Fc γ RIIIa 수용체는 다형태이고, Fc γ RIIIa-158V(발린) 형태가 Fc γ RIIIa-158F(페닐알라닌) 형태보다 푸코실화된 IgG1에 대해 더 높은 친화성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 푸코실화된 IgG1 항체가 동형접합 Fc γ RIIIa-158F 또는 이형접합 Fc γ RIIIa-158V/Fc γ RIIIa-158F 세포를 통하는 것보다 동형접합 Fc γ RIIIa-158V를 갖는 세포를 통해 ADCC를 매개하는 것이 더욱 효과적인 것이 시험관내에서 입증되었다. 따라서, ADCC 효능에서의 유사한 차이가 발견된 Fc γ RIIIa의 다형태에 따라 생체내에서 부속될 수 있음이 예견되었다. 예를 들어, 문헌 [Zhang et al. (2007) J Clin Oncol 25, 3712-3718]은 Fc γ RIIIa의 대립유전자 상태가 세톡시맵 단일요법을 받은 결장직장암 환자의 무-진행 생존의 평균 시간에 영향을 미침을 기재한다. F/F 동형접합 또는 V/F 이형접합인 약한-반응 환자의 각각의 하위집단을 치료하기 위한 비푸코실화된 항체의 사용이 종래 기술, 예를 들어, US 2006/0182741호에 제안되어 있다. 비푸코실화된 항체 및 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체가 또한 EP 1 500 400 호 및 WO 2008/028686호에 기재되어 있다.
- [0010] 그러나, 여러 유형의 암에 대해 우수한 치료적 결과가 항-EGFR 항체에 의해 얻어진 반면, 신장암, 특히 신세포암종은 지금까지 종종 항체 요법 뿐만 아니라 많은 다른 항암 요법을 회피하였다. 신장암은 종종 항체 요법, 화학요법 또는 방사선요법에 반응하지 않는 것이 일반적으로 관찰된다. 신세포암종의 70% 내지 90%가 EGFR을 발현하지만, 이는 특히 EGFR 표적화 암 치료에 적용된다. 예를 들어, 세톡시맵 (Erbix®TM)을 이용한 II상 임상 연구는 어떠한 부분적이거나 완전한 반응을 나타내지 않았고 진행으로의 매우 짧은 중간 시간만이 관찰되었다 (문헌[Motzer, R.J. et al. (2003) Investigational New Drugs 21, 99-101]을 참조하라). 유사하게, 효능 있는 티로신 키나제 억제제인 EGFR 억제제 ZD1839도 II상 임상 연구에서 치료적 효능을 나타내지 않았다 (문헌 [Drucker, B.J. et al. (2002) Proceedings of the American Society of Clinical Oncology 21, abstract 720]을 참조하라). 따라서, 신장암을 갖는 환자는 매우 불량한 예후를 갖는다. 이러한 반응 부족으로 인해, 신장암, 특히 신세포암종은 모든 비뇨생식기 종양 중에 가장 치명적인 것으로 알려져 있다. 현재 표준 치료는 종양 덩어리의 완전한 수술적 제거이다. 그러나, 전이성 신세포암종은 환자의 약 70%가 이들 질환의 과정 동

안 전이를 발생시키므로 종양전문에게 특별한 도전을 제공한다. 전이성 신세포 암증을 지닌 환자의 5년 생존율은 5 내지 15%로 낮다. 이는 현재 원발성 종양 및 가지적인 전이의 수술적 절제 후에 신세포 암증에 대한 확립된 애췌버트 요법이 존재하지 않는다는 사실에 주로 기반한다. 비특이적 사이토카인의 이용은 지금까지 비효과적인 것으로 밝혀졌다. 대부분의 다른 암과 달리, 신세포 암증은 대부분의 세포독성제 및 세포증식 억제제에 내성이며, 이는 가능한 효과적인 애췌버트 요법을 심각하게 제한한다. 암 백신, 방사선요법, 화학요법, 면역요법, 또는 생물학적 요법의 시도는 심지어 이들이 유망한 시험관내 데이터에 기반한 경우에도 거의 성공하지 못했다. 따라서, 현재 완전히 절제된 고-위험성 신세포 암증에 대한 표준 치료는 다른 치료 없이 긴밀한 관찰뿐이다.

[0011] 그러나, 한 임상 연구에서, 일부 결과가 항-EGFR 항체 파니투무맙 (Amgen Inc.의 ABX-EGF)을 이용하여 획득되었다 (문헌[Rowinsky, E.K. et al. (2004) Journal of Clinical Oncology 22, 3003-3015]을 참조하라). 일부 반응이 관찰되었고 환자의 약 50%는 적어도 8주 동안 안정한 질환을 지녔다. 중간 무-진행 생존은 100일이었다. 그러나, 치료는 매우 높은 피부 부작용 발생과 관련되었다. 투여량 수준에 따라, 최대 100%의 환자는 여드름모양 발진으로 고통받았다. 더욱이, 파니투무맙은 환자에서 ADCC를 유도할 수 없는 IgG2 항체이다. 따라서, KRAS 돌연변이를 갖는 것들과 같이 EGFR 신호전달과 무관한 종양은 파니투무맙을 이용한 치료에 민감하지 않다.

[0012] 따라서, 투명 세포 신장암 및 또한 비-투명 세포 신장암과 같은 신장암을 치료하기 위한 신규한 요법에 대한 중대한 필요성이 있다.

[0013] 세톡시맙 및 또한 다른 EGFR 억제제와 같은 모든 항-EGFR 항체를 이용한 일반적인 관찰은 이들이 빈번하게 피부 부작용을 야기한다는 것이다. 이러한 피부 반응은 경증 피부 자극부터 환자의 신체 표면 대부분을 덮는 심각한 피부 발진의 범위이다. 이러한 피부 발진은 고름물집, 소양증, 종창 및 종종 동통을 동반하며 심각한 경우 케양, 감염 및 심지어 피부 영역의 괴사와 관련될 수 있다. 피부 발진, 특히 여드름모양 발진은 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체로 치료된 환자에서 매우 흔하다. 예를 들어, 항-EGFR 항체 세톡시맙 (Erbix®)으로 치료된 환자의 약 76% 내지 88%는 여드름모양 발진의 영향을 받고, 예를 들어, 최대 17%는 심각한 형태의 이러한 부작용을 갖는다 (예를 들어, Eli Lilly & Co.의 Erbix에 대한 처방 정보를 참조하라). 이러한 피부 부작용은 파니투무맙과 같은 다른 항-EGFR 항체로도 발생한다. 따라서, 피부 독성으로도 언급되는 피부 부작용은 모든 EGFR 억제제의 독특한 부류-특이적 독성이며 특히 항-EGFR 항체 이용시 발생한다고 광범하게 기재된다 (예컨대, 문헌[Li, T. and Perez-Soler, R. (2009) Targeted Oncology 4, 107-119 and Perez-Soler, R. et al. (2005) The Oncologist 10, 345-356]을 참조하라). 피부 부작용이 상이한 항-EGFR 항체를 포함하는 상이한 EGFR 억제제를 이용한 여러 임상 연구로부터 수득된 실험 데이터의 관점에서 그렇게 흔하기 때문에, 오늘날까지 피부 부작용의 발생은 심지어 EGFR 억제제의 효능, 따라서 암 치료의 성공과 직접 관련이 있다고 여겨진다. 따라서, 피부 반응의 발생은 치료 효능에 대한 마커인 것으로 여겨졌다. 예를 들어, 문헌[Fracasso, P.M. et al. (2007) Clinical Cancer Research 13, 986-993]은 이들의 임상 연구 뿐 아니라 다른 연구에서, 항-EGFR 항체 세톡시맙 (Erbix®)을 이용한 치료로 인해 부분적인 반응 또는 안정한 질환을 갖는 환자가 질환이 진행된 환자보다 통계적으로 유의하게 높은 전반적인 발진 등급을 지녔다고 언급하였다. 또한, 문헌[Li, T. and Perez-Soler, R. (2009) Targeted Oncology 4, 107-119]에 따르면, 피부 발진의 존재 및 중증도는 EGFR 억제제를 수용한 환자에서 개선된 임상 효능과 연관된다. 또한, 모노클로날 IgG2 항-EGFR 항체 ABX-EGF (파니투무맙)를 이용한 추가의 I상 임상 연구에서, 환자의 약 80%는 상당수의 심각한 병증을 포함하는 여드름모양 피부 발진으로 고통받았다 (문헌[Rowinsky, E.K. et al. (2004) Journal of Clinical Oncology 22, 3003-3015]을 참조하라). 둘 모두의 연구에서, 피부 부작용은 역시 약물 작용의 잠재적인 마커 및 임상 효과의 잠재적인 대응 마커로서 고려되었다 (또한, 문헌[Perez-Soler et al, 2005]을 참조하라).

[0014] 또한 글리코조작된(glycoengineered) 모노클로날 항-EGFR 항체 RG7160 (GA201)을 이용한 최근의 I상 임상 연구에서 환자의 80%는 피부 발진을 일으켰고, 환자의 25%는 3등급 또는 심지어 4등급의 심각한 발진을 가졌다 (문헌[Paz-Ares, L.G. et al. (2011) Journal of Clinical Oncology 29, 3783-3790]을 참조하라). 이러한 연구는 50 내지 1,400 mg 용량의 항체 이용시 약 50%의 임상적 효과율 (안정한 질환, 부분적인 반응 또는 완전한 반응을 갖는 환자의 비율)을 나타내었다. 환자의 약 5%는 부분적이거나 완전한 반응을 지녔고, 400 mg 미만의 항체로 치료된 환자 중 18%만이 안정한 질환을 나타내었다. 더욱이, 종양 크기에서의 축소가 환자의 26%에서 관찰되었고, 이들 각각은 40 mg 이상의 항체로 치료되었다. 무-진행 생존의 평균 지속기간은 121일이었다. 그러나, 그러한 임상적 효과율은 종종 이들의 첫 정규 화학요법 치료를 받은 환자에서만 달성되었다. 집단을 치료하는 의도에서, 임상적 효과율은 더 낮았다. 추가로, 높은 수의 피부 부작용으로 인해, 환자의 15%는 투여지연을 요구하였고 8%는 용량 감소를 요구하였다. 환자는 또한 피부 부작용으로 인해 연구에서 빠졌다. 환자

의 32%는 연구의 끝에 지속적인 발진에 대한 치료를 추가로 받아야 했다. 피부 발진은 또한 항체가 낮은 투여량으로 제공될 때 높은 발생률로 관찰되었다. 따라서, 이러한 신규한 최적화된 항-EGFR 항체를 이용할 때에도, 심각한 형태를 포함하는 피부 부작용이 발생하였다. 발진의 발생은 활성과 관련된 것으로 여겨졌던 세톡시맙 및 파니투무맙에 대해 이전에 보고된 발진의 발생과 일치하였다고 역시 보고되었다. GA201 이용시에도 발생한 항-EGFR 항체에서 흔한 다른 부작용은 저마그네슘혈증 및 주입-관련 반응 (77%)이었다.

[0015] 유사한 결과가 또한 인간 모노클로날 항-EGFR 항체 잘루투무맙에 대해 수득되었다. 두경부의 전이성 편평 세포암종을 갖는 암 환자의 치료는 전체 생존 및 무-진행 생존에서 약간 내지 중간의 증가를 나타내었다. 그러나, 환자의 92%에서 피부 발진이 보고되었고, 환자의 21%는 3 또는 4 등급의 발진을 가졌다 (문헌[Machiels, J.-P. et al. (2011) *Lancet Oncology* 12, 333-343]을 참조하라).

[0016] 그러나, 이렇게 일반적으로 발생하는 피부 반응은 여러 상이한 양태에 대한 EGFR 억제제 치료에 매우 문제가 된다. 하나를 들어 보면, EGFR 억제제로 치료되는 암 환자는 보통 이미 다소 불량한 일반적인 건강 상태에 있는데 피부 부작용은 환자의 상태를 추가로 악화시켜 심지어 더욱 위독하게 만든다. 따라서, 이러한 환자는 통상적인 EGFR 억제제 요법에 의해 발생한 피부 부작용의 추가의 부담 또는 피부 반응을 치료하기 위한 추가적인 약물치료의 부담을 거의 용인할 수 없다. 더욱이, 피부 반응이 심각한 형태로 발생하는 경우, 여기에 피부 괴사 또는 이차 감염이 동반될 수 있으며, 이는 쉽게 골치거리가 될 수 있거나 심지어 암 환자의 생명을 위협할 수 있다. 심각한 피부과 독성의 발생 이후, S.아우레우스(*S.aureus*) 패혈증 및 절개 및 배출을 필요로 하는 농양을 포함하는 합병증이 보고되었다. 또한, 2012년 7월에, Amgen은 항-EGFR 항체 파니투무맙을 이용한 치료 동안 사망 발생과 함께 생명을 위협하는 감염성 합병증이 치료에 의해 발생한 심각한 피부 부작용, 특히 괴사성 근막염 및 패혈증과 관련된 치료 동안 발생하였음을 의학 종사자들에게 알리고 경고하는 레드-핸드 레터(red-hand letter)를 보냈다. 특히 말기 암 환자는 종종 상이한 화학요법 치료 후에 단지 감소된 면역 반응만을 지니며 어떤 추가의 합병증을 피해야 한다. 그러나 보다 양호한 일반적인 건강 상태를 갖는 환자에 대해서도 피부 부작용은 심리적 수준에서의 이들의 엄청나게 부정적인 효과로 인해 역시 심각한 합병증이 될 수 있다. EGFR 억제제가 유도한 피부 발진은 종종 얼굴을 포함하는 상체 부분에 영향을 주므로, 숨길 수가 없다. 따라서, 이는 다른 사람에게 보여진다. 다수의 환자의 경우에 심지어 덜 심각한 피부 부작용이 참을 수 없는 심리적 부담으로 발전할 수 있고 이는 치료의 중단을 초래할 수 있다.

[0017] 더욱이, 지금까지 이러한 피부 부작용의 치료 또는 예방을 위한 일반적인 방법은 없었다 (문헌[Li, T. and Perez-Soler, R. (2009) *Targeted Oncology* 4, 107-119, and Perez-Soler, R. et al. (2005) *The Oncologist* 10, 345-356]을 참조하라). 오히려, 각 환자는 EGFR 억제제를 이용한 암 치료에 더하여 피부 반응을 개별적으로 치료받아야 한다. Erbitux®에 대한 처방 정보에서, 경구 테트라사이클린 및 다른 요법을 이용한 예방적 공동-치료가 권장된다. 그러나, 문헌은 EGFR 억제제 치료, 특히 항-EGFR 항체 치료 동안 발생한 피부 부작용을 관리하기 위한 신규한 요법이 시급히 요구된다고 기재하고 있다.

[0018] 치료시 피부 부작용, 특히 3등급 이상과 같은 심각한 형태의 피부 부작용의 중요성 및 영향은 또한 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 심각한 피부 부작용이 발생한 경우 적합화되어야 한다는 사실로부터 명백해진다. 예컨대, 3등급 이상의 심각한 피부 부작용이 세톡시맙을 이용한 치료 동안 발생하면, 치료는 중단되어야 하며 피부 부작용이 2등급으로 감소할 때에만 계속될 수 있다. 3등급 이상의 피부 부작용이 두 번째 또는 세 번째 시간 동안 재발한 경우, 치료는 중단되어야 하며 치료를 계속할 때 투여량은 감소되어야 한다. 피부 부작용이 다시 재발하거나 피부 부작용이 2등급으로 돌아가지 않으면, 세톡시맙을 이용한 치료는 심지어 종결되어야 한다 (Erbitux® 처방 정보를 참조하라). 유사한 치료 계획이 항-EGFR 억제제 파니투무맙에 대해 제공된다 (처방 정보를 참조하라). 따라서, 심각한 피부 부작용을 다루는 유일한 방법은 용량 감소 또는 EGFR 억제제 치료의 중단 또는 종결이다 (또한, 문헌[Fracasso, P.M. et al. (2007) *Clinical Cancer Reserch* 13, 986-993 and Li, T. and Perez-Soler, R. (2009)]을 참조하라). 그러나, 치료 중단 또는 종결의 경우에, 암은 더 이상 치료되지 않으며, 따라서 특히 다른 치료 옵션이 없는 환자에서 추가의 종양 진행 및 전이성 확산은 충분히 피부 부작용의 직접적인 결과가 될 수 있다. 진행된 암을 갖는 환자에서, 이는 극단적인 결과를 초래할 수 있다. 용량 감소 동안 효능이 감소될 수 있으므로 유사한 문제가 발생할 수 있다.

[0019] 따라서, 분명 이러한 피부 반응은 항-EGFR 항체 및 다른 EGFR 억제제를 이용한 치료에 중요하고 이와 관련되며, 또한 치료 스케줄 및 환자 관리에 중요한 영향을 준다. 따라서, 피부 부작용, 특히 3등급 및 그 초과 심각한 피부 반응을 회피하거나 발생을 감소시키는 항-EGFR 항체를 이용한 신규한 치료가 요구된다.

[0020] 암 환자가 갖는 또 다른 주요 합병증은 악성 삼출이다 (또한 소위 악성종양-관련 삼출, 즉 악성 암 질환에 의해

발생한 혈액 또는 림프 혈관으로부터 체강으로의 유체의 탈출)(예컨대, 문헌[Covey, A.M. (2005) The Journal of Supportive Oncology 3, 169-176 and Olopade, O.I. and Ultmann, J.E. (1991) Cancer Journal for Clinicians 41, 166-179]을 참조하라). 이러한 삼출은 일반적으로 환자에게 적어도 약간의 완화를 제공하기 위해 천공에 의해 배출되어야 한다. 그러나, 이러한 절차는 매우 고통스럽고 이차 감염 또는 저혈압과 같은 합병증의 위험을 제기한다. 더욱이, 삼출액 배출은 증상만을 겨냥한 것이고, 빈번하게 반복되어야 하는데 이는 동통 및 합병증의 위험을 증가시키며 환자에게 매우 번거롭다. 삼출은 체강을 라이닝하고 있는 막을 통한 유체 수송의 탈조절에 의해 발생한다. 체강을 라이닝하고 있는 막 (중피)에 영향을 주는 원발성 종양 또는 전이는, 예를 들어, 제어되지 않은 유체 유입 및/또는 방해된 유체 유출을 발생시킬 수 있다. 특히, 흉막 삼출 및 복막 삼출 (즉, 복수)은 진행된 암 또는 말기 암을 갖는 많은 환자에게 영향을 준다. 흉막 삼출은 흉강에서의 과도한 유체 집적이고 종종 호흡곤란, 기침 및 흉통과 관련된다. 악성 흉막 삼출의 근간이 되는 가장 흔한 유형의 암은 폐 및 유방암 뿐만 아니라 림프종이다. 그러나, 원칙적으로 임의의 암은 개개의 중피에도 영향을 줄 수 있는 전이성 확산으로 인해 악성 삼출을 발생시킬 수 있다. 악성 복수는 주로 난소, 유방, 위, 췌장, 간 및 결장암 그리고 림프종과 관련된다. 삼출에 의해 직접 발생한 부담 및 동통 외에, 이것은 또한 결과적인 부동성, 삼출액의 배출을 위한 노력 및 그로 인해 발생한 동통으로 인해 환자의 삶의 질에 크게 불리한 영향을 준다. 그러나, 악성 삼출이 종종 진행된 암 또는 심지어 말기 암을 갖는 환자에서 발생하기 때문에, 많은 병증에서의 표준 암 요법은 삼출에 대해 효과를 갖지 않는다. 암 치료에 관해 삼출의 중요성은 악성 삼출의 치료를 위해 구체적으로 승인된 약물에 의해 또한 강조된다. 따라서, 악성 삼출은 치료되어야 하는 별도의 추가적인 적응증으로서 보여진다. 예를 들어, 카툼악소맙(catumaxomab) (Trion Pharma에 의해 Removab®)은 악성 복수의 치료에 이용되는 이특이적 항체이다. 그러나, 이는 -암 치료 외에- 보통 추가의 부작용과 관련되고 암 환자의 부담을 현저하게 가중시키는 추가의 요법으로 이어진다. 예를 들어, 카툼악소맙은 치료되는 환자의 약 90%에서 부작용을 일으킨다 (Fresenius Biotech GmbH의 Removab에 대한 처방 정보를 참조하라).

[0021] 따라서, 악성 삼출의 신규한 치료에 대한 요구가 또한 존재한다. 특히, 악성 삼출의 치료도 가능한 항암 치료에 대한 요구가 존재한다.

[0022] 상기에 비추어, EGFR 양성 신생물 질환, 특히 EGFR 양성 악성 상피성 종양의 신규하고 개선된 치료에 대한 큰 필요성이 있음이 자명하다. 특히, 항-EGFR 항체를 이용하지만, 통상적인 항-EGFR 항체 요법에 의해 발생하는 매우 흔한 심각한 피부 부작용과 관련된 문제를 해소한 EGFR 양성 암의 효과적인 치료를 제공해 달라는 요구가 높다. 게다가, 신장암, 특히 투명 세포 및 비-투명 세포 신장 암종에 대해서도 효과적인 신규한 치료가 요구된다. 또한, 악성 삼출을 효과적으로 예방하거나 감소시키는 암 치료에 대한 필요성도 크다.

발명의 내용

[0023] **발명의 개요**

[0024] Fc 영역에 감소된 (부재를 포함) 푸코실화를 갖는 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 임상 연구에서 현저한 치료적 프로파일 및 높은 치료 효능을 나타낸다. 예컨대, 상기 항-EGFR 항체는 결장암, 폐암, 위암, 및 상이한 유형의 신세포 암종을 포함하는 신장암과 같은 광범한 범위의 상이한 EGFR-양성 신생물 질환에 대해 효과적이다. 상기 항-EGFR 항체는 또한 상이한 형태의 전이에 대해 효과적인 것으로 밝혀졌다. 더욱이, 본 발명에 따른 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 또한 EGFR 양성 악성 질환과 관련된 삼출에 대해 매우 효과적이고, 흉막 및/또는 복막 삼출을 치료하는데 특히 효과적이다. 따라서, 본 발명은, 심지어 단일요법 상황에서도, 상기 질환으로 고통받는 환자에게 신규한 치료를 제공한다.

[0025] 동시에, 본 발명은 놀랍게도 본 발명에 따른 항-EGFR 항체가 통상적인 EGFR 억제제보다, 특히 현재 이용되는 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®, Amgen) 또는 새롭게 개발된 항-EGFR 항체, 예컨대 GA201보다 현저하게 적은 더 경증의 피부 부작용을 발생시킴을 발견하였다. 상기 기재된 대로, 통상적인 항-EGFR 항체는 항상 심각한 부작용, 특히 여드름모양 발진과 같은 피부 부작용과 관련된다. 이러한 피부 부작용이 항-EGFR 항체에 대해 그렇게 일반적이므로, 종래 기술에서 이들은 심지어 EGFR 억제제의 치료 효능에 대한 지시인자로서 고려되었다 (상기 참조). 그러나, 본 발명은 EGFR 억제제를 이용한 효율적인 치료가 다수의 치료되는 환자에서 심각한 피부 반응을 포함하는 피부 부작용과 필연적으로 관련된다는 가정을 반증한다. 본원에 제시된 임상 데이터에 제시된 대로, 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 단지 경증 내지 중간 정도의 피부 부작용을 나타내고 심지어 이러한 경증의 피부 반응은 치료되는 환자의 50% 미만에서만 발생한다. 3등급 이상의 심각한 피부 부작용은 지금까지 임상 연구에서 관찰되지 않았다. 이는 환자의 80% 이상에서 피부 부작용을 발생시키고 다수의 병증에서 3등급 및 그 초과 피부 부작용을 발생시키는 Erbitux®, 파니투무맙, 잘

루투무맙 및 GA201과 같은 종래 기술의 항-EGFR 항체로부터 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 구별짓는 매우 현저한 특징이다. 그럼에도 불구하고, 완전한 인간 검정을 포함하는 시험관내 시험, 및 임상 연구에서 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 대해 높은 치료 효능이 입증된다. 더욱이, 본원에 제공된 임상 데이터에 제시된 대로, 또한 일반적인 부작용 프로파일이 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에서 개선되었는데, 이는 장기간 치료에 중요하다. 예를 들어, 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 건강에 중요한 낮은 혈중 마그네슘 수준인 저마그네슘혈증의 위험이 감소된 반면, 통상적인 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 거의 모든 치료된 환자에서 점진적인 마그네슘 손실을 발생시켜, 환자의 최대 55%에서 저마그네슘혈증을 발생시켰다. 더욱이, 알레르기 반응이 보고되지 않았고 저칼륨혈증 또는 설사와 같은 다른 부작용의 발생이 표준 요법에 비해 현저하게 감소하였다. 따라서, 본 발명에 따른 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 환자에게 더 잘 용인되었다. 이는 암 환자, 특히 크게 전처리된 환자의 건강 상태를 고려할 때 중요한 이점이다.

[0026] 하기에 상세하게 기재되는 바와 같이, 본 발명의 항-EGFR 항체로 달성된 현저하게 낮은 정도의 피부 독성 및 개선된 전체 부작용 프로파일과 조합된 높은 치료 효능은 중요한 새로운 치료 옵션을 제공하며 특히 3등급 이상의 심각한 피부 부작용을 발생시키는 것으로 알려진 일반적인 항-EGFR 항체로 치료될 수 없는 새로운 환자 그룹의 효과적인 치료를 가능케 한다. 특히, 예컨대 치료에 의해 받은 잠재적인 건강상의 이익을 증가하는 이러한 부작용으로 인한 건강상의 위험 때문에, 통상적인 항-EGFR 항체로 치료될 수 없거나 추가로 치료될 수 없는 환자, 및 부작용, 특히 심각한 피부 부작용이 발생해서 통상적인 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 중단되거나 종결되어야 했던 환자가 이제는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 EGFR 항체로 치료될 수 있다. 이에 의해, 종래 기술에 중요하게 기여하는 신규하고 중요한 새로운 치료 옵션이 제공된다.

[0027] 상기 발견에 기반하여, 본 발명은 EGFR 양성 신생물 질환, 특히 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체를 제공하고, 이 때 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 바람직하게는 25% 이하, 더욱 바람직하게는 20% 이하, 더욱 바람직하게는 15% 내지 0%가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있다. 상기 기재된 대로, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 종래 기술의 항-EGFR 항체보다 피부 부작용을 덜 발생시킨다. 특정 구체예에서, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 10% 이하, 바람직하게는 3% 이하, 더욱 바람직하게는 1% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨다.

[0028] 본 발명의 항-EGFR 항체는 다수의 신규한 치료 옵션을 제공한다. 그 중에서도 특히, 이들은 EGFR 양성 신생물 질환의 일차 치료로서 및/또는 이전에 하나 이상의 항암 치료를 받은 환자의 치료에 이어서 이용될 수 있다. EGFR 양성 신생물 질환의 상이한 치료는 본 발명의 상세한 설명에 자세히 기재된다. EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 일부 양태가 하기에서 강조된다.

[0029] 한 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적어도 하나의 EGFR 억제제, 특히 세톡시맙 또는 파니투무맙과 같은 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다. 특정 구체예에 따르면, 이러한 이전 치료는 상기 환자에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시켰다.

[0030] 추가의 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 그러한 심각한 피부 부작용을 발생시킨 항-EGFR 항체, 특히 세톡시맙 (Erbixux®) 또는 파니투무맙에 대해 3 또는 4 등급의 공지된 심각한 피부 부작용을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.

[0031] 추가의 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 12% 초과에서 3등급 이상의 심각한 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체를 이용한 치료 동안 3 또는 4 등급의 심각한 피부 부작용을 발생시킬 위험에 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.

[0032] 추가의 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이고, 상기 이전 치료는 중단, 종결되었거나 EGFR 억제제의 투여량은 상기 이전 치료 동안 피부 부작용이 발생했기 때문에 감소되어야 했다.

[0033] 추가의 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이고, EGFR 억제제를 이용한 상기 이전 치료는 상기 EGFR 억제제에 대해 피부 부작용이 발생했기 때문에 지속되지 않거나 지속될 수 없다.

[0034] 추가의 양태에 따르면, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체에 대해, 이러한 조건 하에 상기 다른 항-EGFR 항체로 환자를 치료할 때, 환자의 적어도 50%에서 피부 부작용이 발생한 조건 하에 있거나, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체에 대해, 이러한 조건 하에 상기 다른 항-EGFR 항체로

환자를 치료할 때 환자의 적어도 12%에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 조건 하에 있는 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하는데 이용된다. 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체는 특히 고 푸코스 세톡시맵 (Erbix®), 파니투무맵, 잘루투무맵 및 GA201로 구성된 군으로부터 선택된다. 이에 관해, "조건 하에"는 특히 항-EGFR 항체의 투여를 의미한다.

[0035]

한 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 50% 초과, 60% 초과 또는 70% 초과에서 피부 부작용을 나타내는 것으로 밝혀진 EGFR 양성 신생물 질환을 앓고 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다. 그러한 EGFR 양성 신생물 질환의 예 및 바람직한 구체에는 본원에 기재되어 있고 이는 개개의 기재를 참조한다. 특정 구체예에서, 본 발명의 감소된 푸코스 항체는 다른 항-EGFR 항체가 환자의 50% 초과, 55% 초과, 60% 초과, 65% 초과, 70% 초과 또는 75% 초과에서 피부 부작용을 나타내는 투여량으로 투여된다. 특정 구체예에서, 다른 항-EGFR 항체는 고 푸코스 세톡시맵 (Erbix®), 파니투무맵, 잘루투무맵 및 GA201로부터 선택된다. 한 구체예에서, 다른 항-EGFR 항체는 세톡시맵 (Erbix®)이다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항체는 주 당 적어도 200 mg, 바람직하게는 주 당 240 mg, 주 당 300 mg, 주 당 400 mg 또는 주 당 500 mg의 평균 투여량으로, 바람직하게는 매주 (용량 당 지시된 양으로) 또는 격주 (용량 당 두 배의 양으로) 1회 용량으로 투여된다. 특정 구체예에서, 다른 항-EGFR 항체에 의해 발생한 피부 부작용은 3등급 이상의 피부 부작용을 포함한다. 특정 구체예에서, 다른 항-EGFR 항체, 한 구체예에 따라, 세톡시맵 (Erbix®)에 의해 발생한 피부 부작용은 여드름모양 피부 발진이거나 이를 포함한다. 본 발명의 감소된 푸코스 항체는 다른 항-EGFR 항체가 환자의 12% 초과, 15% 초과 또는 17% 초과에서 3등급 이상의 피부 부작용을 나타내는 투여량으로 투여될 수 있다. 본원에 기재된 대로, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 피부 부작용, 특히 3 또는 4 등급의 피부 부작용의 발생을 현저하게 감소시키거나 심지어 예방할 수 있는 이점을 지닌다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 투여함에 의해, 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료 동안, 부작용, 특히 피부 부작용을 감소 또는 예방할 수 있다. 특히, 3 또는 4 등급의 피부 부작용은 본 발명에 의해 현저하게 감소되거나 예방될 수 있다. 이러한 유리한 효과는 주 당 적어도 200 mg, 바람직하게는 주 당 240 mg, 주 당 300 mg, 주 당 400 mg 또는 주 당 500 mg의 평균 투여량의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 환자에게 투여하는 경우에도 그리고 세톡시맵 (Erbix®)과 같은 또 다른 항-EGFR 항체로 치료될 때 피부 발진과 같은 피부 부작용의 발생률이 특히 높은 결장직장암과 같은 EGFR 양성 신생물 질환을 치료할 때조차도 달성된다. 세톡시맵 (Erbix®) 과 같은 종래 기술의 항-EGFR 항체는 그러한 투여량으로 이용될 때 환자의 75% 초과에서 피부 부작용을 발생시키고 또한 3 또는 4 등급의 피부 부작용을 발생시킨다. 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 새로운 치료 옵션을 제공한다. 본 발명의 감소된 푸코스 항체는 1차, 2차 또는 이후 치료로서 이용될 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료되는 환자는 치료되는 환자의 50% 초과, 60% 초과 또는 70% 초과에서 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있다. 특정 구체예에서, 항-EGFR 항체를 이용한 이전 치료는 피부 부작용, 특히 3 또는 4 등급의 피부 부작용이 발생했기 때문에 및/또는 이전 사용된 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 실패했기 때문에 중절, 중단되거나 투여량을 감소시켜야 했다. 그러한 사전 치료에 대한 자세한 설명 뿐만 아니라 적합하고 바람직한 구체에는 또한 본 발명의 상세한 설명에 기재되어 있고 상기 기재 참조한다. 게다가, 그 안에는 EGFR 양성 신생물 질환의 특수한 구체예, 적합하고 바람직한 투여량 및 환자 그룹도 기재되어 있다. 개개의 기재는 본 단락에 기재된 본 발명의 양태와 조합될 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적어도 3개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월 또는 적어도 12개월 동안의 장기간 치료를 위한 것이다.

[0036]

추가 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이전 치료에서 치료적 항체에 대해 알레르기 반응이 발생한 인간 환자를 치료하기 위한 것이다. 특히, 환자는 설치류 세포에서 생성된 치료적 항체에 대해 알레르기 반응을 일으킬 수 있다. 특정 구체예에서, 환자는 이전 치료에서 항-EGFR 항체에 대해 알레르기 반응을 일으켰다.

[0037]

추가 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 기존에 Gal-Gal IgE 항체를 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.

[0038]

추가 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신생물 질환, 특히 암을 갖는 인간 환자에서 악성 삼출, 특히 악성 흉막 또는 복막 삼출, 특히 악성 복수를 치료하기 위한 것이다

[0039]

추가 양태에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신세포 암종의 치료, 특히 투명 세포 신세포 암종의 치료 또는 비-투명 세포 신세포 암종의 치료를 위한 것이다.

[0040]

더욱이, 추가 양태에서, 본 발명은 치료적 유효량의 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 투여하는

것을 포함하는, 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하는 방법을 제공하고, 이 때 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있다.

[0041] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는, EGFR 억제제로 EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 환자를 치료함에 있어서 부작용을 감소시키는 방법을 제공한다. 특히, 상기 방법은 EGFR 억제제를 이용한 치료를 종결하고 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료를 시작하는 것을 포함한다.

[0042] 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 대해 본원에 기재된 모든 구체예 및 특징은 또한 본 발명에 따른 치료 방법 및 다른 방법에 유사하게 적용된다. 특히, 환자를 치료하기 위한 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 용도는 또한 상기 환자를 치료하는 개별적인 방법을 의미한다.

[0043] 상기 양태들은 조합될 수 있다. 본 발명의 다른 목적, 특징, 장점 및 양태는 하기 설명 및 첨부된 청구항으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 그러나, 본 출원의 바람직한 구체예를 나타내는 하기 설명, 첨부된 청구항, 및 특정 예는 단지 예시로 제공되는 것이 이해되어야 한다. 개시된 본 발명의 사상 및 범위 내의 다양한 변화 및 변형은 하기를 읽음으로써 당업자에게 용이하게 명백해질 것이다.

[0044] **정의**

[0045] 본원에서 사용되는 하기 표현은 일반적으로 이들 표현이 사용되는 문맥이 달리 나타내는 정도를 제외하고는 바람직하게는 하기 기재되는 바와 같은 의미를 갖는 것으로 의도된다.

[0046] 본원에서 사용되는 표현 "-들을 포함하다"는 이의 문자상의 의미 외에도 표현 "-로 본질적으로 구성되다" 및 "-로 구성되다"를 포함하고 특별히 이를 나타낸다. 따라서, 표현 "-들을 포함하다"는 특별히 나열된 구성요소를 "포함하는" 주제가 추가 구성요소를 포함할 수 있고/거나 실제로 포함하는 구체예 뿐만 아니라 특별히 나열된 구성요소를 "포함하는" 주제가 추가 구성요소를 포함하지 않는 구체예도 나타낸다. 마찬가지로, 표현 "-들을 갖다"는 표현 "-로 본질적으로 구성되다" 및 "-로 구성되다"를 또한 포함하고 특별히 나타내는 표현 "-들을 포함하다"인 것으로 이해되어야 한다.

[0047] 용어 "항체"는 특히 이항화결합에 의해 연결된 적어도 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함하는 단백질을 나타낸다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(VH) 및 중쇄 불변 영역(CH)으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(VL) 및 경쇄 불변 영역(CL)으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개 또는 IgM-타입 또는 IgE-타입의 항체의 경우 4개의 중쇄 불변 도메인(CH1, CH2, CH3 및 CH4)을 포함하며, 여기서 첫 번째 불변 도메인 CH1은 가변 영역에 인접하고, 힌지 영역에 의해 두 번째 불변 도메인 CH2에 연결될 수 있다. 경쇄 불변 영역은 단지 하나의 불변 도메인으로 구성된다. 가변 영역은 프레임워크 영역(FR)으로 언급되는 더욱 보존된 영역에 산재된 상보성 결정 영역(CDR)으로 언급되는 과가변성의 영역으로 추가로 나뉘어질 수 있으며, 각각의 가변 영역은 3개의 CDR 및 4개의 FR을 포함한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 중쇄 불변 영역은 임의의 타입, 예를 들어, γ -타입, δ -타입, α -타입, μ -타입 또는 ϵ -타입 중쇄일 수 있다. 바람직하게는, 항체의 중쇄는 γ -사슬이다. 또한, 경쇄 불변 영역은 또한 임의의 타입, 예를 들어, κ -타입 또는 λ -타입 경쇄일 수 있다. 바람직하게는, 항체의 경쇄는 κ -사슬이다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 효과기 세포) 및 전형적 보체계의 첫 번째 구성성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 요소로의 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. 항체는, 예를 들어, 인간화, 인간 또는 키메라 항체일 수 있다. 본 발명에 따른 항체는 ADCC를 유도할 수 있다.

[0048] 항체의 항원-결합 부분은 보통 전장 또는 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보유한 항체의 하나 이상의 단편을 나타낸다. 항체의 항원 결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 항체의 결합 단편의 예는 V_L , V_H , C_L 및 CH1 도메인으로 구성되는 일가 단편인 Fab 단편; 힌지 영역에서 이황화 브릿지에 의해 연결된, 각각 동일한 항원에 결합하는 2개의 Fab 단편을 포함하는 이가 단편인 $F(ab)_2$ 단편; V_H 및 CH1 도메인으로 구성되는 Fd 단편; 항체의 단일 아암(arm)의 V_L 및 V_H 도메인으로 구성되는 Fv 단편; V_H 도메인으로 구성되는 dAb 단편(Ward *et al.*, 1989 Nature 341:544-546); 및 분리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 항체의 "Fab 부분"은 특히 중쇄 및 경쇄 가변 영역(VH 및 VL) 및 첫 번째 중쇄 및 경쇄 불변 영역(CH1 및 CL)을 포함하는 항체의 부분을 나타낸다. 항체가 상기 영역 모두를 포함하지 않는 경우에서, 용어 "Fab 부분"은 단지 항체에 존재하는 영역 VH, VL, CH1 및 CL의 것을 나타낸다. 바람직하게는, "Fab 부분"은 항체의 항원 결합 활성을 함유하는, 파파인으로 자연 항체를 분해시킴으로써 수득된 단편에 해당하는 항체의 부분을 나타낸다. 특히, 항체의 Fab 부분은 항원 결합 부위 또는 이의 항원 결합 능력을 포함한다. 바람직하게는, Fab 부분은 항체

의 적어도 VH 영역을 포함한다.

- [0049] 항체의 "Fc 부분"은 특히 중쇄 불변 영역 2, 3 및 적용가능한 경우 4(CH2, CH3 및 CH4)을 포함하는 항체의 부분을 나타낸다. 항체가 상기 영역 모두를 포함하지 않는 경우에, 용어 "Fc 부분"은 단지 항체에 존재하는 영역 CH2, CH3 및 CH4의 것을 나타낸다. 바람직하게는, Fc 부분은 적어도 항체의 CH2 영역을 포함한다. 바람직하게는, "Fc 부분"은 항체의 항원 결합 활성을 함유하지 않는, 과파인으로 자연 항체를 분해시킴으로써 수득된 단편에 해당하는 항체의 부분을 나타낸다. 특히, 항체의 Fc 부분은 Fc 수용체에 결합할 수 있고, 이에 따라, 예를 들어, Fc 수용체 결합 부위 또는 Fc 수용체 결합 능력을 포함한다.
- [0050] 중쇄 및 경쇄, 특히 이의 가변 영역의 아미노산 위치를 나타내기 위해, 케이뱃(Kabat) 넘버링 시스템이 본원에서 사용된다(Kabat, E.A. et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th edition, NIH Publication No. 91-3242). 상기 시스템에 따르면, 중쇄 가변 영역은 위치 35A, 35B, 52A 내지 52C, 82A 내지 82C 및 100A 내지 100K를 포함하는 위치 0 내지 위치 113의 아미노산 위치를 포함한다. 중쇄 가변 영역의 CDR은 케이뱃 넘버링에 따라 위치 31 내지 35B(CDR1), 50 내지 65(CDR2) 및 95 내지 102(CDR3)에 위치된다. 나머지 아미노산 위치는 프레임워크 영역 FR1 내지 FR4를 형성한다. 경쇄 가변 영역은 위치 27A 내지 27F, 95A 내지 95F 및 106A를 포함하는 위치 0 내지 109를 포함한다. CDR은 위치 24 내지 34(CDR1), 50 내지 56(CDR2) 및 89 내지 97(CDR3)에 위치된다. 항체의 특정 유전자의 최초 형성에 따르면, 상기 위치 모두가 제공된 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역에 존재해야 되는 것은 아니다. 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 내의 아미노산 위치가 본원에 언급되는 경우에서, 달리 나타내지 않는 한, 이는 케이뱃 넘버링에 따른 위치로 언급된다.
- [0051] 본 발명에 따르면, 용어 "키메라 항체"는 특히 불변 영역이 인간 항체 또는 인간 항체 컨센서스 서열로부터 유래되고, 적어도 하나 및 바람직하게는 둘 모두의 가변 영역이 비-인간 항체, 예를 들어, 설치류 항체, 예를 들어, 마우스 항체로부터 유래되는 항체를 나타낸다.
- [0052] 본 발명에 따르면, 용어 "인간화된 항체"는 특히 아미노산 서열이 인간 몸에 투여될 때 항체의 면역원성을 감소시키도록 변형된 인간 불변 영역 및 가변 영역을 포함하는 비-인간 항체를 의미한다. 인간화된 항체를 작제하는 예시적인 방법은 CDR 그래프팅이고, 이 때 비-인간 항체의 CDR 또는 특이성 결정 잔기 (SDR)는 인간-유래된 프레임워크 영역과 조합된다. 임의로, 인간 프레임워크 영역의 일부 잔기는, 예컨대, 항원 결합 친화성을 증가시키거나 복구하기 위해, 부모 비-인간 항체의 잔기쪽으로 역돌연변이될 수 있다. 다른 인간화 방법은, 예를 들어 재표면화(resurfacing), 슈퍼인간화(superhumanization), 및 인간 스트링 콘텐츠 최적화(human string content optimization)를 포함한다. 재표면화 방법에서, 항체의 표면에 정위된 비-인간 프레임워크 영역의 잔기들만이 상기 위치에 있는 상응하는 인간 항체 서열에 존재하는 잔기에 의해 대체된다. 슈퍼인간화는 본질적으로 CDR 그래프팅에 해당한다. 그러나, CDR 그래프팅 동안 인간 프레임워크 영역은 일반적으로 비-인간 프레임워크 영역에 대한 이들의 상동성에 기반하여 선택되지만, 슈퍼인간화에서 이것은 인간 프레임워크 영역이 선택되는 기준에 따른 CDR의 유사성이다. 인간 스트링 콘텐츠 최적화에서 인간 점라인(germline) 서열에 대한 비-인간 항체 서열의 차이를 점수매긴 다음 항체를 돌연변이시켜 상기 점수를 최소화한다. 게다가, 인간화된 항체는 또한 경험적인 방법에 의해 수득될 수 있는데, 이 때 큰 라이브러리의 인간 프레임워크 영역 또는 인간 항체를 이용하여 다수의 항체 인간화된 후보를 생성한 다음 스크리닝 방법에 의해 가장 유망한 후보를 결정한다. 또한 상기 기재한 합리적 접근법을 이용하여 여러 인간화된 항체 후보들을 생성한 다음, 예를 들어 이들의 항원 결합에 대해 스크리닝할 수 있다. 인간화 공정의 개관은, 예를 들어, 문헌[Almagro, J.C. and Fransson, J. (2008) *Frontiers in Bioscience* 13, 1619-1633 and in the entire volume 36 of the *Journal Methods* (2005)]에서 찾아볼 수 있다.
- [0053] 본원에서 사용되는 용어 "인간 항체"는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 모두가 인간 기원의 서열로부터 유래되는 가변 영역을 갖는 항체를 포함하고자 한다.
- [0054] 또한, 본 발명에 따른 항체는 프레임워크 또는 Fc 조각을 받았을 수 있다. 상기 조각된 항체는, 예를 들어, 항체의 특성을 개선시키기 위해 V_H 및/또는 V_L 내의 프레임워크 잔기에 대해 변형이 이루어진 항체를 포함한다. 통상적으로, 상기 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 이루어진다. 예를 들어, 인간화 동안, 한 접근법은 하나 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 점라인 서열로 "역돌연변이"시키는 것이다. 더욱 특히, 체세포 돌연변이를 겪은 항체는 항체가 유래되는 점라인 서열과 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 상기 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래되는 점라인 서열과 비교함으로써 확인될 수 있다. 프레임워크 영역 서열을 이의 점라인 형태로 복구시키기 위해, 체세포 돌연변이는, 예를 들어, 부위-특이적 돌연변이 유발 또는 PCR-매개 돌연변이유발에 의해 점라인 서열로 "역돌연변이"될 수 있다. 상기 "역돌연변이"된 항체

가 또한 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어지는 변형에 더하여 또는 대안적으로, 본 발명의 항체는 통상적으로 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 예를 들어, 혈청 반감기, 보체 결합, Fc 수용체 결합, 및/또는 항원-의존성 세포 세포독성을 변경시키기 위해 Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작될 수 있다. 예를 들어, Fc 영역은 항체의 효과기 기능을 변경시키기 위해 적어도 하나의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체시킴으로써 변경될 수 있다. 예를 들어, 항체가 효과기 리간드에 대해 변경된 친화성을 갖지만, 부모 항체의 항원-결합 능력을 보유하도록, 하나 이상의 아미노산이 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 친화성이 변경되는 효과기 리간드는, 예를 들어, Fc 수용체 또는 보체의 C1 구성성분일 수 있다. 한 구체예에서, 기재된 항체의 Fc 영역은 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/시키거나, 하나 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 Fc γ 수용체에 대한 항체의 친화성을 증가시키기 위해 변형된다. 상기 접근법은, 예를 들어, W000/42072호에 추가로 기재되어 있다. 또한, Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII 및 FcRn에 대한 인간 IgG1 상의 결합 부위가 땀땀되었고, 개선된 결합을 갖는 변이체가 기재되었다(문헌 [Shields, R.L. *et al.*, 2001 J. Biol. Chem. 276:6591-6604]을 참조하라).

[0055] 표적 아미노산 서열은 표적 아미노산 서열이 참조 아미노산 서열의 상응하는 부분과 전장에 걸쳐 적어도 75%, 더욱 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95% 또는 적어도 97%의 상동성 또는 동일성을 공유하는 경우 참조 아미노산 서열로부터 "유래"되거나, 참조 아미노산 서열과 "상응"한다. 예를 들어, 인간화 항체의 프레임워크 영역이 특정 인간 항체의 가변 영역으로부터 유래되거나 이와 상응하는 경우, 인간화된 항체의 프레임워크 영역의 아미노산은 인간 항체의 상응하는 프레임워크 영역과 전장에 걸쳐 적어도 75%, 더욱 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 93%, 적어도 95% 또는 적어도 97%의 상동성 또는 동일성을 공유한다. "상응하는 부분"은, 예를 들어, 표적 항체의 중쇄 가변 영역의 프레임워크 영역 1(FRH1)이 참조 항체의 중쇄 가변 영역의 프레임워크 영역 1에 상응하는 것을 의미한다. 특정 구체예에서, 참조 아미노산 서열로부터 "유래"되거나 이와 "상응"하는 표적 아미노산 서열은 이의 전장에 걸쳐 참조 아미노산 서열의 상응하는 부분과 100% 상동성이거나, 특히 100% 동일하다. 아미노산 서열 또는 뉴클레오티드 서열의 "상동성" 또는 "동일성"은 바람직하게는 참조 서열의 전장 또는 상동성 또는 동일성이 규정되는 서열에 상응하는 참조 서열의 상응하는 부분의 전장에 걸쳐 본 발명에 따라 결정된다.

[0056] "특이적 결합"은 바람직하게는 항체와 같은 작용제가 또 다른 표적으로의 결합에 비해 특이적인 에피토프와 같은 표적에 더 강하게 결합하는 것을 의미한다. 작용제가 두 번째 표적에 대한 해리 상수(K_d)보다 낮은 해리 상수로 첫 번째 표적에 결합하는 경우 두 번째 표적에 비해 첫 번째 표적에 더 강하게 결합한다. 바람직하게는, 작용제가 특이적으로 결합하는 표적에 대한 해리 상수는 작용제가 특이적으로 결합하지 않는 표적에 대한 해리 상수보다 100배 넘게, 200배 넘게, 500배 넘게 또는 1000배 넘게 더 낮다. 또한, 용어 "특이적 결합"은 특히 적어도 $10^6 M^{-1}$, 바람직하게는 적어도 $10^7 M^{-1}$, 더욱 바람직하게는 적어도 $10^8 M^{-1}$ 의 K_a 를 갖는 결합 파트너들 간의 결합 친화성을 나타낸다. 특정 항원에 특이적인 항체는 특히 적어도 $10^6 M^{-1}$, 바람직하게는 적어도 $10^7 M^{-1}$, 더욱 바람직하게는 적어도 $10^8 M^{-1}$ 의 K_a 를 갖는 친화성으로 상기 항원에 결합할 수 있는 항체를 의미한다. 예를 들어, 용어 "항-EGFR 항체"는 EGFR에 특이적으로 결합하고 바람직하게는 적어도 $10^6 M^{-1}$, 바람직하게는 적어도 $10^7 M^{-1}$, 더욱 바람직하게는 적어도 $10^8 M^{-1}$ 의 K_a 를 갖는 친화성으로 EGFR에 결합할 수 있는 항체를 의미한다.

[0057] 본원에서 사용되는 용어 "세톡시맵"은 특히 약물 Erbitux® (Merck)에서 사용되는 바와 같은 세톡시맵 항체의 아미노산 서열을 갖는 항체 세톡시맵을 나타낸다. 상황이 달리 나타내지 않는 한, 항체 세톡시맵은 또한 이의 Fc 부분 내에 약물 Erbitux® (Merck)에서 사용되는 세톡시맵 항체와 동일하거나 유사한 고 푸코스 당화 패턴을 가지며, 푸코실화는 적어도 60%, 특히 적어도 70%이다. 다양한 당화 패턴을 나타내는 상황은, 예를 들어, "Fuc- 세톡시맵"에 대한 언급이다. 용어 "Fuc- 세톡시맵"은 특히 세톡시맵과 동일한 에피토프에 결합하고, 약물 Erbitux® (Merck)에서 사용되는 것과 같은 세톡시맵 항체의 아미노산 서열과 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 바람직하게는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 항체를 나타내지만, 여기서 Fuc- 세톡시맵은 이의 Fc 부분 내에 약물 Erbitux®에서 사용되는 세톡시맵 항체보다 적은 양의 푸코스를 갖고, 특히 Fc 부분 내에 50% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 바람직하게는 25% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 20% 또는 그 미만, 가장 바람직하게는 15% 내지 0%의 푸코실화를 갖는다.

[0058] 본 발명에 따른 용어 "EGFR"은 특히 ErbB-1 또는 HER1로도 공지된 인간 표피 성장인자 수용체 1을 나타낸다. EGFR은 세포의 리간드 결합 도메인, 막에 걸쳐 있는 도메인 및 세포내 키나제 도메인을 포함하는 수용체 티로신

키나제이다. 이의 리간드 (예컨대, 표피 성장 인자 (EGF) 및 전환 성장 인자 α (TGF α))로의 결합시, EGFR은 다른 ErbB 수용체와 동종이합체 또는 이종이합체를 형성하고, 이의 키나제 기능이 활성화되어, 세포내 도메인의 여러 티로신의 자가인산화를 발생시킨다. 항-EGFR 항체는 EGFR에 특이적으로 결합할 수 있는 항체이다. 특정 구체예에서, 항-EGFR 항체는, 예컨대 수용체로의 리간드 결합 및/또는 수용체의 이합체화를 막음에 의해 EGFR의 활성화를 방해하거나 억제할 수 있다. 특정 구체예에서, 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 인간 암세포의 증식을 억제할 수 있다. 특정 구체예에서, 항-EGFR 항체는 EGFR에 특이적으로 결합할 수 있지만, EGFR 신호전달을 막거나 감소시키지 못한다. 이러한 경우에, 항-EGFR 항체는 바람직하게는 ADCC 메커니즘을 통해 치료적으로 활성이다.

[0059]

본원에서 사용되는 용어 "항체"는, 특정 구체예에서, 동일한 종류의 항체 집단을 의미한다. 특히, 항체 집단의 모든 항체는 항체를 정의하기 위해 이용된 특징을 나타낸다. 특정 구체예에서, 항체 집단의 모든 항체는 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 항-EGFR 항체 또는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 같은 특수한 종류의 항체에 대한 언급은 특히 이러한 종류의 항체 집단을 의미한다.

[0060]

바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 집단의 모든 항체는 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 집단은 다른 항체도 포함하는 조성물 내에 존재할 수 있다. 이러한 다른 항체는 용어 "감소된 푸코스 항-EGFR 항체" 내에 포함되지 않으며 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 당화 특징을 결정하는 것으로 고려되지 않는다. 본 발명에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 Fc 부분 및 이에 따른 CH2 도메인 내의 푸코스의 (백분율) 양은 특히 푸코스 잔기를 포함하는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 집단 내의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인 내의 해당 당화 부위에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 백분율을 나타낸다. 상기 탄수화물 사슬은 IgG-타입 항체의 중쇄의 케이벳 넘버링에 따른 아미노산 위치 297에 해당하는 당화 부위에 구조적으로 또는 아미노산 서열 상동성에 의해 부착된 탄수화물 사슬을 포함한다. Asn297에서의 N-결합 당화는 포유동물 IgG 뿐만 아니라 다른 항체 아이소형의 상동성 영역 내에서 보존되어 있다. 항체는 일반적으로 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함하므로, 이들의 Fc 부분 내에, 각 CH2 도메인 내에 하나씩 2개의 당화 부위를 갖는다. 의심의 여지를 없애기 위해, 항체의 CH2 도메인 내의 둘 모두의 당화 부위가 반드시 탄수화물 사슬을 가져야 하는 것은 아닌 것으로 규정한다. 2개의 CH2 도메인에서 2개의 당화 부위는 구별되지 않으며 CH2 도메인의 당화 도메인에 대한 언급은 또한 둘 모두의 CH2 도메인 내의 둘 모두의 당화 부위를 의미한다. 바람직하게는, 탄수화물 사슬의 환원 말단에서 GlcNAc 잔기에 대해 α 1,6-결합을 통해 결합되는 푸코스 잔기만이 고려된다. 특정 항체 중 (예를 들어, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체)의 CH2 도메인 내의 푸코스의 양이 언급되는 경우, 조성물 내의 상기 특정 항체 중 (예컨대, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 집단)의 집단의 항체 분자의 CH2 도메인의 당화 부위에 부착된 탄수화물 사슬만이 푸코스의 백분율 양, 즉 푸코스를 지닌 탄수화물 사슬의 양을 결정하기 위해 고려된다. 존재시, 항체의 Fab 부분 내의 당화 부위에 부착된 탄수화물 사슬, 뿐만 아니라 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 함께 조성물 내에 존재하는 경우, 다른 항체에 부착된 탄수화물 사슬은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인 내의 푸코스 양을 결정하는데 고려되지 않는다. 항체의 Fab 부분 및 Fc 부분에 부착된 탄수화물은 먼저 Fab 부분 및 Fc 부분 내의 항체를 분해하고, 상기 부분을 서로 분리시키고, 각 부분의 당화 특징을 개별적으로 결정함에 의해 별도로 결정될 수 있다. 마찬가지로, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인에 부착된 양분성 N-아세틸글루코사민(bisGlcNAc)의 (백분율) 양은 특히 bisGlcNAc 잔기를 포함하는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 집단 내의 모든 항체의 CH2 도메인 내의 당화 부위에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 백분율을 나타낸다. bisGlcNAc는 복합체 타입 N-글리칸 내의 중심 만노스 잔기에 부착된 GlcNAc 잔기를 나타낸다. 또한, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인에 부착된 갈락토스의 (백분율) 양은 특히 적어도 하나의 갈락토스 잔기를 포함하는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 집단 내의 모든 항체의 CH2 도메인 내의 당화 부위에 부착된 모든 탄수화물 사슬의 백분율을 나타낸다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 대해 기재된 상기 고려사항은 고 푸코스 항-EGFR 항체 등과 같은 다른 특이적 항체에도 유사하게 적용된다.

[0061]

특이적 도메인, 예컨대 CH2 도메인 또는 VH 도메인에, 특이적 백분율 값 또는 범위의 푸코스, 갈락토스, 2개의 갈락토스, 양분성 GlcNAc, 시알산 또는 2개의 시알산과 같은 특이적 사카라이드 단위 또는 특징을 지니는 글리칸의 상대적인 양을 갖는 항-EGFR 항체는 특히 모두 동일한 아미노산 서열을 갖는 항-EGFR 항체의 집단을 의미하고, 여기서 집단의 모든 항-EGFR 항체의 상기 특이적 도메인에 부착된 모든 글리칸의 상기 백분율 또는 백분율 범위는 상기 특이적 사카라이드 단위를 포함하거나 특징을 충족한다. 유사하게, 특이적 도메인에 부착된 글리칸에서 특이적 백분율 값 또는 범위의 특이적 사카라이드 단위 또는 특징의 정도를 갖는 항-EGFR 항체는 또한 특히 모두 동일한 아미노산 서열을 갖는 항-EGFR 항체의 집단을 의미하고, 여기서 집단의 모든 항-EGFR 항체의 상기 특이적 도메인에 부착된 모든 글리칸의 상기 백분율 또는 백분율 범위는 상기 특이적 사카라이드 단위를 포함하거나 특징을 충족한다. 본원에서 사용되는 용어 "탄수화물 사슬", "탄수화물 구조", "글리칸" 및 "글리

칸 구조"는 동일한 의미를 갖고 상호교환적으로 사용된다.

[0062] 본 발명에 따르면, 용어 "당화 부위"는 특히 자연 당화 효소, 특히, 글리코실트랜스퍼라제, 바람직하게는 자연 발생 포유동물 또는 인간 글리코실트랜스퍼라제에 의해 특이적으로 인지되고 당화될 수 있는 아미노산 서열을 나타낸다. 특히, 용어 "당화 부위"는 탄수화물이 결합되거나 결합될 수 있는 아스파라긴 잔기를 포함하는 N-당화 부위를 나타낸다. 특히, 당화 부위는 아미노산 서열 Asn-Xaa-Ser/Thr/Cys를 갖는 N-당화 부위이며, 여기서 Xaa는 임의의 아미노산 잔기이다. 바람직하게는, Xaa는 Pro가 아니다.

[0063] "컨쥬게이트"에서 2개 이상의 화합물은 함께 연결된다. 특정 구체예에서, 각각의 화합물로부터의 특성 중 적어도 일부는 컨쥬게이트 내에 보유된다. 연결은 공유 또는 비공유 결합에 의해 달성될 수 있다. 바람직하게는, 컨쥬게이트의 화합물은 공유 결합을 통해 연결된다. 컨쥬게이트의 다양한 화합물은 화합물의 원자 사이의 하나 이상의 공유 결합을 통해 서로 직접적으로 결합될 수 있다. 대안적으로, 화합물은 링커 분자와 같은 화학적 모이어티를 통해 서로 결합될 수 있고, 여기서 링커는 화합물의 원자에 공유적으로 부착된다. 컨쥬게이트가 2개 초과 화합물로 구성되는 경우, 이들 화합물은, 예를 들어, 하나의 화합물이 다음 화합물에 부착된 사슬 형태로 연결될 수 있거나, 여러 화합물은 각각 하나의 중심 화합물에 부착될 수 있다.

[0064] 용어 "환자"는 특히 인간을 나타낸다.

[0065] 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료될 수 있는 본 발명에 따른 용어 "EGFR 양성 신생물 질환" 및 "EGFR 양성 암"은 특히 세포가 EGFR을 발현하는 신생물 질환, 암, 종양 및/또는 전이를 나타낸다. EGFR 양성 암은 악성 상피 종양, 유방암, 위암, 위장관의 암, 암종, 결장암, 방광암, 요로상피 종양, 자궁암, 식도암, 위 식도 접합부의 암, 난소암, 폐암, 자궁내막암, 신장암, 췌장암, 갑상샘암, 결장직장암, 전립선암, 뇌의 암, 자궁경부암, 창자암 및 간암을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 구체예에서, 암은 전이성 암이다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료되는 EGFR 양성 암은 결장암 (맹단 및 직장암 포함), 신장암, 위암, 두경부암 및 폐암, 식도암, 자궁내막암 및 자궁경부암, 특히 전이성 결장암, 전이성 결장직장암, 전이성 위암, (진행된) 위 샘암종, (진행된) 식도 샘암종, (진행된) 위식도 접합부 샘암종, (전이성) 신세포 암종, (전이성) 비-소세포 폐암 (NSCLC), 폐 샘암종, 편평 또는 비-편평 비-소세포 폐암, 삼중 음성 유방암 (에스트로겐 수용체 (ER), 프로게스테론 수용체 (PR) 및 인간 표피 성장 인자 수용체 2 (HER2)의 발현에 음성인 유방암), 두경부의 편평 세포암, 자궁내막 암종 또는 육종, 음경 암종, 자궁경부 암종, 악성 간상 종양 및 이행 세포 암종으로부터 선택된다. 추가의 EGFR 양성 암은 신세포 암종, 예컨대 투명 세포 신세포 암종, 유두 신세포 암종 (호염기 및 호산구), 협색소성 신세포 암종, 벨리니관(Bellini duct) 암종/집합관 암종, 및 신장의 다형태 (pleomorphic)(육종모양) 암종; 비소세포 폐암, 예컨대 편평 비소세포 폐암 (sNSCLC), 및 비 편평 비소세포 폐암 (nsNSCLC), 특히 샘암종 및 대세포 암종; 소세포 폐암 (SCLC); 두경부의 상피성 종양, 예컨대 두경부의 편평 세포암 (SCCHN), 특히 비-분화된, 분화된, 아테노이드-편평 및 사마귀모양 SCCHN; 및 위암, 예컨대 샘암종, 특히 관 샘암종, 유두 샘암종 및 점액 샘암종, 반지 세포 암종, 아테노이드-편평 암종, 편평 암종, 속질 위 암종, 소세포 위 암종, 및 비-분화된 위 암종을 포함한다. 위암은 날문방에, 체에 또는 기저에 위치할 수 있거나 전체 위의 미만성 위암일 수 있다.

[0066] 특정 구체예에서, EGFR 양성 신생물 질환 또는 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료되는 암은 EGFR을 발현하는 암 세포를 포함한다. 특정 구체예에서, 종양, 전이 등은 포함된 세포의 특정 %가 EGFR을 발현하는 경우 EGFR 양성으로 분류된다. 예컨대, 종래 기술에서 종양은 일반적으로 종양 세포의 적어도 1%가 EGFR을 발현하는 경우 EGFR 양성인 것으로 분류된다. 본 발명의 항-EGFR 항체는 치료 전에 EGFR 상태가 상기 환자에서 양성인 것으로 확인된 인간 환자를 치료하는데 이용될 수 있다. 구체예는 이후에 기재된다. 그러나, 본 발명의 항-EGFR 항체를 이용한 치료를 개시하기 전에 환자의 EGFR 상태의 결정 또는 확인은 불필요하다. 예컨대, SCCHN와 같이 EGFR 양성인 것이 일반적으로 알려져 있는 질환들이 있다. SCCHN의 경우에, 병에 걸린 환자 중 90%가 넘는 환자는 EGFR 양성이다. 일반적으로 EGFR 양성인 SCCHN 또는 결장직장 암종과 같은 질환의 경우, 환자의 EGFR 상태는 종종 종래 기술의 접근법에서 항-EGFR 항체를 이용한 치료 전에 결정되지 않는다. 유사하게, 예컨대 환자의 75% 초과, 80% 초과, 85% 초과 또는 90% 초과가 EGFR 양성인 질환을 치료해야 하는 경우에, 본 발명의 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 치료하려는 개개 환자의 EGFR 상태의 사전 결정 또는 확인 없이 개시될 수 있다.

[0067] EGFR 발현은, 예컨대 EGFR mRNA 또는 EGFR 단백질의 존재 및/또는 양을 검출함에 의해, 암 샘플의 세포에서 EGFR 유전자의 발현을 검출하는 유전자 또는 단백질 발현 검정에서 검출될 수 있다. 적합한 검출 검정은, 예를 들어, 면역조직화학 (IHC), 웨스턴 블롯, 효소-결합 면역흡수 검정 (ELISA), 전기-화학발광 면역검정 (ECLIA),

형광-활성화 세포 선별 (FACS), 리간드-결합 검정, 중합효소 연쇄 반응 (PCR), 서던 블롯 및 인-시튜 하이브리드화, 예컨대 형광 인-시튜 하이브리드화 (FISH), 은 인-시튜 하이브리드화 (SISH) 또는 색소유전자 인-시튜 하이브리드화 (CISH), 및 세포의 표면에서 EGFR 수용체의 발현을 직접적으로 또는 간접적으로 결정할 수 있는 당업자에게 공지된 다른 기법이다. 그러한 사전 결정이 요망되는 경우 치료되는 환자의 EGFR 상태를 결정하기 위해 개개의 검정이 이용될 수 있다.

[0068]

특정 구체예에 따르면, 상기 EGFR 양성 신생물 질환 또는 암은 EGFR을 과발현하고/거나 EGFR 유전자 증폭을 나타낸다. 따라서, 특정 구체예에서 환자는 EGFR을 발현하거나 심지어 과발현하는 종양 세포 및/또는 전이성 세포를 포함하는 EGFR 양성 암을 앓고 있다. EGFR 발현은 예컨대 면역조직화학에 의해 확인될 수 있다. 이와 관련된 면역조직화학은 고정된 종양 샘플의 면역조직화학 염색 및 염색의 분석을 나타낸다. EGFR 발현은 암세포를 포함하는 조직학적 샘플, 특히, 포르말린-고정되고, 파라핀-포매된 샘플과 같은 고정된 암 조직 샘플을 이용하여 결정될 수 있다. EGFR 과발현을 결정하는데 사용되는 면역조직화학 검정은 바람직하게는 (i) 암세포를 포함하는 샘플을 EGFR에 대한 일차 항체와 접촉시킨 후, (ii) 샘플을 일차 항체에 대해 유도되고, 시각화 작용제, 예를 들어, 시각적 최종 산물을 갖는 반응을 촉매하는 효소, 예를 들어, 호스라디쉬 퍼옥시다제(horseradish peroxidase)에 커플링되는 이차 항체와 접촉시키는 것을 포함한다. 적합한 EGFR 면역조직화학 키트는 EGFR pharmDx 키트 (DakoCytomation A/S)이다. EGFR 양성 신생물 질환은 또한 형광 인-시튜 하이브리드화 (FISH), 은 인-시튜 하이브리드화 (SISH) 또는 색소유전자 인-시튜 하이브리드화 (CISH)에 의해 결정되는 EGFR 유전자 증폭에 양성인 암을 포함한다. 암은 종양 세포에서 EGFR 유전자의 복사체 수가 염색체 17의 복사체 수의 적어도 2배인 경우 또는 종양 세포가 EGFR 유전자의 적어도 4개 복사체를 포함하는 경우 FISH 검정에 따라 EGFR 유전자 증가에 대해 양성이다. 특정 구체예에서, 암은 세포 핵 당 EGFR 유전자의 적어도 5개의 복사체가 종양 세포의 적어도 50%에 존재하는 경우 CISH 검정에 따라 EGFR 유전자 증가에 대해 양성이다.

[0069]

"전이" 또는 "전이들"은 암 세포의 본래 부위 (예컨대 원발성 종양 부위)로부터 신체의 또 다른 부위로의 암 세포의 확산을 의미한다. 문맥에서 달리 지정한 경우 외에 단수 및 복수의 "전이"는 구별되지 않는다. 발명의 배경에서 상기 기재된 바와 같이, 전이의 형성은 매우 복잡한 과정이며, 보통 원발성 종양으로부터 암세포의 분리, 신체 순환 진입 및 신체 내의 다른 곳에 자리 잡아 정상 조직 내에서 성장하는 것을 포함한다. 세부사항에 대해, 본원에 또한 적용되는 각각의 개시내용이 참조된다. 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 푸코스 감소된 항-EGFR 항체는 전이를 치료하기 위해 이용될 수 있다. 전이는 EGFR 양성 신생물 질환의 구체예로서 보여질 수 있다. 전이의 EGFR 상태는 전이가 유래된 원발성 암의 EGFR 상태와 다를 수 있다 (예컨대, 문헌[Scartozzi et al, J Clin Oncol, 2004 22 (23):4772-8]을 참조하라). 바람직한 구체예에 따르면, 치료하려는 전이는 EGFR 양성이다. 바람직하게는, 원발성 암 및 전이는 EGFR-양성이다. EGFR 양성 및 EGFR 상태를 결정하는 방법의 예는 상기에 기재된다; 본원에 또한 적용되는 각각의 개시내용이 참조된다. 바람직한 구체예에 따르면, 치료되는 EGFR 양성 암은 전이성 암이다. EGFR 양성 암의 예는 상기에 기재되었다. 전이는 원격 전이될 수 있다. 본 발명의 항-EGFR 항체로 치료될 수 있는 특수한 유형의 전이는 림프절 전이 및 내장 전이이다. "내장 전이" 또는 "내장 전이들"은 특히 내장, 신체의 내부 기관, 특히 흉부 내의 기관, 예를 들어, 심장 또는 폐 또는 복부, 예를 들어, 간, 췌장 또는 장에서의 전이를 나타낸다. 특히, 용어 "내장 전이"는 폐 및/또는 간에서의 전이를 나타낸다. 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 성공적으로 치료될 수 있는 특수한 유형의 전이는 흉막 및 복막 전이, 및 폐 전이를 포함하는 중피 전이이다. "중피 전이"는 흉막 및 복막과 같은 중피 내에서 또는 중피에서의 암 세포의 성장을 나타낸다. 특히, 중피 전이는, 예컨대, 염증 반응 및/또는 전이에 의해 야기된 영향을 받은 중피의 증가된 투과성으로 인해, 중피에 의해 둘러싸인 공동에서 유체의 축적, 특히 흉막 및/또는 복부 삼출을 발생시킬 수 있다. EGFR 양성 질환으로 발생하는 다른 유형의 전이는 피부 전이, 뇌 전이 및 골 전이를 포함한다.

[0070]

본 발명에 따른 용어 "실패한 치료" 또는 "치료 실패" 또는 관련 용어는 특히 질병의 진행을 발생시킨 암의 치료를 나타낸다. 특정 구체예에서, 질병의 진행은 하기 중 하나 이상을 나타낸다: (i) 기존 종양의, 특히 적어도 20%만큼의 추가 성장; (ii) 기존 유형의 하나 이상의 새로운 병변 또는 전이의 성장 또는 형성; (iii) 상이한 유형의 하나 이상의 추가 전이의 형성; (iv) 추가 병변의 형성 및/또는 (v) 하나 이상의 병변의 크기의 증가. 종양의 추가 성장은 특히 종양 부피의 적어도 20%만큼의 증가를 나타낸다. 병변의 크기의 증가는 특히 병변 크기의 적어도 20%만큼의 증가를 나타낸다. 그러나, 치료 실패를 나타내는 상기 언급된 기준은 비제한적이다. 치료되는 질환 및/또는 임상 상황에 따라서 또한 다른 약화가 치료 실패로서 간주될 수 있다. 예컨대, 이전 치료를 중단해야 하는 결과를 발생시킨 증상 약화는 치료 실패로 간주될 수 있다. 실시예에 제시된 대로, 본 발명의 항-EGFR 항체는 다른 항암 치료, 특히 다른 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 실패한 후에 성공적으로 이용될 수 있다. 특정 구체예에서, 치료 실패는 RECIST의 기준에 따라 결정된다 (고형 종양에서의 반응 평가

기준).

[0071]

본 발명에 따른 용어 "성공적인 치료" 또는 "치료 성공" 또는 관련 용어는 특히 질병의 안정화, 질병의 부분적 관해 및/또는 완전한 관해를 발생시키는 EGFR 양성 암 또는 전이의 치료를 나타낸다. 성공적인 치료는 (i) 20% 초과하는 만큼의 종양 성장의 억제 또는 종양 성장의 예방; (ii) 종양 크기의 감소; (iii) 동일 유형 및/또는 상이한 유형의 추가 전이의 예방; (iv) 전이의 수의 감소; (v) 추가 병변의 예방; (vi) 병변의 수의 감소; (vii) 하나 이상의 병변의 크기의 감소; (viii) 환자의 순환에서 하나 이상의 종양 마커, 특히 CEA 및/또는 Ca19-9의 농도의 감소; (ix) 삼출, 특히 흉막 및/또는 복부 삼출의 감소, 및/또는 (x) 동통의 감소 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 성공적인 치료는 이러한 기준 중 하나 이상이 충족되는 경우 달성될 수 있다. 특정 구체예에서, 성공적인 치료는 또한 종양 크기의 적은 증가 (약 20% 이하), 전이 또는 병변의 수 또는 그 크기에서의 적은 증가 (20% 이하), 하나 이상의 종양 마커의 농도에서의 적은 증가 (20% 이하), 또는 삼출액의 양에서의 적은 증가 (20% 이하)가 관찰되는 치료를 포함한다. 특정 구체예에서 종양 크기의 감소는 종양 부피가 30 내지 50%만큼 감소되는 관해, 종양 부피가 50% 넘게 감소되는 관해, 및 종양 부피가 100%만큼 감소되거나 측정할 수 없거나 검출될 수 없는 크기까지 감소되는 완전한 관해를 포함하는, 종양 부피에서의 적어도 30%만큼의 감소를 의미한다. 병변의 크기의 감소는 특히 병변 크기가 30 내지 50%만큼 감소한 감소, 병변 크기가 50% 넘게 감소한 감소, 및 병변 크기가 100%만큼 감소하거나 측정할 수 없거나 검출될 수 없는 크기까지 감소되는 완전한 감소를 포함하는, 병변 크기에서의 적어도 30%만큼의 감소를 의미한다. 병변은 특히 원발성 종양 및/또는 하나 이상의 전이에 의해 야기되는 병변을 나타낸다. 환자의 순환에서 하나 이상의 종양 마커, 특히 CEA 및/또는 Ca19-9 농도에서의 감소는 바람직하게는 적어도 10%, 더욱 바람직하게는 적어도 25% 또는 적어도 50%, 가장 바람직하게는 적어도 75%만큼의 감소를 나타낸다. 특히, 종양 마커의 완전한 감소는 건강한 개체의 정상 수준으로의 감소를 의미한다. 삼출에서의 감소는 특히 삼출액의 양이 25 내지 50%만큼 감소한 감소, 삼출액의 양이 50% 넘게 감소한 감소, 및 비정상적인 양의 유체가 복강 또는 흉강과 같은 영향을 받은 체강에서 검출될 수 없는 완전한 감소를 포함하는, 삼출액의 양에서의 적어도 25%만큼의 감소를 의미한다. 성공적인 치료는 특히 또한 치료하지 않거나 고 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 표준 치료에 비해 무-진행 생존의 증가 및/또는 수명의 증가, 특히 적어도 2개월, 바람직하게는 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월 또는 적어도 1년, 심지어 더욱 바람직하게는 적어도 1.5년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 무-진행 생존 또는 남은 수명, 또는 적어도 2개월, 바람직하게는 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월 또는 적어도 1년, 심지어 더욱 바람직하게는 적어도 1.5년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 무-진행 생존 또는 남은 수명에서의 증가를 발생시키는 치료를 포함한다. 특정 구체예에서 "안정한 질병" 및 이에 따른 질병의 안정화는 (i) 종양 및/또는 전이 부피에서의 30% 미만 만큼의 변화 및/또는 (ii) 표적 병변의 크기에서의 30% 미만 만큼의 변화를 포함한다. 성공적인 치료는 바람직하게는 적어도 1개월, 더욱 바람직하게는 적어도 2개월, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월 또는 적어도 1년, 심지어 더욱 바람직하게는 적어도 1.5년, 적어도 2년, 적어도 3년, 적어도 4년 또는 적어도 5년의 관찰 기간 동안 결정된다. 특정 구체예에서, 치료 성공은 RECIST의 기준에 따라 결정된다 (고형 종양의 반응 평가 기준).

[0072]

종양 마커 CEA (암배아 항원)는 세포 부착에 관여하는 당단백질이다. 건강한 개체의 혈청에서 이러한 종양 마커의 정상 값은 비흡연자에서 1 mL 당 2.5 ng 이하 및 흡연자에서 1 mL 당 5 ng 이하이다. 전이성 암을 지닌 환자에서 종양 마커는 1 mL 당 100 ng 이상의 수준으로 상승할 수 있다. 1 mL 당 10 ng 또는 그 초과인 CEA 수준을 지닌 경우 양성 질환 가능성은 낮고 악성 질환으로 예측되어야 한다. CA19-9 (탄수화물 항원 19-9, 암 항원 19-9 또는 시알릴화 루이스 (a) 항원으로도 불림)는 세포내 부착 분자이다. 건강한 개체에서, CA19-9의 정상 값은 혈청 1 mL 당 37 단위 이하이다. 1 mL 당 1,000 단위 이상의 수준에서 양성 질환 가능성은 낮고 악성 질환으로 예측되어야 한다. 종양 마커 CEA 및 CA19-9 뿐만 아니라 다른 표준 종양 마커는 시판되는 진단 키트를 이용하여 환자의 혈액 샘플에서 및/또는 임상 실험실에서 결정될 수 있다. 실시예에 기재된 임상 연구에 포함된 여러 환자에서, 종양 마커, 특히 CEA 및 CA19-9에서의 극적인 감소가 관찰되었고, 이에 의해 본 발명의 항-EGFR 항체의 치료적 효과가 입증되었다.

[0073]

치료 실패 뿐만 아니라 성공적인 치료는 환자 치료를 평가하기 위해 당 분야에 일반적으로 공지된 임상 및 연구 소 데이터로부터의 결과에 의해 확인된 진료의 의학적 판단을 기초로 하여 확립된다. 이러한 데이터는, 예를 들어, 임상 시험, 세포학적 및 조직학적 기술, 내시경검사 및 복강경검사, 초음파, CT, PET 및 MRI 스캔, 흉부 x-선, 유방촬영술 및 이들의 조합으로부터 수득될 수 있다. 또한, 종양 반응을 결정하기 위해 RECIST 기준이 이용될 수 있다.

[0074]

본 발명에 따른 용어 "수술"은 특히 종양, 특히 원발성 종양, 예를 들어, 유방 종양, 및/또는 하나 이상의 전이

의 전부 또는 일부를 포함하는 조직의 외과적 제거(절제 또는 적출)를 나타낸다.

[0075] "애주버트 요법"은 특히 수술후 암의 치료를 나타낸다.

[0076] "네오애주버트 요법"은 특히 수술 전의 암의 치료를 나타낸다.

[0077] "완화 요법"은 특히 암을 유의하게 감소시키는 것을 예상하지 않고 증상 관리를 다루기 위해 특별히 제공되는 암 요법을 나타낸다. 완화 의료는 불치 암과 관련된 증상을 개선시키는 것에 관한 것이다. 완화 의료의 주요 목적은 환자의 여생의 삶의 질을 개선시키는 것이다. 동통은 암과 관련된 흔한 증상 중 하나이다. 말기암 환자의 약 75%가 동통을 갖는다. 동통은 주관적 증상이고, 이에 따라 기술적 접근법을 이용하여 측정될 수 없다. 대부분의 암 환자는 이웃하는 신경, 뼈, 또는 연성 조직을 압박하는 종양 덩어리의 결과로서 또는 직접적인 신경 손상(신경병증 동통)으로부터 동통을 경험한다. 동통은 근육, 근육, 및 내부 구조, 예를 들어, 복부 내의 영향을 받은 신경으로부터 발생할 수 있다(폐쇄와 관련된 경련 유형 동통). 많은 환자는 또한 후속 시험, 치료(수술, 방사선, 및 화학요법) 및 진단 절차(즉, 생검)의 직접적 결과로서 다양한 유형의 동통을 경험한다. 치료적으로 유용한 완화 요법은 동통을 감소시킬 수 있다.

[0078] 방사선 치료로도 공지된 용어 "방사선요법"은 특히 악성 세포를 조절하거나 사멸시키기 위한 이온화 방사선의 의학적 사용을 의미한다. 방사선요법은 애주버트 및/또는 네오애주버트 요법으로서 수술과 함께 이용될 수 있거나, 예를 들어, 수술 후 종양 재발을 예방하거나 원발성 종양 또는 전이를 제거하기 위해 수술 없이 이용될 수 있다.

[0079] 용어 "약학적 조성물" 및 유사한 용어는 특히 인간으로의 투여에 적합한 조성물, 즉, 약학적으로 허용되는 성분을 함유하는 조성물을 나타낸다. 바람직하게는, 약학적 조성물은 활성 화합물 또는 이의 염과 함께 담체, 희석제 또는 약학적 부형제, 예를 들어, 완충제, 또는 긴장성 조절제를 포함한다. 한 구체예에 따르면, 약학적 조성물은 보존제를 포함하지 않는다.

[0080] 용어 "항체 조성물" 및 "항체를 포함하는 조성물"은 문맥에서 달리 지시하지 않는 한 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 또한 본원에서 사용되는 용어 "항체"는 특정 구체예에서 항체 조성물을 나타낼 수 있다. 항체 조성물은 액체 또는 고체 조성물일 수 있고, 또한 동결건조되거나 재구성된 항체 조성물을 포함한다. 바람직하게는, 액체 조성물, 더욱 바람직하게는 수성 조성물이 사용된다. 특정 구체예에서, 이것은 용매, 예를 들어, 물, pH 값을 조정하고 유지시키기 위한 완충제, 및 임의로 항체를 안정화시키거나 항체의 분해를 예방하기 위한 추가 작용제를 추가로 포함한다. 항체 조성물은 바람직하게는 적당한 양의 항체, 특히 적어도 1 fmol, 바람직하게는 적어도 1 pmol, 적어도 1 nmol 또는 적어도 1 μmol의 항체를 포함한다. 특정 항체를 포함하는 조성물은 상이한 아미노산 서열의 하나 이상의 추가 항체를 추가로 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 하나 이상의 상이한 항체는 상이한 에피토프 또는 상이한 표적에 결합한다. 한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 같은 특정 항체를 포함하는 조성물은 특정 항체와 별개의 다른 항체를 포함하지 않는다. 특정 구체예에서, 항체 조성물 내의 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99%, 가장 바람직하게는 약 100%의 항체는 동일한 항원 또는 에피토프로 유도되거나 결합하거나, 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 따라서, 특정 구체예에서 용어 "감소된 푸코스 항-EGFR 항체"는 다양한 항원 특이성 및/또는 상이한 아미노산 서열을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체 조성물을 나타낸다. 특정 구체예에서, 항체 조성물은 약학적 조성물이다.

[0081] **발명의 상세한 설명**

[0082] 본 발명의 항-EGFR 항체로 달성된 현저한 치료 효과 및 본 발명에 의해 제공된 신규한 치료 기회는 이를 언급하는 본 발명의 개요에 간단히 기재되었다. 본 발명은 EGFR 양성 신생물 질환, 특히 진행되거나 전이성 암을 갖는 환자를 치료하기 위한 CH2 도메인에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체를 제공하고, 여기서 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 단지 50% 또는 그 미만, 40% 또는 그 미만, 30% 또는 그 미만, 바람직하게는 25% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 20% 내지 0%만이 푸코스를 지닌다 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체). 따라서, 본 발명은 EGFR 양성 암을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 제공한다. 본원에서, 본 발명은 특히 신규한 치료제를 제공한다.

[0083] 실험 데이터에 의해 입증된 대로, 종래 기술의 항-EGFR 항체와 대조적으로, 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 치료되는 환자에서 주목할 만하게 피부 부작용이 거의 없고 단지 가벼운 피부 부작용만을 유발한다. 특히, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료된 환자의 약 40%만이 피부 부작용을 발생시킨다. 이는 환자의 80% 이상에서 피부 반응을 일으키는 통상적인 항-EGFR 항체에 비해 절반의 감소이다. 또한, 본 발명의 감소된

푸코스 항체로 관찰된 피부 반응은 매우 가벼웠고 3등급 또는 이를 초과하는 심각한 피부 부작용은 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 임상 연구를 진행하는 동안 지금까지 관찰되지 않았다. 이는 빈번하게 그러한 심각한 피부 반응을 유발하는 종래 기술의 항-EGFR 항체와 구별되는 본 발명에 따른 항체의 중요한 특징이다. 발명의 배경에 상세하게 기재된 대로, 심각한 피부 반응은 환자들에게 큰 부담이다. 많은 경우에, 피부 부작용은 매우 심각해져서 항체 투여가 지연되어야 하거나, 투여량이 감소되어야 하거나 심지어 치료의 종결이 임상적으로 지시된다. 이러한 문제는 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 극복된다. 따라서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료는 환자에 의해 훨씬 잘 관용되며 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 독특한 특징으로 인해 새로운 치료 기회가 제공된다. 특히, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 통상적인 항-EGFR 항체에 의해 야기된 피부 부작용으로 인해 상기 통상적인 항-EGFR 항체로 치료될 수 없었거나 더 이상 치료될 수 없는 환자에서의 EGFR-양성 신생물 질환의 치료를 가능케 한다. 이는 특히 통상적인 항-EGFR 항체를 이용한 치료를 받은 환자에 적용되며 상기 치료는 피부 부작용, 특히 3등급 이상의 심각한 피부 부작용으로 인해 중단되거나 중지되어야 했거나 통상적인 항-EGFR 항체의 투여량은 피부 부작용으로 인해, 치료 효능이 위태롭기 때문에 감소되어야 했다. 또한, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 이용시 단지 경미한 피부 부작용만이 관찰되므로, 요망되는 경우, 더 높은 투여량이 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 EGFR 양성 신생물 질환, 특히 악성 상피성 종양을 앓고 있는 인간 환자에 대해 신규하고 개선된 치료를 제공하며, 이 때 환자는 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체, 예컨대 Erbitux®, 파니투무맙, 잘루투무맙 또는 GA201에 대한 피부 부작용으로 고통받고 있거나, 이전에 고통받았거나 고통받을 위험이 있다.

[0084]

비록 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 더 작고 단지 경미한 피부 부작용을 초래할지라도, 이는 임상 시험에서 비제한적으로 결장직장암, 신장암, 폐암, 위암 및 식도암을 포함하는 여러 상이한 EGFR 양성 암 타입의 치료에서 높은 치료적 효능을 입증하였다. 진행 중인 임상 연구에서, 많은 수의 환자에서 장기간 안정한 질환, 부분적이고 심지어 완전한 반응을 포함하는 환자에 대한 뚜렷한 치료적 이익이 관찰되었고, 이러한 현저한 치료적 이익은 이미 낮은 항체 투여량에서 관찰되었다 (하기 실시예를 참조하라). 이는 당 분야에서 항-EGFR 항체와 같은 EGFR 억제제의 치료 효능이 치료에 의해 야기된 피부 부작용의 중증도와 직접 관련이 있다고 여겨졌으므로 특히 주목할 만하다. 이러한 정설은 놀랍게도 치료적으로 고도로 효과적이면서 넓은 투여량 범위에 걸쳐 여전히 현저하게 감소된 단지 가벼운 피부 부작용의 발생을 나타내는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해 반박된다.

[0085]

추가 중요한 발견은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 상이한 형태의 신장암에 매우 효과적이라는 것이다. 신세포 암종은 일반적으로 화학요법 또는 항체-기반 요법에 민감하지 않은 것으로 고려된다. 그러나, 임상 연구는 투명 세포 뿐만 아니라 비-투명 세포 신세포 암종을 포함하는 상이한 유형의 신세포 암종이 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해 효과적으로 치료될 수 있음을 나타낸다. 이에 의해, 신규한 치료는 신장암을 앓고 있는 환자, 특히 투명 세포 또는 비-투명 세포 신장 암종을 앓고 있는 환자에게 제공된다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 특히 상기 환자가 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있고, 상기 이전 치료가 중단, 종결되었거나, EGFR 억제제의 투여량이 치료 동안 발생한 피부 부작용으로 인해 감소되어야 했던 경우에 적합하다. 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 특히 심각한 피부 반응을 초래하는 항-EGFR 항체, 특히 세톡시맙 (Erbitux®) 또는 파니투무맙에 대해 3 또는 4등급의 공지된 심각한 피부 반응을 지닌, 신장암을 앓고 있는 환자, 특히 투명 세포 또는 비-투명 세포 신장 암종을 앓고 있는 환자를 치료하는데 이용될 수 있다.

[0086]

또 다른 중요한 특징으로서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 치료되는 암 환자에서 악성 삼출을 현저하게 감소시키고 심지어 환자에서 삼출의 완전한 제거를 달성하였다. 악성 삼출은 임 질환과 관련된 합병증이고 환자에게 큰 불편함과 통증을 초래한다 (상기 참조). 임상 연구에서 입증된 바와 같이, 본 발명의 항-EGFR 항체는 - 암의 효과적인 치료 외에 이러한 합병증을 완화시키고 치료되는 환자의 일반적인 상태 및 건강 조건을 개선시킬 수 있다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 특히 상기 환자가 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있고, 상기 이전 치료가 중단, 종결되었거나, EGFR 억제제의 투여량이 치료 동안 발생한 피부 부작용으로 인해 감소되어야 했던 경우에 적합하다. 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 특히 심각한 피부 반응을 초래하는 항-EGFR 항체, 특히 세톡시맙 (Erbitux®) 또는 파니투무맙에 대해 3 또는 4등급의 공지된 심각한 피부 반응을 지니며, 악성 삼출을 앓고 있는 환자를 치료하는데 이용될 수 있다.

[0087]

더욱이, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 또한 통상적인 항-EGFR 항체에 대해 문제를 제기한 환자 또는 종양의 특수한 특징에 의해 방해되지 않는다. 특히, 본 발명에 따른 항체는 종양이 KRAS 돌연변이체를 포함하는지 포함하지 않는지와 무관하게 그리고 환자의 Fc γ RIIIa 동종이형과 무관하게 지속적인

로 우수한 치료적 효능을 나타낸다. 이는 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 추가의 이로인 특징이다. 통상적으로 이용되는 항-EGFR 항체인 Erbitux®는, 예를 들어, KRAS 돌연변이 종양의 치료에 적합하지 않고 실제로 KRAS 야생형 암의 치료를 위해서만 승인된다. 또한, Erbitux®와 같은 고 푸코스 항-EGFR 항체는 불리한 Fc γ RIIIa 동종이형을 갖는 환자에서 매우 감소된 ADCC 활성을 지니므로 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 동형접합인 환자 (Fc γ RIIIa-158F/F) 또는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합인 환자 (Fc γ RIIIa-158V/F)에서 감소된 효능을 나타낸다.

[0088] 따라서, 본 발명은 크게 개선된 치료적 프로파일을 갖는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 제공하고, 상기 항체를 이용한 새로운 치료적 처치를, 특히 새로운 환자 그룹에 제공한다.

[0089] 본 발명의 항-EGFR 항체 및 개별적인 치료의 바람직한 구체에는 후속하여 본원에 언급되는 청구범위에서 기재된다.

[0090] **본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체**

[0091] 상기 기재된 대로, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 중요한 특징은 관찰된 피부 부작용의 현저한 감소이다. 종래 기술의 항-EGFR 항체에 의해 일반적으로 발생하는 피부 부작용은 여드름모양 발진, 다형 홍반 및 수족 피부 반응과 같은 발진 및/또는 표피탈락; 가려움증; 소양증; 손톱 변화; 및 궤양을 포함하지만 이로 제한되는 것은 아니다 (또한 상기 참조). 피부 부작용에 대한 개관 뿐만 아니라 이들의 분류 및 등급은 이에 대해 언급된 미국 국립 보건원의 암 요법 평가 프로그램 버전 3.0의 부작용에 대한 일반적인 용어 기준에 제공된다. 종래 기술의 항-EGFR 항체가 종종 환자에서 피부 부작용을 야기하지만 (예컨대, Erbitux®의 경우 환자의 약 80% 또는 심지어 약 90%), 피부 부작용은 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 이용시 덜 빈번하게 발생한다. 따라서, 한 구체예에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 80% 이하, 75% 이하, 70% 이하, 65% 이하, 60% 이하, 바람직하게는 55% 이하 및 더욱 바람직하게는 50% 이하에서 피부 부작용 (임의의 등급 포함)을 발생시킨다.

[0092] 상기 기재된 대로, 특히 종래 기술의 항-EGFR 항체 이용시의 문제는 이와 같이 3 또는 4등급의 피부 부작용의 발생이고 (등급에 대해서는 미국 국립 보건원의 암 요법 평가 프로그램 버전 3.0의 부작용에 대한 일반적인 용어 기준을 참조하라), 적합화 및 때로는 심지어 치료의 중단이 임상적으로 지시된다. 특히 문제가 되는 것은 3 또는 4 등급의 피부 발진이다. 3등급의 피부 발진은 신체 피부 면적의 적어도 50%를 덮는 예컨대 심각한 전신성 홍피증, 황반, 구진 또는 소포성 발진 및/또는 표피탈락을 포함한다. 4등급의 피부 발진은, 예컨대 전신성 박탈성, 궤양성, 및/또는 수포성 피부염을 포함한다. 3등급 이상의 여드름모양 발진은 특히 동통, 기형, 궤양, 및/또는 표피탈락과 연관된다. 3등급 이상의 그러한 피부 부작용으로 인해 발생하는 건강 문제는 상기에 자세하게 기재되었고 이전 치료에서 3등급 이상의 피부 부작용을 경험했거나 Erbitux®와 같은 통상적인 항-EGFR 항체를 이용한 치료 동안 상기 피부 부작용이 발생할 위험이 있는 그러한 환자에 대한 신규한 치료 옵션이 크게 요구된다. 이러한 신규한 치료가 본 설명에서 제공된다.

[0093] 본 발명의 한 양태에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 3등급 이상의 피부 부작용이 치료되는 환자의 20% 이하, 19% 이하, 18% 이하, 17% 이하, 16% 이하, 15% 이하, 14% 이하, 13% 이하, 12% 이하, 11% 이하, 바람직하게는 10% 이하, 9% 이하, 8% 이하, 7% 이하, 6% 이하, 더욱 바람직하게는 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2.5% 이하, 2% 이하, 1.5% 이하, 1.25% 이하, 1% 이하, 0.75% 이하, 0.5% 이하, 또는 0.25% 이하에서 발생하는 특징을 갖는다. 진행 중인 임상 연구에서, 3등급 이상의 피부 부작용은 아직 관찰되지 않았다. 특히, 연구 동안 피부 부작용으로 인한 치료 중단, 투여량 감소 또는 투여의 지연은 임상적으로 지시되지 않았다.

[0094] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 발진 및/또는 여드름모양 발진을 치료되는 환자의 70% 이하, 65% 이하, 60% 이하, 55% 이하, 바람직하게는 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 더욱 바람직하게는 30% 이하, 25% 이하, 또는 20% 이하에서 발생시킨다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 치료되는 환자의 20% 이하, 바람직하게는 19% 이하, 18% 이하, 17% 이하, 16% 이하, 15% 이하, 14% 이하, 13% 이하, 12% 이하, 11% 이하 바람직하게는 10% 이하, 9% 이하, 8% 이하, 7% 이하, 6% 이하, 더욱 바람직하게는 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2.5% 이하, 2% 이하, 1.5% 이하, 1.25% 이하, 1% 이하, 0.75% 이하, 0.5% 이하 또는 0.25% 이하에서 발생시킨다. 일반적으로 종래 기술의 항체와 관련된 여드름모양 피부 발진은 특히 동통, 기형, 궤양, 및/또는 표피탈락과 연관된다. 본 출원에 제공된 임상 데이터에 의해 제시된 바와 같이, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 단지 약 20%의 낮은 여드름모양 발진 발생률 (즉, 1 및 2등급을 포함하는 임의의 등급)을 야기한다. 관찰된 여드름모양 발진은 단지 경증이었으며 특히 3등급 이상의 여드름모양 발진은 지금까지 발생하지 않았다. 본원에서 사용되는 용어 "여드름

모양 발진" 또는 "여드름모양 피부 발진"은 특히 "여드름모양 피부염"을 또한 포함하며 이를 나타낸다.

[0095]

특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 저마그네슘혈증 및/또는 저칼륨혈증을 치료되는 환자의 30% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 12% 이하, 10% 이하, 9% 이하, 8% 이하, 또는 7% 이하에서 발생시킨다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 3등급 이상의 저마그네슘혈증 및/또는 저칼륨혈증을 치료되는 환자의 10% 이하, 바람직하게는 9% 이하, 8% 이하, 7% 이하, 6% 이하, 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 1.5% 이하, 1% 이하, 0.75% 이하, 0.5% 이하, 또는 0.25% 이하에서 발생시킨다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 설사를 치료되는 환자의 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 27% 이하, 25% 이하, 23% 이하, 또는 22% 이하에서 발생시킨다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 3등급 이상의 설사를 치료되는 환자의 15% 이하, 바람직하게는 12% 이하, 10% 이하, 7% 이하, 6% 이하, 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 1.5% 이하, 1% 이하, 0.75% 이하, 0.5% 이하, 또는 0.25% 이하에서 발생시킨다.

[0096]

특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 용량 당 적어도 10 mg, 바람직하게는 용량 당 적어도 50 mg, 용량 당 적어도 100 mg, 용량 당 적어도 200 mg, 용량 당 적어도 240 mg, 용량 당 적어도 300 mg, 용량 당 적어도 350 mg, 용량 당 적어도 400 mg, 용량 당 적어도 500 mg, 용량 당 적어도 600 mg 또는 용량 당 적어도 700 mg의 양으로 투여될 때 본원에 논의된 부작용을 치료되는 환자의 지시된 백분율 이하로 발생시킨다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는, 특히 적어도 3주마다, 바람직하게는 적어도 2주마다 또는 적어도 매주, 적어도 4회 용량, 바람직하게는 적어도 6회 용량, 적어도 8회 용량 또는 적어도 10회 용량으로 투여된다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적어도 4주, 특히 적어도 6주, 적어도 8주 또는 적어도 10주 동안, 주 당 적어도 200 mg, 특히 주 당 적어도 240 mg, 주 당 적어도 300 mg, 주 당 적어도 350 mg, 주 당 적어도 400 mg, 주 당 적어도 500 mg, 주 당 적어도 600 mg 또는 주 당 적어도 700 mg의 평균 양으로 투여되는 경우, 본원에 논의된 부작용을 치료되는 환자의 지시된 백분율 이하로 발생시킨다.

[0097]

이와 관련하여, 본 발명은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하여 환자를 치료하는 단계를 포함하는, EGFR 억제제를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 환자의 치료에서의 부작용을 감소시키는 방법을 추가로 제공한다. 특히, 상기 방법은 EGFR 억제제를 이용한 치료를 종결하고 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료를 시작하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 부작용은, 특히 상기에 기재된 대로, 본원에 기재된 수준까지 감소한다. 예를 들어, 하나 이상의 유형의 부작용의 중증도는 감소할 수 있고/거나 하나 이상의 유형의 부작용의 발생은 예방될 수 있다. 바람직하게는, 피부 부작용, 특히 발진 또는 여드름모양 발진의 중증도 또는 등급이 감소한다. 특정 구체예에서, 환자는 3등급 이상 또는 4등급 이상의 부작용, 특히 3등급 이상 또는 4등급 이상의 발진 또는 여드름모양 발진과 같은 피부 부작용으로 고통받으며, 상기 부작용 등급은 2 이하, 바람직하게는 1로 감소하거나, 상기 부작용은 본 발명의 항-EGFR 항체를 이용한 치료로 인해 완전히 제거된다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 환자에게 고 용량으로 투여된다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 환자를 치료하는 것은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 용량 당 적어도 200 mg, 바람직하게는 용량 당 적어도 500 mg, 용량 당 적어도 700 mg, 또는 용량 당 적어도 900 mg의 양으로 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 5일마다 1회 용량 내지 3주마다, 더욱 바람직하게는 매주 또는 격주 1회 용량의 간격으로 환자에게 투여된다. 특정 구체예에서, 환자는 이전 치료에서 사용된 EGFR 억제제에 의해 초래된 여드름모양 피부 발진, 특히 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진으로 고통받았다. EGFR 억제제는 특히 치료되는 환자의 70% 이상, 80% 이상 또는 90% 이상에서 피부 부작용을 발생시킨다. 특정 구체예에서, EGFR 억제제는 치료되는 환자의 25% 이상, 30% 이상 또는 35% 이상에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨다. 또한, EGFR 억제제는 치료되는 환자의 60% 이상, 70% 이상 또는 심지어 80% 이상에서 여드름모양 피부 발진, 특히 치료되는 환자의 25% 이상, 30% 이상 또는 심지어 35% 이상에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시킬 수 있다. 특정 구체예에서, 이전 치료에 사용된 EGFR 억제제는 항-EGFR 항체, 예컨대 세록시탐 (Erbix®), 파니투무탐 (Vectibix®), 잘투투무탐 및 GA201이다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 대해 본원에 기재된 모든 특징 및 구체예는 본 발명에 따른 방법에도 적용된다.

[0098]

항-EGFR 항체에 의해 발생한 피부 부작용의 존재 및 부재는 바람직하게는 항-EGFR 항체를 투여한 지 적어도 2일, 더욱 바람직하게는 적어도 3일 또는 적어도 4일 후에 결정된다. 바람직한 구체예에서, 적어도 2일, 바람직하게는 적어도 3일 또는 적어도 4일 동안 존재하는 피부 부작용만이 항-EGFR 항체에 의해 발생한 피부 부작용의 존재 또는 부재를 결정하는데 고려된다. 항-EGFR 항체에 의해 발생한 피부 부작용을 결정하기 위해, 바람직하게는 항-EGFR 항체를 처음 투여한 지 2일 후부터 항-EGFR 항체를 마지막 투여한 지 3주 후까지의 간격, 더욱 바람직하게는 첫 투여 3일 후부터 마지막 투여 2주 후, 또는 첫 투여 4일 후부터 마지막 투여 1주 후까지의 간격에 발생한 피부 부작용만이 고려된다. 이에 의해, 항-EGFR 항체의 생물학적 및/또는 치료 활성에 의해 발생

한 피부 반응만이 고려되는 한편, 약학적 조성물의 주입에 의해 발생한 피부 반응 (주입-관련 반응 (IRR))은 제외된다. 본원에서 언급되는 부작용, 특히 피부 부작용은, 특히 주입-관련 반응을 포함하지 않는다.

[0099] 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하여 치료된 환자에서 또한 종래 기술의 항체에 비해 가벼운 피부 부작용의 낮은 발생률은 환자의 피부로의 과립구 이동의 억제 또는 감소된 유도의 결과로서, 피부 영역에서 낮은 농도의 과립구 때문인 것으로 여겨진다. 어떠한 이론에 구속되지 않으며, 면역 세포, 특히 과립구와 같은 백혈구의 결합에 또한 영향을 줄 수 있는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 최적화된 Fc 당화가 이러한 효과의 원인이 될 수 있다 (하기 참조).

[0100] 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체, 특히 본원에 기재된 바람직한 당화 특징을 갖는 항체는 고 푸코스 항-EGFR 항체 Erbitux®와 같은 다른 항-EGFR 항체에 비해 면역 세포와의 이의 상호작용에 있어서 차이를 나타내는 것이 발견되었다. 예를 들어, 인간 혈액 샘플에 존재하는 거의 모든 과립구 및 많은 수의 NK 세포가 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해 결합하는 것이 발견되었다. 대조적으로, 고 푸코스 세톡시맵 (Erbitux®)은 샘플 중 단지 5% 미만의 과립구 및 NK 세포에 결합한다 (실시에 7을 참조하라). 이에 관해, 본 발명에 따른 항-EGFR 항체를 이용한 치료 후 순환하는 NK 세포의 감소 또한 임상 연구의 모든 시험된 환자에서 관찰되었는데, 이는 영향을 받은 중앙 조직으로의 NK 세포의 자극 및 이동을 나타낸다. 어떠한 이론에 구속되지 않으며, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 변경된 면역 세포 결합은 피부 부작용의 감소된 발생과 관련이 있거나 심지어 그 원인이고 적어도 이를 반영하는 것으로 여겨진다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 혈액 샘플에서 적어도 60%, 바람직하게는 적어도 80%의 인간 과립구 또는 특정 유형의 인간 과립구, 특히 CD66 양성 인간 과립구에 결합할 수 있다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 고 푸코스 항-EGFR 항체 Erbitux®보다 적어도 10배 더 강하게, 바람직하게는 적어도 20배 더 강하게 인간 과립구에 결합한다. 또한, 일부 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 혈액 샘플에서 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 20%의 인간 NK 세포, 특히 CD16 및 CD56 양성 인간 NK 세포에 결합할 수 있다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 고 푸코스 항-EGFR 항체 Erbitux®보다 적어도 5배 더 강하게, 바람직하게는 적어도 10배 더 강하게 인간 NK 세포에 결합한다. 결합 거동은 적절한 검정으로 확인될 수 있다. 이러한 결합 검정을 위해, 바람직하게는 인간 혈액 샘플을 약 10 µg/ml 농도의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 접촉시키고 혈액 세포에 대한 항체의 결합을 형광단과 같은 검출가능한 신호를 지니는 2차 항체를 이용하여 검출한다. 상이한 혈액 세포에 대한 결합은 하기 실시예 7에 기재된 대로 결정될 수 있다. 또한, 케모카인 IP-10의 신속하고 강력한 자극이 본 발명의 항-EGFR 항체로 치료된 모든 분석된 환자에서 확인되었다. 이는 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 반응하는 대식세포의 개입을 나타낸다. IP-10은 자극시에 대식세포에 의해 분비되며 따라서 대식세포 활성화에 대한 마커이다.

[0101] 이러한 발견은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 상이한 작용 메커니즘을 통해 EGFR 양성 신생물 질환의 세포 (표적 세포)를 공격할 수 있음을 나타낸다.

[0102] 표적 세포의 표면에서 EGFR에 결합시에, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체-의존성 세포 세포독성 (ADCC)을 유도할 수 있다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이들의 Fc γ 수용체 III, 특히 Fc γ 수용체 IIIa를 통해 자연살세포 (NK 세포) 및 다른 면역 세포에 결합하여 이들을 활성화시킨다. 활성화된 NK 세포는 표적 세포로 들어가서 아포토시스 또는 세포 용해를 촉발시킴에 의해 세포 사멸을 촉진하는 퍼포린 및/또는 그랜자임을 함유하는 세포독성 과립 및/또는 IFN- γ 과 같은 사이토카인을 방출시킨다. 따라서, 표적 세포는 ADCC의 유도를 통해 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해 파괴된다.

[0103] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 표적 세포 상의 EGFR을 차단함에 의해 세포 증식을 감소시키고/거나 세포 사멸 또는 아포토시스를 유도할 수 있다. 특정 표적 세포에서 EGFR 신호전달은 증식 및/또는 생존에 필요하다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 표적 세포의 표면 상의 EGFR에 결합할 때, EGFR의 리간드 결합 및/또는 활성화가 억제된다. 더욱이, 항체에 의해 결합된 EGFR은 표적 세포에 의해 내재화되므로, 세포 표면 상의 EGFR 양을 감소시킨다. 이러한 메커니즘에 의해, 세포 생존, 증식 및 아포토시스의 억제를 이끄는 EGFR 신호전달 경로의 활성화가 감소되거나 심지어 억제된다. EGFR에 대한 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 결합에 대한 표적 세포의 직접 반응으로서, 세포는 증식하지 않고 아포토시스가 유도된다.

[0104] 추가의 작용 메커니즘에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 신생물 질환의 부위에 있는 과립구에 결합하여 이를 활성화시킬 수 있다. 활성화된 과립구는 과립을 방출시키고, 이에 의해 아포토시스, 용해 및/또는 표적 세포에서의 괴사가 유도된다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 과립구의 강력한 결합 및 활성화는 실시예에서 입증되었다. 특히, 활성화된 과립구의 과립의 구성요소인 산화성 중 및 락토페린의 생성이 전혈 샘플을 표적 세

포의 존재 하에 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 함께 인큐베이션했을 때 관찰되었다. 따라서, 구체예에서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 활성화를 통해 표적 세포를 공격할 수 있다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료는 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한, 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하기 위한 상기 활성화된 과립구의 유도를 포함한다. 본 발명의 한 양태에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대한 과립구-유래된 면역 반응을 유도하기 위한 것이다. 과립구-유래된 면역 반응은 바람직하게는 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하기 위한 상기 활성화된 과립구의 유도를 포함한다.

[0105]

또한, 구체예에서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 표적 세포를 공격하여 파괴하는 대식세포를 활성화시킬 수 있다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여시에 케모카인 IP-10이 치료되는 환자에서 방출됨이 입증될 수 있었다. IP-10은 활성화된 대식세포에 의해 분비된다. 환자에서 IP-10 농도에서의 증가는 대식세포 활성화에 대한 강력한 지시인자이다. 따라서, 이러한 구체예에서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 대식세포의 활성화를 통해 표적 세포를 공격할 수 있다. 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료는 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하기 위한 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함한다. 본 발명의 한 양태에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대한 대식세포-유래된 면역 반응을 유도하기 위한 것이다. 대식세포-유래된 면역 반응 바람직하게는 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하기 위한 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함한다. 본원에 언급된 세포 파괴는, 특히 아포토시스 유도, 세포 용해 유도 및/또는 상기 세포의 괴사 유도를 의미하고 이를 포함한다.

[0106]

본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 유리한 특징은 분명히 본 발명의 항-EGFR 항체의 현저한 치료적 특성을 또한 책임지는 이의 개선된 당화 패턴이다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 IgG 항체, 바람직하게는 중쇄의 제 2 불변 도메인(CH2) 내에 당화 부위를 갖는 IgG1 항체이다. 항체는 보통 동일한 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄를 지닌다. 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이의 2개의 CH2 도메인에 각각 하나씩 적어도 2개의 당화 부위를 갖는다. 이러한 당화 부위는 특히 케이벳 넘버링에 따라 중쇄의 아미노산 위치 297에 상응하는 아미노산 위치에 있으며, 아미노산 서열 모티프 Asn Xaa Ser/Thr를 갖고, 여기서 Xaa는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산일 수 있다. 자세한 내용은 또한 상기에 기재되었고 상기 설명에 언급된다. Asn297에서의 N-결합 당화는 포유동물 IgG뿐만 아니라 다른 항체 아이소형의 상동성 영역 내에서 보존되어 있다. 가변 영역 또는 다른 서열 변형부에 존재할 수 있는 임의의 추가 아미노산으로 인해, 이러한 보존된 당화 부위의 실제 위치는 항체의 아미노산 서열에서 다양할 수 있다. 특정 구체예에서, 조성물 내에 포함된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 적어도 98%에서, 적어도 하나의 CH2 도메인, 바람직하게는 둘 모두의 CH2 도메인의 당화 부위는 탄수화물 구조를 갖는다. 본원에 기재된 바와 같은 CH2 도메인 내의 푸코실화의 양은 Fc 영역 내의 이러한 당화 부위에서 결정된다 (또한 Fc 푸코실화로도 언급됨). 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 부착된 글리칸의 적어도 90%, 더욱 바람직하게는 적어도 95%는 바이안테너리(biantennary) 복합체 타입 N-결합 탄수화물 구조이며, 바람직하게는 적어도 하기 구조를 포함한다:

[0107]

Asn - GlcNAc - GlcNAc - Man - (Man - GlcNAc)₂

[0108]

여기서 Asn은 항체의 폴리펩티드 부분의 아스파라긴 잔기이고; GlcNAc는 N-아세틸글루코사민이고 Man은 만노스이다. 말단 GlcNAc 잔기는, 임의로 시알산 잔기를 지닐 수 있는 갈락토스 잔기를 추가로 지닐 수 있다. 추가의 GlcNAc 잔기 (양분성 GlcNAc로 명명됨)는 폴리펩티드에 가장 가까운 Man에 부착될 수 있다. 푸코스는 Asn에 부착된 GlcNAc에 결합할 수 있다. 도 6은 복합체 타입 N-결합 탄수화물 구조의 개략도를 도시한다.

[0109]

감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하 또는 심지어 25% 이하, 더욱 바람직하게는 20% 이하 또는 15% 내지 0%인 CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬에서의 푸코스의 양을 갖는다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 심지어 비푸코실화되고, 따라서 어떠한 푸코스도 포함하지 않는다. 그러나, 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 최소한 적어도 2%, 적어도 3% 및 바람직하게는 적어도 5%의 푸코스의 잔여량을 Fc 당화에 포함한다. 특정 구체예에서, CH2 도메인에 푸코스를 지니는 탄수화물 사슬의 양은 바람직하게는 1% 내지 30%, 더욱 바람직하게는 2% 내지 25%, 가장 바람직하게는 3% 내지 20% 또는 4% 내지 15%

의 범위이다.

[0110] 본원에서 사용되는 바와 같은 임의의 푸코스를 갖지 않는 항체를 포함하는 감소된 양의 푸코실화를 갖는 항-EGFR 항체는 다양한 수단에 의해 획득될 수 있다. 예를 들어, 항-EGFR 항체는 변경된 당화 기구를 갖는 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 변경된 당화 기구를 갖는 세포는 당 분야에 기재되어 있고, 본원에 기재된 바와 같이 Fc 영역 내에 감소된 푸코실화를 갖는 재조합 항-EGFR 항체를 생성시키기 위한 숙주 세포로 사용될 수 있다. 예를 들어, EP 1,176,195호(Hang *et al.*)에는 푸코실 트랜스퍼라제를 인코딩하는 기능적으로 붕괴된 FUT8 유전자를 갖는 세포주가 기재되어 있으며, 상기 세포주에서 발현된 항체는 저푸코실화(hypofucosylation)를 나타낸다. 따라서, 한 구체예에서, 본 발명의 조성물에 포함된 항체는 저푸코실화 패턴을 나타내는 세포주, 예를 들어, 푸코실트랜스퍼라제를 인코딩하는 FUT8 유전자의 발현이 결핍된 포유동물 세포주에서의 재조합 발현에 의해 생성된다. WO03/035835호에는 Asn(297)-연결된 탄수화물에 푸코스를 부착시키는 능력이 감소되고, 또한 숙주 세포에서 발현된 항체의 저푸코실화를 발생시키는 변이체 CHO 세포주인 Lec13 세포가 기재되어 있다(또한, 문헌 [Shields, R.L. *et al.*, 2002 J. Biol. Chem. 277:26733-26740]을 참조하라). 본 발명의 항체는 포유동물-유사 당화 패턴에 대해 조작되고, 당화 패턴으로서 푸코스 결핍 항체를 생성시킬 수 있는 효모 또는 사상 진균에서 생성될 수 있다(예를 들어, EP1297172B1 참조). 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 감소된 푸코실화 능력을 갖거나 심지어 푸코실화 능력을 갖지 않는 인간 세포주에서의 재조합 발현에 의해 획득된다. 각각의 감소되거나 부재하는 푸코실화 능력은, 예를 들어, 푸코실화에 필요한 효소(예컨대 유전자 FUT8에 의해 인코딩된 α 1,6-푸코실트랜스퍼라제 또는 GMD 유전자에 의해 인코딩된 GDP-D-만노스-4,6-탈수효소(GMD))의 발현을 감소시키거나, 예를 들어, 유전자 녹아웃에 의해 각각의 유전자 기능을 제거함으로써 달성될 수 있다. 개개의 효과는 또한 RNA 간섭을 매개하는 예컨대 안티센스 분자 또는 화합물과 같은 유전자 녹아웃을 유도하는 화합물을 이용하여 달성될 수 있다. RNA 간섭을 매개하는 화합물은 세포에서 실질적인 RNAi 유도성 화합물로 처리되는 짧은 간섭 핵산(siNA), 짧은 간섭 RNA(siRNA), microRNA(miRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA) 뿐만 아니라 이들의 전구체를 포함하지만 이로 제한되는 것은 아니다. RNA 수준에서 표적 유전자의 선택/확인된 표적 서열을 표적화하는 적합한 siRNA는 특정 설계-알고리즘을 이용하여, 적당한 계산 방법을 이용하여 확인될 수 있다. 표적 전사체에 대한 siRNA를 획득하기 위해, 이중-가닥 분자를 직접 세포로 트랜스펙션시킬 수 있다. 대안적으로, siRNA는 긴 dsRNA 또는 작은 헤어핀 RNA(shRNA)를 siRNA로 전환시키는 효소인 다이서에 의해 처리로부터 발생할 수 있다. 이러한 전구체 또는 최종 siRNA 분자는 외생적으로(인위적으로) 생성된 후에 다양한 트랜스펙션 방법에 의해 세포로 도입될 수 있다. 추가의 구체예에 따르면, RNAi 유도성 화합물은 숙주 세포로 트랜스펙션되는 벡터에 의해 발현된다. siRNA의 경우, 이는 예컨대 두 가닥 사이에 루프의 도입, 이에 따라 이후 숙주 세포에서 기능성 siRNA로 처리될 수 있는 단일 전사체의 생성에 의해 수행될 수 있다. 한 구체예에 따르면, 벡터를 제공하는 그러한 siRNA는 숙주 세포의 유전체에 안정하게 통합된다.

[0111] 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 인간 세포주, 바람직하게는 인간 혈액 세포주, 특히 인간 골수성 백혈병 세포주에서 재조합적으로 생성된다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 생성시키기 위해 사용된 세포주는 바람직하게는 감소되거나 부재하는 푸코실화 활성을 갖고/갖거나, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체의 감소되거나 심지어 부재하는 푸코실화를 발생시키는 조건하에서 생성된다. 본원에 기재된 바와 같이, 감소되거나 부재하는 푸코실화 활성은 푸코실화에 필요한 효소(예를 들어, FUT8 또는 GMD)의 발현 또는 활성을 조작함으로써 달성될 수 있다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체, 특히 Fuc- 세톡시담의 생성을 위해 사용될 수 있는 바람직한 인간 세포주뿐만 아니라 적합한 생성 절차는 참조로서 본원에 포함되는 WO 2008/028686 A2호에 기재되어 있다. 특정 구체예에서, 저 푸코스 항-EGFR 항체는 DSMZ에 기탁된 인간 세포주 GT-5s로부터 유래된 감소된 푸코실화 활성을 갖는 세포주에서의 발현에 의해 획득된다 - [Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig (DE) by the Glycotope GmbH, Robert-Rossle-Str. 10, 13125 Berlin (DE) on July 28, 2010 under the accession number DSM ACC 3078].

[0112] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 푸코실화의 수준은, 예를 들어, 푸코시다제를 이용한 시험관내 처리 또는 비-푸코실화된 항체의 선택적 풍부화에 의해, 세포주에 의한 이들의 생성 후에 감소될 수 있다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 푸코실화의 수준은 세포주에 의한 이들의 생성 후에 감소되지 않거나 현저하게 감소되지 않는다. 특히, 한 구체예에 따르면, 항-EGFR 항체는 푸코스의 감소를 달성하기 위해 시험관내에서 효소적으로 처리되지 않는다. 특정 구체예에서, 항-EGFR 항체의 당화 패턴은 숙주 세포에서의 생성 후에 당화 패턴에 영향을 주는 시험관내 공정에 의해 변경되지 않는다.

[0113] 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 양분성 N-아세틸글루코사민(bisGlcNAc)을 포함한다. 이는 적어도 2%, 바람직하게는 적어도 5% 또는 적어도 8%, 더욱 바람직하게는 적어도 10%. 가장 바람직하게는 적어도

13%의 CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬 내에 bisGlcNAc의 양을 포함할 수 있다. bisGlcNAc의 양은 바람직하게는 5% 내지 50%, 바람직하게는 7% 내지 40%, 더욱 바람직하게는 8% 내지 35%, 가장 바람직하게는 10% 내지 30%의 범위이다. 코어 푸코스의 양을 감소시키고, 동시에 Fc 글리칸에서 bisGlcNAc의 양을 증가시키는 것이 중앙 용해에서의 강한 증가, 강력한 항-전이 효능을 나타내고, 또한 현저하게 감소된 부작용 프로파일을 나타내는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 제공하는 것으로 밝혀졌다.

- [0114] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65% 또는 적어도 70%의 CH2 도메인에 부착된 갈락토실화된 탄수화물 사슬의 양을 포함한다. 갈락토실화된 탄수화물 사슬의 양은 바람직하게는 50% 내지 99%, 더욱 바람직하게는 60% 내지 97%, 가장 바람직하게는 65% 내지 95%의 범위이다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%, 적어도 20% 또는 적어도 25%의 CH2 도메인에 부착된 2개의 갈락토스 단위를 지니는 탄수화물 사슬의 양을 포함한다. CH2 도메인에 2개의 갈락토스 단위를 지니는 탄수화물 사슬의 양은 바람직하게는 10% 내지 70%, 더욱 바람직하게는 15% 내지 60%, 가장 바람직하게는 20% 내지 50%의 범위이다. 더욱이, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 1.5%, 적어도 2% 또는 적어도 2.5%의 CH2 도메인에 부착된 시알릴화된 탄수화물 사슬의 양을 포함한다. 특히, CH2 도메인에 부착된 탄수화물 사슬의 적어도 0.5%, 바람직하게는 적어도 1%는 2개의 시알산 단위를 지닌다. CH2 도메인에 적어도 하나의 시알산을 지니는 탄수화물 사슬의 양은 1% 내지 18%, 더욱 바람직하게는 2% 내지 14%의 범위이고/거나 CH2 도메인에 2개의 시알산을 지니는 탄수화물 사슬의 양은 바람직하게는 0.5% 내지 6%, 더욱 바람직하게는 1% 내지 5%의 범위이다.
- [0115] 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 저 푸코스 항-EGFR 항체는 CH2 도메인에 하기 당화 특징 중 하나 이상, 또는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개 또는 바람직하게는 모든 특징을 갖는다:
- [0116] (i) 30% 이하, 바람직하게는 25% 이하, 특히 1% 내지 20% 범위의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0117] (ii) 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 10%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0118] (iii) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0119] (iv) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0120] (v) 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0121] (vi) 임의로, 적어도 0.5%, 바람직하게는 적어도 1%의 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.
- [0122] 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이의 Fab 단편, 특히 중쇄 가변 영역 VH에 추가의 당화 부위를 포함한다. 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 동일한 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄 및 동일한 아미노산 서열을 갖는 2개의 경쇄를 포함한다. 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 특정 구체예에서 이의 2개의 VH 도메인에 각각 하나씩 2개의 추가적인 당화 부위를 포함한다. Fab 단편에 부착된 탄수화물 사슬은 바람직하게는 낮은 양의 푸코스 및 높은 양의 시알산, 갈락토스 및 양분성 GlcNAc을 포함한다. VH 도메인에 부착된 탄수화물 사슬에서 푸코스의 양은 바람직하게는 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하 또는 심지어 25% 이하, 더욱 바람직하게는 22% 이하, 가장 바람직하게는 20% 이하이다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 VH 도메인에 부착된 탄수화물 사슬에 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 35% 또는 적어도 40%, 더욱 바람직하게는 적어도 45%, 가장 바람직하게는 적어도 50%의 bisGlcNAc의 양을 포함할 수 있다. VH 도메인에서 bisGlcNAc의 양은 바람직하게는 30% 내지 95%, 바람직하게는 35% 내지 90%, 더욱 바람직하게는 40% 내지 85% 및 가장 바람직하게는 45% 내지 80%의 범위이다. 또한, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 적어도 75%, 바람직하게는 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 97%의 VH 도메인에 부착된 갈락토실화된 탄수화물 사슬의 양을 포함한다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 적어도 60%, 바람직하게는 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85% 또는 적어도 90%의 VH 도메인에 부착된 적어도 2개의 갈락토스 단위를 지니는 탄수화물 사슬의 양을 포함한다. VH 도메인에 적어도 2개의 갈락토스 단위를 지니는 탄수화물 사슬의 양은 바람직하게는 70% 내지 99%, 더욱 바람직하게는 75% 내지 98%, 가장 바람직하게는 80% 내지 97%의 범위이다. 또한, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75% 또는 적어도 80%의 VH 도메인에 부착된 시알릴화된 탄수화물 사슬의 양을 포함한다. 특히, VH 도메인에 부착된 탄수화물 사슬의 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 40%, 적어도 45% 또는 적어도 50%는 적어도 2개의 시알산 단위를 지닌다.
- [0123] 따라서, 특정 구체예에서 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 중쇄 가변 영역에 당화 부위를 포함하

고 VH 도메인에 하기 당화 특징 중 하나 이상, 2개 이상 또는 바람직하게는 모든 특징을 갖는다:

- [0124] (i) 40% 이하, 바람직하게는 35% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0125] (ii) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 40%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0126] (iii) 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0127] (iv) 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0128] (v) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0129] (vi) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 45%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.

[0130] 특히, VH 도메인의 이러한 당화 특징은 상기 기재된 CH2 도메인의 당화 특징과 함께 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 존재한다.

[0131] 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 CH2 도메인에 당화 부위 및 VH 도메인에 당화 부위를 포함하고 전체 항체에 대해 하기 당화 특징 중 하나 이상, 또는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개 또는 바람직하게는 모든 특징을 갖는다:

- [0132] (i) 30% 이하, 바람직하게는 25% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0133] (ii) 적어도 20%, 바람직하게는 적어도 25%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0134] (iii) 적어도 60%, 바람직하게는 적어도 70%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0135] (iv) 적어도 30%, 바람직하게는 적어도 35%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0136] (v) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0137] (vi) 적어도 4%, 바람직하게는 적어도 6%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.

[0138] 이러한 구체예에서, 항체의 Fc 부분에 부착된 글리칸 및 Fab 부분에 부착된 글리칸이 당화 특징을 결정하기 위해 고려된다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이의 당화 패턴에 검출할 수 있는 양의 NeuGc 및/또는 Gal α 1,3-Gal을 포함하지 않는다.

[0139] 상기 기재된 bisGlcNAc, 갈락토스 및 시알산을 포함하는 당화는 인간 당화 패턴에 대해 특징적이고 상기 기재된 대로 인간 세포주에서 항-EGFR 항체를 발현시킬 때에 의해 획득될 수 있다. 바람직하게는 본원에 언급된 시알산은 바람직하게는 α 2,6-, α 2,3- 또는 α 2,8-결합을 통해 갈락토스에 커플링된 N-아세틸 뉴라민산을 나타낸다. 바람직한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 검출할 수 있는 양의 α 2,6-커플링된 N-아세틸 뉴라민산 (NeuAc)을 포함한다.

[0140] 상기 논의된 대로, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 본원에 기재된 인간 당화 프로파일을 갖는다. 그러한 프로파일은 인간 세포주, 바람직하게는 인간 골수성 백혈병 세포주에서 항-EGFR 항체를 발현시킬 때에 의해 획득될 수 있다 (언급된 상기 설명 및 실시예 1을 참조하라). 인간 당화 프로파일은 바람직하게는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 부착된 탄수화물 사슬의 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%, 적어도 85%, 또는 더욱 바람직하게는 적어도 90%가 복합체 타입 글리칸 구조, 바람직하게는 바이안테너리 복합체 타입 글리칸 구조인 것을 특징으로 한다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 부착된 고 만노스 타입 또는 하이브리드 타입 글리칸 구조를 갖는 탄수화물 사슬의 양은 20% 이하, 바람직하게는 15% 이하 또는 10% 이하, 더욱 바람직하게는 5% 이하, 가장 바람직하게는 약 0%이다.

[0141] 인간 당화 프로파일을 갖는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 특히 검출할 수 있는 양의 N-글리코실 뉴라민산 (NeuGc) 및/또는 Gal α 1,3-Gal 구조를 포함하지 않는다. 개개의 당화 구조는 설치류 세포주와 같은 비-인간 세포주에서 생성된 항체에서 발견된다. Gal α 1,3-Gal 구조를 포함하지 않는 인간 당화 패턴으로 인해, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 면역 반응을 나타내고 특히 Gal α 1,3-Gal 구조에 대해 IgE 항체와 같은 항체를 생성하는 환자의 치료에 이용될 수 있다. 개개의 항체는, 예컨대 환자가 Gal α 1,3-Gal 구조를 갖는 항체를 생성하는 설치류 세포주 또는 다른 세포에서 생성된 항체로 이전에 치료된 적이 있는 경우에, 존재할 수 있다. 그러나, Gal α 1,3-Gal 구조에 대한 IgE 항체는 또한 다른 특징으로 인해 존재할 수 있고 식습관에도 의존적일 수 있다. 특히, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 환자가 설치류 세포에서 생성된 항-EGFR 항체로 치료된 후에 이용될 수 있다. 예를 들어, 통상적인 항-EGFR 항체 Erbitux®는 설치류 세포에서 생성되고 Gal α

1,3-Gal 구조를 지닌다. 따라서, Erbitux®는 상기 구조에 대해 면역 반응을 유도하는 경향이 있다. 이러한 반응은 경증 형태로부터 더 심하고 생명을 위협하는 반응, 예컨대 신부전의 범위일 수 있다. 이들은 또한 치료의 유효성을 감소시킬 수 있거나, 환자에 개개 항체를 함유하는 후속 치료가 제공된 경우 추후 반응을 생성할 수 있다. 설치류 당화 패턴을 지닌 항체로 치료된 환자의 최대 50%는 상기 언급된 대로 특정한 비-인간 당화 구조에 대한 항체를 발생시킨다. 이는, 특히 장기간 치료 동안, 문제가 될 수 있다. 따라서 인간 당화 패턴을 갖는 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 NeuGc 및 Gal α1,3-Gal 구조와 같은 비-인간 당화 구조에 대한 면역 반응, 특히 심각한 면역 반응을 나타내는 환자를 치료할 수 있다. 임상 연구에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 지금까지 상기 항체에 대해 알레르기 반응을 일으키지 않았다. 이는 종래 기술의 항-EGFR 항체에 비해 중요한 이점이다. 예컨대, Erbitux®는 현저한 수의 병증에서 치명적인 아나필락시스 쇼크로 이어질 수 있는 외래 Gal-Gal 구조에 기반한 심각한 알레르기 과민 반응을 나타낸다 (Chung et al, 2008, N. Engl.J.Med). 이러한 이유로, Erbitux®는, 예컨대 기존의 Gal-Gal IgE 항체 때문에, 심지어 그러한 반응을 발생시킬 높은 가능성을 갖는 특정 영역에서 사용되지 않는다. 따라서, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이전 치료에서 상이한 항-EGFR 항체에 대해 알레르기 반응을 발생시킨 인간 환자를 치료하는데 유리하게 이용될 수 있다. 더욱이, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 기존에 Gal-Gal IgE 항체를 지닌 인간 환자를 치료하는데 이용될 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 항-EGFR 항체는 항-히스타민 치료, 예컨대 H1 및/또는 H2 차단제를 이용한 치료와 같은 항-알레르기 치료를 수반할 필요 없이 치료에 이용될 수 있다.

[0142]

감소된 푸코스 항-EGFR 항체 바람직하게는 IgG 항체, 더욱 바람직하게는 IgG1 항체이다. 이는 이의 표적 에피토프에 특이적으로 결합하는 능력 및 Fc γ 수용체, 특히 Fc γ 수용체 IIIa에 결합하는 능력을 갖는다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체-의존성 세포 세포독성(ADCC) 반응을 유도할 수 있다. 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 강한 ADCC를 유도할 수 있다. 고 푸코스 항-EGFR 항체는 본원의 하기에 정의된다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 시험관내 ADCC 검정으로 확인될 수 있는 바와 같이, ADCC를 유도하는데 있어서 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 5배, 적어도 7배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배 또는 적어도 50배 더 효능이 있다. 본원에 제시된 바와 같이, Fuc- 세톡시맵(본 발명에 따름)을 Fuc+ 세톡시맵(종래 기술)과 비교하는 경우 ADCC 항-종양 활성의 10-50배까지의 개선이 관찰되었다. ADCC를 유도하는데 있어서의 더 높은 효능은 바람직하게는 고 푸코스 항-EGFR 항체와 비교하여 동일 수준의 ADCC (예를 들어, 용해된 표적 세포의 비), 바람직하게는 고 푸코스 항-EGFR 항체의 최대 용해의 95%에서의 동일한 특이적 용해를 유도하기 위해 X배 더 낮은 농도의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 필요하다는 것을 나타낸다. 예를 들어, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 5배 더 낮은 농도에서 동일 수준의 ADCC를 유도하는 경우, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 ADCC를 유도하는데 있어서 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 5배 더 효능이 있다. 실험 데이터에 의해 제시된 바와 같이, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하는 경우 동일한 ADCC 반응에 대해 상응하는 고 푸코스 항-EGFR 항체에 비해 10 내지 50배 낮은 항체 농도가 필요하였다. 특정 구체예에서, ADCC를 유도하는데 있어서의 X배 더 높은 효능은 상이한 Fc γ RIIIa 동종이형 각각에 대해 유도된 ADCC의 평균으로서 결정된다. 그러나, 특정 구체예에서, ADCC를 유도하는데 있어서 X배 더 높은 효능은 특정한 Fc γ RIIIa 동종이형, 예컨대 Fc γ RIIIa-158F/F 동종이형, Fc γ RIIIa-158V/V 동종이형 또는 Fc γ RIIIa-158F/V 동종이형을 갖는 공여체의 효과기 세포로 유도된 ADCC를 나타낸다. 실험 데이터에 의해 제시된 바와 같이, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항체는 상응하는 고 푸코스 항-EGFR 항체에 비해 일반적으로 더 높은 ADCC를 나타낸다. 고 푸코스 항체가 가장 적은 활성을 나타내는 동종이형인 Fc γ RIIIa-158F/F 및 F/V 동종이형에 대한 ADCC 활성에서의 증가는 상기 기재된 것보다 심지어 더욱 현저할 수 있다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 Fc γ RIIIa-158F/F 동종이형 또는 Fc γ RIIIa-158F/V 동종이형을 갖는 환자에서 또는 Fc γ RIIIa-158F/F 동종이형 또는 Fc γ RIIIa-158F/V 동종이형을 갖는 공여체로부터의 효과기 세포를 이용하여 ADCC 활성을 결정하기 위한 시험관내 검정에서 ADCC를 유도하는데 있어서 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 70배, 적어도 100배, 적어도 150배 또는 적어도 200배 더 효능이 있다. 고 푸코스 항-EGFR 항체가 단지 불충분하게 ADCC를 유도하는 덜 유리한 동종이형 (Fc γ RIIIa-158F/F 또는 Fc γ RIIIa-158F/V 동종이형)에 대한 이러한 강력한 증가로 인해, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 각각의 환자 그룹에서 유사한 수준의 ADCC를 유도한다. 따라서, 항-EGFR 항체는 모든 ADCC 수용체 동종이형에서 ADCC를 효과적으로 매개할 수 있다. 더 높은 ADCC 활성은 또한 당 분야에 공지된 Erbitux®과 같은 고 푸코스 항-EGFR 항체로 치료될 수 없는 KRAS 돌연변이 종양의 효과적인 치료를 책임질 것으로 여겨진다.

[0143]

감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 중쇄 가변 영역(VH) 및 CH2 도메인, 더욱 바람직하게는 도메인 VH, CH1, CH2 및 CH3를 포함한다. 또한, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 경쇄 가변 영역(VL), 바람직하게는 도메인 VL 및 VH를 포함한다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄를 포함할 수 있다. 이는 바람

직하게는 제조합 모노클로날 항체, 예를 들어, 인간, 인간화 또는 키메라 항체이고, 특정 구체예에서 키메라 항체이다.

[0144] 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 ADCC를 매개하고, 바람직한 구체예에 따르면 EGFR의 세포의 부분, 특히 EGFR의 도메인 III에 특이적으로 결합할 수 있다. 특정 구체예에 따르면, 다음과 같은 활성 중 적어도 하나, 바람직하게는 적어도 2개, 더욱 바람직하게는 모두를 갖는다: (i) 이는 EGFR에 대한 리간드 결합을 차단할 수 있고/있거나, (ii) 이는 EGFR의 이합체화를 차단할 수 있고/있거나, (iii) 이는 EGFR의 활성화, 특히 EGFR의 키나제 활성을 차단할 수 있고/있거나, (iv) 이는 특히 세포로의 EGFR의 내재화를 유도함으로써 세포 표면에서 EGFR의 양을 감소시킬 수 있다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상기 언급된 특징 모두를 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체 세특시맵과 상호특이성을 나타내고, 특히 항체 세특시맵과 동일한 에피토프에 결합한다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 세특시맵과 동등하나, 본원에 기재된 개선된 당화로 인해 증가된 ADCC 매개 항-종양 특성 및 개선된 부작용 프로파일을 나타낸다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 세특시맵과 동일한 중쇄 및 바람직하게는 또한 동일한 경쇄 CDR 서열을 포함한다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 중쇄 및 바람직하게는 또한 경쇄의 전체 아미노산 서열은 세특시맵의 상응하는 아미노산 서열과 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일하거나 적어도 97% 동일할 수 있다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 아미노산 서열은 세특시맵의 상응하는 아미노산 서열로부터 유래된다.

[0145] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상보성 결정 영역(CDR) CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR-H1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-H2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-H3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 중쇄 가변 영역은 상기 CDR 서열 3개 모두를 포함하고, 특히 SEQ ID NO:7 또는 9의 아미노산 서열을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상보성 결정 영역(CDR) CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR-L1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-L2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고/갖거나, CDR-L3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 경쇄 가변 영역은 상기 CDR 서열의 3개 모두를 포함하고, 특히 SEQ ID NO:8 또는 10의 아미노산 서열을 포함한다. 또한, 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 SEQ ID NO:7 또는 9의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및/또는 SEQ ID NO:8 또는 10의 아미노산 서열과 적어도 85% 동일하거나, 적어도 90% 동일하거나, 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 상기 기재된 바와 같이, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 세특시맵과 동등하다.

[0146] 특정한 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 SEQ ID NO:7 또는 9의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:7 또는 9와 적어도 80%, 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 바람직하게는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 추가로 SEQ ID NO:8 또는 10의 아미노산 서열, 또는 SEQ ID NO:8 또는 10과 적어도 80%, 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%, 더욱 바람직하게는 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 CDR1은 SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖고, CDR2는 SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖고, CDR3는 SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는다.

[0147] 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 ADCC를 매개하고, EGFR에 특이적으로 결합하여, EGFR의 이합체화, 특히 EGFR와 표피 성장 인자 수용체 패밀리의 다른 구성원, 예를 들어, HER2, HER3 및 HER4의 이중이합체화를 차단할 수 있다. 추가의 특징은 상기에 기재되었다.

[0148] 한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 추가 작용제, 예를 들어, 치료 활성 물질에 컨쥬게이션된 항체를 포함하는 컨쥬게이트로서 제공된다. 추가 작용제는 바람직하게는 암의 치료 및/또는 모니터링에 유용하다. 예를 들어, 추가 작용제는 방사성핵종, 화학요법제, 항체, 특히 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 중 및/또는 상이한 특이성의 항체, 효소, 상호작용 도메인, 검출가능한 표지, 독소, 세포용해 성분, 면역조절물질, 면역이펙터(immunoeffector), MHC 클래스 I 또는 클래스 II 항원, 방사성동위원소 및 리포솜으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 포함되는 경우, 추가 작용제는 특히 융합 또는 화학적 커플링에 의해 공유적으로 항체에 부착될 수 있거나, 비공유적으로 항체에 부착될 수 있다. 특정한 바람직한 추가 작용제는 방사성핵종 또는 암세포를 사멸시킬 수 있는 세포독성제, 예를 들어, 화학요법제, 특히 본원의 다른 곳에 기재된 것들이다. 추가 작용

제로서 컨쥬게이션될 수 있는 화학요법제의 특정 예는 알칼로이드, 예를 들어, 시스플라틴, 항대사물질, 식물 알칼로이드 및 테르페노이드, 빈카 알칼로이드(vinca alkaloids), 포도필로톡신(podophyllotoxin), 탁산, 예를 들어, 탁솔, 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan) 및 토폠테칸(topotecan), 또는 항신생물제, 예를 들어, 독소루비신(doxorubicin)을 포함한다. 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 본원에 기재된 화학요법제 및/또는 항체 중 임의의 것에 컨쥬게이션될 수 있다. 실시예에서 또한 이용된 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 추가 작용제에 컨쥬게이션되지 않는다.

[0149]

치료되는 EGFR 양성 신생물 질환 및 환자

[0150]

감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 단일한 치료제로서 사용될 때조차 본원에서 구체적으로 정의된 환자 그룹에서 예상치 못한 높은 치료적 효능을 나타낸다. 자세한 내용은 하기에 기재된다. 상이한 암 환자의 효과적인 치료는 결장암 (KRAS 돌연변이체 및 야생형), 폐암, 위암, 식도암, 신장 세포암, 담낭암, 난소암, 음경암 및 직장암을 갖는 환자를 포함하는 임상 연구에서 입증되었다. 특히, 두드러진 효과는 투명 세포 및 비-투명 세포 신세포 암종을 포함하는 상이한 신세포 암종의 치료에서 나타났다.

[0151]

감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해 치료되는 EGFR 양성 신생물 질환은 바람직하게는 상기에 상세하게 정의되고 설명된 EGFR 양성 암이고 이는 상기 설명을 참조한다. 기재된 바와 같이, 상이한 형태의 EGFR 양성 암 뿐만 아니라 전이는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료될 수 있다. EGFR 양성 암은 특히 악성 상피성 종양, 결장암, 결장직장암, 직장암, 신장암, 난소암, 위암, 식도암, 폐암, 담낭암, 음경암, 두경부암, 난소암, 유방암 및 자궁암으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 치료될 수 있는 EGFR 양성 암의 특정한 예는 결장직장 암종, 결장 암종, 직장 암종, 비-소세포 폐 암종, 편평 세포 폐암, 신세포 암종, 삼중 음성 유방암, 두경부의 편평 세포 암종, 식도 샘암종, 위 샘암종, 위식도 접합부 샘암종, 자궁내막 암종 또는 육종 및 자궁경부 암종, 예를 들어 이의 전이성 형태이다. 추가의 EGFR 양성 암은 신세포 암종, 예컨대 투명 세포 신세포 암종, 유두 신세포 암종 (호염기 및 호산구), 혈액소성 신세포 암종, 벨리니관 암종/집합관 암종, 및 신장의 다형태 (육종모양) 암종; 비소세포 폐암, 예컨대 편평 비소세포 폐암 (sNSCLC), 및 비 편평 비소세포 폐암 (nsNSCLC), 특히 샘암종 및 대세포 암종; 소세포 폐암 (SCLC); 두경부의 상피성 종양, 예컨대 두경부의 편평 세포암 (SCCHN), 특히 비-분화된, 분화된, 아데노이드-편평 및 사마귀모양 SCCHN; 및 위암, 예컨대 샘암종, 특히 관 샘암종, 유두 샘암종 및 점액 샘암종, 반지 세포 암종, 아데노이드-편평 암종, 편평 암종, 속질 위 암종, 소세포 위 암종, 및 비-분화된 위 암종을 포함한다. 위암은 날문방, 체 또는 기저에 위치할 수 있거나 전체 위에서의 미만성 위암일 수 있다. 특정 구체예에서, 암은 전이성 암이다. 실시예에 제시된 바와 같이, 본 발명의 항-EGFR 항체는 특히 전이성 암 및 전이를 치료하는데 적합하다. EGFR 양성 암은 임의의 유형의 전이, 예컨대 피부 전이, 림프절 전이, 폐 전이, 간 전이, 복막 전이, 흉막 전이 및/또는 뇌 전이를 포함할 수 있다. 특정한 구체예에서, EGFR 양성 신생물 질환은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 단독으로 또는 방사선 요법 및/또는 다른 항암 약물과 함께 이용되는, 대장의 전이성 암 또는 두경부의 편평 세포암이다.

[0152]

본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 Erbitux®와 같은 통상적인 항-EGFR 항체로 치료될 수 있는 환자의 치료에 이용될 수 있다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는,

[0153]

- 두경부의 국소 또는 지역적으로 진행된 편평 세포 암종을 갖는 환자를 방사선 요법과 함께;

[0154]

- 두경부의 재발성 국소 질환 또는 전이성 편평 세포 암종을 갖는 환자를 5-FU을 이용한 백금-기반 요법과 함께; 및/또는

[0155]

- 백금-기반 요법 후에 진행된 두경부의 재발성 또는 전이성 편평 세포 암종을 갖는 환자를 치료하는데 이용될 수 있다.

[0156]

더욱이, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는,

[0157]

- 1차 치료를 위한 FOLFIRI (류코보린, 5-FU 및 이리노테칸)과 함께 K-Ras 돌연변이-음성 (야생형), EGFR-발현성, 전이성 결장직장암 (예컨대 FDA-승인된 시험에 의해 결정될 수 있음)을 갖는 환자를 치료하고/거나;

[0158]

- 이리노테칸-기반 화학요법에 불응하는 환자에서 이리노테칸과 함께; 및/또는

[0159]

- 옥살리플라틴- 및 이리노테칸-기반 화학요법에 실패했거나 이리노테칸을 용납하지 않는 환자에서 단일 작용제로서 치료에 이용될 수 있다.

[0160]

더욱이, 본원에 기재된 대로, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 특수한 특징은 신규한 치료 기회를 제공하고, 이에 따라 통상적인 항-EGFR 항체로 치료될 수 없거나 더 이상 치료될 수 없는 환자의 치료를 가능케 한다

다.

[0161] 바람직하게는, EGFR 양성 신생물 질환은 검출가능한 EGFR 발현, 바람직하게는 면역조직화학 또는 인-시튜 하이브리드화에 의해 검출가능한 EGFR 발현을 갖는다. 이는 특히 면역조직화학 또는 인-시튜 하이브리드화에 의해 검출가능한 EGFR 발현을 갖는 세포를 포함한다. 특히, EGFR 유전자 증폭은, 바람직하게는 형광 인 시튜 하이브리드화 (FISH), 은 인 시튜 하이브리드화 (SISH) 또는 색소유전자 인 시튜 하이브리드화 (CISH)와 같은 인 시튜 하이브리드화에 의해 검출될 수 있다. 자세한 내용은 또한 상기에 기재되었다. 특정 구체예에 따르면, 환자의 EGFR 상태는 치료 전에 결정된다.

[0162] 특정 구체예에서, EGFR 양성 신생물 질환은 EGFR에 돌연변이를 갖는 세포를 포함한다. 그러한 EGFR 돌연변이는 바람직하게는, 예를 들어 PCR 분석, 하이브리드화 분석 또는 제한 분석을 이용한 서열 분석에 의해 검출될 수 있다. 특정 구체예에 따르면, 환자의 EGFR이 돌연변이를 지니는 지가 치료 전에 결정된다.

[0163] 특정 구체예에서, EGFR 양성 신생물 질환은 KRAS 돌연변이, 특히 항시적으로 활성인 K-Ras 단백질을 발생시키는 돌연변이를 지니는 세포를 포함한다. 개개의 K-Ras 돌연변이체의 예는 아미노산 번호 12에 돌연변이를 갖는 K-Ras, 예컨대 K-Ras G12V, K-Ras G12D, K-Ras G12C, K-Ras G12S, K-Ras G12A 및 K-Ras G12R; 아미노산 번호 13에 돌연변이를 갖는 K-Ras, 예컨대 K-Ras G13D 및 K-Ras G13R; 및 아미노산 번호 61에 돌연변이를 갖는 K-Ras, 예컨대 K-Ras Q61H, K-Ras Q61K, 및 K-Ras Q61L이다. 임상 연구 및 시험관내 실험에서 입증된 대로, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 KRAS 돌연변이 종양 및 암 세포에 강력한 활성 및 우수한 치료 결과를 나타낸다. 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 또한 KRAS 야생형 암에 효과적이므로, 이는 KRAS wt의 치료 뿐만 아니라 KRAS 돌연변이 암의 치료에도 이용될 수 있다. 따라서, 추가의 구체예에서, EGFR 양성 신생물 질환은 KRAS 야생형이고, 즉 이는 KRAS 돌연변이를 갖는 세포를 포함하지 않는다. 특정 구체예에서, 본 발명의 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 것이고, 치료되는 항체는 알려지지 않은 KRAS 돌연변이 상태를 갖고/거나 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 KRAS 돌연변이 상태와 무관하게 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 것이다.

[0164] 특정 구체예에서, 치료되는 환자는 EGFR 양성 신장암을 앓고 있다. 특정 구체예에서, 치료되는 환자는 전이성 신장암을 앓고 있다. 신장암은 신세포 암종 및 요로상피 세포 암종을 포함한다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 신세포 암종을 치료하기 위한 것이다. 신세포 암종은 투명 세포 신세포 암종, 호염기 및 호산구 유두 신세포 암종을 포함하는 유두 신세포 암종, 혈색소성 신세포 암종, 집합관 암종 또는 벨리니관 암종, 다형태 및/또는 육종모양 암종 또는 투명 세포 유두 신세포 암종일 수 있다. 그러한 EGFR 양성 신장암의 특수한 예는 투명 세포 신세포 암종 및 비-투명 세포 신세포 암종, 예컨대 유두 신세포 암종이다. 신장암 환자는 일반적으로 매우 불량한 예후를 갖는데, 그 이유는 일반적으로 신장암이 화학요법 및 방사선요법에 반응하지 않기 때문이다. 이러한 반응 부족으로 인해, 신장암, 특히 신세포 암종은 모든 비노생식기 종양 중 가장 치명적인 것으로 알려져 있다. 전이성 신세포 암종은, 이들 질환의 진행 동안 환자의 약 70%에서 전이가 발생하고, 전이성 신세포 암종을 갖는 환자의 5년 생존률이 5 내지 15%이므로, 종양학자에게 특별한 도전을 제공한다. 또한, 원발성 종양 및 가시적인 전이의 수술적 절제 후에 신세포 암종에 대한 확립된 애주번트 요법이 현재 존재하지 않는다. 비-특이적 사이토카인의 이용은 지금까지 효과가 없는 것으로 밝혀졌다. 대부분의 다른 암과 달리, 신세포 암종은 대부분의 세포독성제 및 세포증식 억제제에 내성이며, 이는 가능한 효과적인 애주번트 요법을 엄격하게 제한한다. 암 백신, 방사선요법, 화학요법, 면역요법, 또는 생물학적 요법의 시도는 거의 성공하지 못했고, 현재 완전히 절제된 고-위험 신세포 암종에 대한 표준 치료는 어떠한 다른 치료 없이 긴밀한 관찰이다. 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상이한 형태의 신세포 암종, 특히 투명 세포 신세포 암종 및 비-투명 세포 암종에 대해 강력한 치료 효능을 나타낸다. 이는, 고-푸코스 세톡시맵을 이용한 이전의 임상 연구가 실망스러웠고 신세포 암종 환자에서 치료 효능을 나타내지 않았으므로, 놀랄 만한 것이다 (예컨대, 문헌 [Motzer et al. (2003) Investigational New Drugs 21, 99-101]을 참조하라). 따라서, 본 발명은 본 발명에 따른 저 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하여, 투명 세포 뿐만 아니라 비-투명 세포 신세포 암종을 포함하는 신세포 암종을 치료할 새로운 가능성을 제공한다. 이러한 치료 옵션은, 예컨대 돌연변이된 KRAS 또는 알려지지 않은 KRAS 상태, 불리한 FcgammaIIIa 수용체 동종이형 (158F/F 또는 158V/F), 다른 항-EGFR 항체에 대해 발생한 알레르기 반응 및/또는 다른 항-EGFR 항체를 이용한 치료 동안 발생한 피부 부작용, 특히 3등급 이상의 피부 부작용을 지니서 다른 항-EGFR 항체로 치료될 수 없거나 치료를 지속할 수 없는 환자에 특히 중요하다.

[0165] EGFR 양성 신생물 질환은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료 전에 하나 이상의 항암제, 예컨대 화학요법제 및/또는 치료적 항체, 특히 하나 이상의 본원에 기재된 화학요법제 및/또는 본원에 기재된 하나 이상의 종래 기술의 항-EGFR 항체에 내성일 수 있거나 이들을 이용한 치료 후에 진행될 수 있다.

예를 들어, EGFR 양성 신생물 질환은 본원에 기재된 적어도 하나의 고 푸코스 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맵 (Erbixux®) 및/또는 치료되는 환자의 10% 초과, 특히 15% 초과 또는 20% 초과에서 3등급 이상의 심각한 피부 부작용을 야기하는 하나 이상의 항-EGFR 항체에 내성일 수 있거나 이들을 이용한 치료 후에 진행될 수 있다. 도입부에 기재한 대로, 또한 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 비푸코스항체화된 항체, 예컨대 GA201 이 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킬 수 있다. 더욱이, EGFR 양성 암은 방사선요법에 내성이거나 방사선요법 후에 진행될 수 있다.

[0166] 치료되는 환자는 암과 같은 EGFR 양성 신생물 질환으로 고통받는 임의의 인간 환자일 수 있다. 특수한 구체예에서, 환자는 크게 사전 치료된 암 환자, 특히 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료 전에, 하나 이상, 바람직하게는 2개 이상, 또는 3개 이상의 암 요법을 받은 환자이다. 치료될 환자의 특징을 나타내는 개개의 선행 치료는 또한 하기에 기재된다; 이는 하기 설명에 언급되어 있다.

[0167] 실험 데이터에 의해 입증된 바와 같이, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 공여체의 Fc γ 수용체 IIIa 동종이형과 무관하게, 말초혈 단핵 세포 (PBMC)를 이용하여 ADCC를 효과적으로 유도한다. 다른 환자에 비해 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합 (Fc γ RIIIa-158V/V)인 환자에서 훨씬 높은 ADCC 활성을 갖는 고 푸코스 항-EGFR 항체와 대조적으로, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 ADCC를 유도하는 효능은 모든 Fc γ 수용체 IIIa 동종이형에 대해 유사하다. 따라서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료되는 환자는 임의의 Fc γ 수용체 IIIa 동종이형을 지닐 수 있고 특히 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합 (Fc γ RIIIa-158V/V), Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합 (Fc γ RIIIa-158F/F) 또는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린과 페닐알라닌에 대해 이형접합 (Fc γ RIIIa-158V/F)일 수 있다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이들의 Fc γ RIIIa 동종이형과 무관하게 환자를 치료하기 위한 것이다.

[0168] 임상 연구는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 환자에게 잘 용인되고 단지 약간의 부작용만을 발생 시킴을 나타내었다. 특히, 부작용의 빈도 및 중증도는 일반적인 Erbixux® 요법에 비해 현저하게 낮아지고 가벼워졌다. 특히, 피부 부작용은 일반적인 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체를 이용한 요법과 관련된 일반적인 문제이다. 예를 들어, 세톡시맵 (Erbixux®) 요법을 받는 4명의 환자 중 3명 이상은 여드름모양 발진으로 고통 받았고, 최대 17%는 심각한 형태를 지녔다 (3등급 이상). 발진은 또한 일단 발생하면, Erbixux® 치료가 종결되거나 투여량이 감소한 후까지 해결되지 않았다. 유사한 상황이 당 분야에 기재된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 포함하는, 다른 EGFR 억제제에 대해서도 발견된다. 당 분야에서, 피부 발진은 심지어 EGFR 억제제의 치료 효능에 대한 지시인자로 고려되었다. 이와 대조적으로, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 훨씬 덜 빈번하게 그리고 단지 가벼운 정도의 피부 부작용을 발생시키는 한편, 그럼에도 불구하고 강력한 치료 효능을 나타낸다. 지금까지, 임상 연구에서 3등급 이상의 피부 부작용은 관찰되지 않았다. 따라서, 본 발명의 항-EGFR 항체는 높은 치료 효능은 강력한 피부 반응을 동반해야 한다는 논리를 반박한다.

[0169] 고 푸코스 항-EGFR 항체, 특히 세톡시맵 (Erbixux®)과 관련된 빈번한 이상 반응의 또 다른 예는 저마그네슘혈증이다. 임상 단일요법 시험에서 Erbixux®로 치료된 거의 모든 환자는 혈청 마그네슘 수준의 점진적인 저하를 경험하였다. 50%를 초과하는 환자에서 저마그네슘혈증이 발생하였다. 그러나, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 임상 연구에서, 환자의 6% 미만은 수 주의 치료 후에도 감소된 혈중 마그네슘 수준을 지녔다.

[0170] 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 인간 환자를 치료하는데 특히 유용하고, 환자는 EGFR 억제제에 대한 부작용으로 고통받거나 고통받을 위험이 있거나, 부작용은 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체를 이용한 이전 치료에서 발생하였다. 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 특히 통상적인 EGFR 억제제에 의해 야기되는 예상되거나 이미 발생한 부작용으로 인해, 통상적인 EGFR 억제제, 특히 고 푸코스 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맵 (Erbixux®)으로 치료될 수 없거나 더 이상 치료될 수 없는 환자를 치료하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 환자는 통상적인 EGFR 억제제에 대해 부작용이 발생할 위험이 있을 수 있거나, 이전 치료의 관점에서 그러한 부작용을 발생시키는 것으로 알려져 있을 수 있거나, 항-EGFR 항체와 같은 통상적인 EGFR 억제제를 이용한 진행 중인 또는 최근에 종결된 치료로 인해 현재 그러한 부작용으로 고통받고 있을 수 있다. 부작용은 특히 이들이 통상적인 EGFR 억제제를 이용한 요법의 이익을 능가할 정도로 심각하다. 따라서, 본 발명의 항-EGFR 항체는, 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체와 같은 EGFR 억제제를 이용한 치료가 상기 부작용으로 인해 수행되거나 지속될 수 없는 치료 환경에 이용될 수 있다. 그러한 환경에서, 본 발명은 가치있는 새로운 치료 옵션을 제공한다. 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 억제제를 이용한 치료가 상기 EGFR 억제제에 대한 부작용으로 인해 종결되거나 중단된 후에 인간

환자를 치료하기 위한 것이다. 특히, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상기 EGFR 억제제를 이용한 이전 치료에서 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체에 대한 부작용, 특히 3등급 이상의 피부 부작용 및/또는 알레르기 반응으로 고통받는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 일반적인 건강 상태가 불량하고 특히 EGFR 억제제에 대해 3등급 이상의 피부 반응과 같은 부작용을 용인할 수 없는 EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.

[0171] 본원에서 언급된 부작용은 특히 미국 국립 보건원의 암 요법 평가 프로그램 버전 3.0의 부작용에 대한 일반적인 용어 기준에 따라 결정, 분류 및 등급화된다. 부작용 (불리한 사건으로도 불림)의 등급은 1등급: 경증 부작용, 2등급: 중간 부작용, 3등급: 심각한 부작용, 4등급: 생명을 위협하거나 장애를 입히는 부작용, 및 5등급: 사망 관련 부작용으로 그 중증도를 나타낸다.

[0172] 특정 구체예에서, 이전 치료에 사용된 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체에 대한 부작용은 피부 반응, 예컨대 발진, 대사 반응, 예컨대 낮은 혈청 마그네슘 수준 및/또는 낮은 혈청 칼륨 수준, 및 위장 반응, 예컨대 설사, 구역, 구토 및/또는 변비로 구성된 군으로부터 선택된다. 특히, 이전에 사용된 EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체에 대한 부작용은, 특히 발진 또는 표피탈락, 예컨대 여드름모양 발진, 다형 홍반 및 수족 피부 반응; 가려움증; 소양증; 손톱 변화; 및/또는 궤양을 포함하는 피부 부작용이다. 특정 구체예에서, 이전 사용된 EGFR 억제제에 의해 발생한 피부 부작용은 3 또는 4 등급의 심각한 피부 부작용이다. 특정 구체예에서, 이전 사용된 EGFR 억제제에 의해 발생한 피부 부작용은 피부 발진 또는 여드름모양 피부 발진, 특히 3등급 또는 4등급의 심각한 피부 발진 또는 심각한 여드름모양 피부 발진을 포함한다. 3등급의 피부 발진은 신체 피부 면적의 적어도 50%를 덮는 심각한, 전신성 홍피증 및/또는 황반, 구진 또는 소포성 발진; 및/또는 표피탈락을 포함한다. 4등급의 피부 발진은 특히 전신성 박탈성, 궤양성, 및/또는 수포성 피부염을 포함한다. 적어도 3등급의 여드름모양 발진은 특히 동통, 기형, 궤양 및/또는 표피탈락과 관련된다. 특정 구체예에서, EGFR 억제제, 특히 항-EGFR 항체를 이용한 이전 치료 동안 발생한 피부 부작용은 감염, 특히 박테리아 또는 바이러스 감염, 예를 들어 피부 또는 혈액의 감염과 관련된다.

[0173] 또한, 이전 사용된 EGFR 억제제에 대한 부작용은 저마그네슘혈증 (낮은 혈청 마그네슘 수준) 및 저칼륨혈증 (낮은 혈청 칼륨 혈청 수준)을 포함하는 대사 부작용일 수 있다. 이전 치료 동안 발생한 대사 부작용은 2등급 이상, 특히 3등급 또는 4등급의 부작용일 수 있다. 2등급의 저마그네슘혈증은 1.2 내지 0.9 mg/dl 또는 0.5 내지 0.4 mmol/l의 혈중 마그네슘 수준을 의미한다. 3등급의 저마그네슘혈증은 0.9 내지 0.7 mg/dl 또는 0.4 내지 0.3 mmol/l의 혈중 마그네슘 수준을 의미한다. 4등급의 저마그네슘혈증은 0.7 mg/dl 미만 또는 0.3 mmol/l 미만의 혈중 마그네슘 수준을 의미한다. 3등급의 저칼륨혈증은 3.0 내지 2.5 mmol/l의 혈중 칼륨 수준을 의미하고 4등급의 저칼륨혈증은 2.5 mmol/l 미만의 혈중 칼륨 수준을 의미한다. 특정 구체예에서, 이전 사용된 항-EGFR 항체에 대한 부작용은 2등급 이상의 저마그네슘혈증을 포함한다.

[0174] 부작용을 발생시킨 이전 치료에 사용된 EGFR 억제제는 특정 구체예에서 항-EGFR 항체, 예컨대 Fuc+ 세특시맵 (Erbix®), 파니투모맵 (Vectibix), GA201 및 티로신 키나제 억제제, 예컨대 게피티닙, 에를로티닙 및 라파티닙으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0175] 본 발명의 추가의 양태에서, EGFR 양성 신생물 질환 및 삼출을 갖는 인간 환자는 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 치료된다. 이에 관해 삼출은 인체에서 불규칙한 제 3-공간 유체 수집, 특히 다른 신체 부위에서 탈출한 유체의 체강 내의 유체 수집을 나타낸다. 흉막 삼출은 흉강 내의 유체 수집이고 복막 삼출 또는 복수는 복강 내의 유체 수집이다. 용어 "복막 삼출" 및 "복수"는 본원에서 동의어로 이용된다. 암 환자는 종종 암이 또한 중피, 즉 상이한 체강을 라이닝하는 막에 영향을 주는 경우 삼출로 고통받는다. 원발성 종양이 중피에 퍼지거나 전이가 중피에 정착되어 유체 순환을 조절하는 이의 기능을 방해한다. 예를 들어, 흉막의 개입은 흉막 삼출을 발생시키는 한편, 복막의 개입은 복막 삼출 또는 복수를 발생시킬 수 있다. 따라서, 본원에서 언급되는 삼출은 특히 악성 삼출, 즉 암에 의해 발생한 삼출, 특히 악성 흉막 삼출 또는 악성 복막 삼출 (악성 복수)이다.

[0176] 본원에 기재된 임상 데이터는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 삼출, 특히 흉막 삼출 또는 복막 삼출을 갖는 암 환자에서 현저한 효능을 나타냄을 입증한다. 임상 연구는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 삼출의 현저한 감소를 발생시켜 수동 천공 및 삼출의 배출이 더 이상 필요하지 않았고 결국 삼출이 더 이상 검출되지 않았음을 나타낸다. 이는 환자가 불편함과 동통 둘 모두와 관련되고 합병증의 위험이 되는 삼출 및 이의 필수적인 빈번한 배출로 인해 큰 고통을 받기 때문에 중요한 발견이다. 따라서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신생물 질환, 특히 암을 앓고 있는 환자에서 삼출, 특히 악성 삼출,

예컨대 악성 흉막 삼출 및 악성 복막 삼출의 치료에 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명에 따른 저 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하여 복막 삼출, 특히 악성 복수를 치료할 새로운 가능성을 제공한다. 이러한 치료 옵션은, 예컨대 돌연변이된 KRAS 또는 알려지지 않은 KRAS 상태, 불리한 FcγIIIa 수용체 동종이형 (158F/F 또는 158V/F), 다른 항-EGFR 항체에 대해 발생한 알레르기 반응 및/또는 다른 항-EGFR 항체를 이용한 치료 동안 발생한 부작용, 특히 3등급 이상의 예컨대 피부 부작용을 지녀서 다른 항-EGFR 항체로 치료될 수 없거나 치료를 지속할 수 없는 환자에 특히 중요하다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신생물 질환, 특히 EGFR 양성 암을 치료하고, 상기 기재된 대로 삼출을 치료하기 위한 것이다.

[0177]

삼출을 갖는 환자의 EGFR 양성 신생물 질환은 바람직하게는 췌장암, 난소암, 위암, 식도암, 결장암, 유방암 및 폐암으로 구성된 군으로부터 선택된다. 한 구체예에 따르면, 암은 전이성 암이다. 복막 삼출은 종종 췌장, 난소, 위, 식도 또는 결장암과 관련되고 흉막 삼출은 종종 유방, 폐, 위 또는 식도암과 관련된다. 그러나, 삼출을 갖는 환자의 EGFR 양성 신생물 질환은 또한 본원에 기재된 임의의 다른 유형의 암, 특히 신장암, 예컨대 본원에 기재된 신세포 암종을 포함하는 전이성 암일 수 있다. 신생물 질환은 특히 중피, 특히 흉막 및/또는 복막에 영향을 준다. 특정 구체예에서, 신생물 질환은 중피, 특히 흉막 및/또는 복막에서의 또는 내의 종양 또는 전이를 포함한다. 특정 구체예에서, 삼출을 갖는 환자는 위 및/또는 식도암, 예컨대 위 암종 또는 식도/위 접합부의 샘암종을 포함한다.

[0178]

감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 단일요법으로서의 치료를 위해 사용될 수 있다. 단일요법으로서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하는 것은 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 유리한 특성으로 인해 단지 작은 부작용만이 예상되면서 치료적 효과가 달성될 수 있는 장점을 갖는다. 이는 치료에도 불구하고 질병이 진행된, 이전에 치료된 환자 및/또는 전이성 암을 앓고 있는 환자와 같이 진행된 상태의 환자를 치료할 때 유리한데, 그 이유는 이러한 환자 그룹이 종종 불충분한 건강 상태에 있어서, 추가의 적극적인 치료에서 제외되기 때문이다. 그러나, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 또한 조합요법으로 사용될 수 있으며, 여기서 암은 환자에 대한 치료 이익을 추가로 개선시키기 위해 하나 이상의 항암 치료제, 예를 들어, 화학요법제 또는 추가의 항암 항체로 추가로 치료된다. 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적은 투여량, 특히 통상적인 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 적은 투여량에서 효과적임에 따라, 상기 조합요법은 다시 신규하고 유용한 치료 옵션을 제공한다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 하나 이상의 항암제, 예를 들어, 화학요법제 및/또는 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 하나 이상의 추가 항체와 조합하여 사용된다. 여기서, 또한 고 푸코스 항-EGFR 항체, 특히 세특시맵에 대해 확립된 조합요법, 예컨대 이리노테칸과의 조합 치료가 사용될 수 있다. 상기 치료는 또한 방사선요법 및/또는 수술과 조합될 수 있다.

[0179]

감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 조합하여 사용될 수 있는 항암제는 임의의 화학요법제, 특히 EGFR 양성 암의 치료에 효과적인 것으로 공지된 화학요법제로부터 선택될 수 있다. 화학요법제의 유형은 또한 치료되는 EGFR 양성 암에 의존적이다. 특히, 세특시맵(Erbitux®)에 대해 사용되는 항암제와의 조합물이 바람직하다. 조합 파트너는 탁산, 예를 들어, 파클리탁셀(Taxol), 도세탁셀(Taxotere) 및 SB-T-1214; 사이클로포스파미드; 라파티닙(lapatinib); 에를로티닙(erlotinib); 이마티닙(imatinib); 파조파닙(pazopanib); 카페시타빈(capecitabine); 시타라빈(cytarabine); 비노렐빈(vinorelbine); 겐시타빈(gemcitabine); 마이탄신(maytansine); 안트라사이클린(anthracyclines), 예를 들어, 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 발루루비신(valrubicin) 및 미톡산트론(mitoxantrone); 아로마타제(aromatase) 억제제, 예를 들어, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스토락톤(testolactone)(Teslac), 아나스트로졸(anastrozole)(Arimidex), 레트로졸(letrozole)(Femara), 엑세메스탄(exemestane)(Aromasin), 보로졸(vorozole)(Rivizor), 포르메스탄(formestane)(Lentaron), 파드로졸(fadrozole)(Afema), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온(ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온(6-OXO); 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan), 토폠테칸(topotecan), 캄프토테신(camptothecin), 라멜라린 D(lamellarin D), 에토포시드(etoposide)(VP-16), 테니포시드(teniposide), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 미톡산트론(mitoxantrone), 암사크린(amsacrine), 엘립티신(ellipticines), 아우린트리카르복실산(aurintricarboxylic acid) 및 HU-331; 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스-디아민디클로로백금(II)(시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이트)백금(II)(카르보플라틴) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II)(옥살리플라틴), 및 항대사물질, 특히, 항폴린산제, 예를 들어, 메토틱렉세이트(methotrexate), 페메트렉세드(pemetrexed), 랄티트렉세드(raltitrexed) 및 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 피리미딘 유사체, 예를 들어, 플루오로우라실(fluoruracil), 겐시타빈(gemcitabine), 플록스우리딘(floxuridine), 5-플루오로우라실 및 테가푸르(tegafur)-우라실, 및 퓨린 유사체, 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 및 에스트로겐 수용체 하향조절제로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 조합요법으로 사용되는

경우, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 백금 기반 화학요법제 또는 국소이성화효소 억제제, 예컨대 이리노테칸과 함께, 특히 폴린산, 플루오로우라실 및 옥살리플라틴 (FOLFOX)과 함께 또는 폴린산, 플루오로우라실 및 이리노테칸 (FOLFIRI)과 함께 사용된다. 이는 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 이의 결합 거동 및 Fv 매개된 항-종양 특성에 있어서 본질적으로 세톡시맵과 일치하는 경우이다. 추가의 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 시스플라틴, 카르보플라틴, 옥살리플라틴, 이리노테칸, 플루오로우라실 (5-FU) 및 카페시타빈으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 화학요법제와 함께 이용된다. 여기서, 기본적으로, 조합요법으로 고 푸코스 항-EGFR 항체, 예를 들어, 세톡시맵을 이용하는 경우 종래 기술에서 사용되는 것과 동일한 조합 스케줄 및 투여 계획이 이용될 수 있다.

[0180] 추가로, 또한 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 대한 조합 파트너로서 치료 항체가 이용될 수 있다. 이는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 암 요법에서 유용한 임의의 항체일 수 있다. 특히, 추가 항체가 미국식품의약국 (U.S. Food and Drug Administration)(FDA), 유럽의약품청(the European Medicines Agency)(EMA, 이전에는 EMEA) 및 독일의약의료협회(the Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte)(BfArM)와 같은 기관에 의해 암 치료에 대해 승인되어 있다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와의 조합 치료에 사용될 수 있는 추가 항체의 예는 항-EGFR 항체, 예를 들어, 파니투모맵(Vectibix) 및 니모투주맵(Theraloc) (감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 세톡시맵과 상호특이성을 나타내고, 바람직하게는 감소된 푸코스 세톡시맵 항체인 경우에 특히 적합함), 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맵(Herceptin) 및 퍼투주맵; 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin); 항-CD52 항체, 예를 들어, 알렘투주맵(Campath); 항-CD30 항체, 예를 들어, 브렌텍시맵(Adcetris); 항-CD33 항체, 예를 들어, 켈투주맵(Mylotarg); 및 항-CD20 항체, 예를 들어, 리툽시맵(Rituxan, Mabthera), 토시투모맵(Bexxar) 및 이브리투모맵(Zevalin)이다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 베바시주맵과 함께 이용된다. 한 구체예에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항체는 Erbitux®, 파니투모맵 또는 GA201과 같이 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는 것으로 공지된 항-EGFR 항체와 함께 이용되지 않는다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 다른 EGFR 억제제와 함께 이용되지 않는다.

[0181] 실시예에 제시된 대로, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 신세포 암종의 치료에 특히 효과적이다. 따라서, 특정 구체예에서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 신세포 암종에 치료적으로 활성인 추가의 작용제를 조합시킬 필요가 없고 특정 구체예에서 신세포 암종에 치료적으로 활성인 추가의 작용제와 조합되지 않는다.

[0182] 본원에 제공된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 EGFR 양성 원발성 종양, EGFR 양성 재발성 종양 및/또는 그러한 종양의 EGFR 양성 전이를 치료하기 위한 것이고, 특히 수술 전, 수술 동안 또는 수술 후의 치료에 유용하고, 전이의 예방 또는 치료를 위한 것이다. 본 발명에 의해 입증되는 바와 같이, 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 또한 특히 삼출, 특히 흉막 및 복막 삼출의 예방을 포함하는 치료에 유용하다.

[0183] 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 특히 애쥬번트 요법으로서 환자의 치료를 위한 것이다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 네오애쥬번트 요법 또는 조합된 네오애쥬번트-애쥬번트 요법으로서 환자의 치료를 위한 것이다. 또한, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 완화 요법으로서 환자의 치료를 위한 것이다.

[0184] 실시예에 의해 제시되는 바와 같이, 본원에 교시된 바와 같은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 치료적으로 성공적이며, 특히 종양 또는 전이 관해 또는 질병의 안정화를 발생시킬 수 있다. 특히, 분석된 환자에서, 질병의 현저한안정화가 관찰되었고, 이는 기본적으로 치료 선택이 없거나 단지 제한된 추가의 치료 선택을 갖는 강하게 이전 치료된 환자의 그룹에서 특히 중요한 성공이었다. 특히, 실시예는 본원에 기재된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 종양 성장의 억제, 종양 크기의 감소, 추가 전이(동일하거나 상이한 유형)의 예방 및/또는 전이의 수 또는 크기의 감소를 발생시킬 수 있는 것을 나타낸다. 추가로 이러한 치료 결과는 종양 및/또는 전이에 의해 야기된 병변의 감소 및/또는 삼출, 특히 흉막 또는 복부 삼출의 감소를 포함한다. 또한, CEA 및 CA19-9와 같은 중요한 종양 마커의 현저한 감소가 관찰되었다. 이는 또한 치료적 효과에 대한 중요한 지시인자이다. 본 발명의 치료로 획득된 치료 효과로 인해, 환자의 무-진행 생존 및/또는 수명에서의 증가 뿐만 아니라 일반적인 건강 상태의 개선이 달성될 수 있다.

[0185] 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 원발성 또는 재발성 종양의 치료 및/또는 복막 전이, 흉막 전이, 폐 전이 및/또는 간 전이를 포함하는 전이의 치료를 위한 것이다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 종양 또는 전이에 의해 발생한 병변, 특히 종괴, 특히 흉막 및/또는 복막의 병변을 치료하기 위한 것이다. 더욱이, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 삼출, 특히 흉막 삼출 및/또는 복수와 같은 복막 삼출의 치료에 이용될 수 있다.

- [0186] 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 바람직하게는 종양 성장의 억제 및 특히 종양 크기의 감소를 발생시킨다. 또한, 추가 전이의 발생이 예방되고/거나 그 수가 치료에 의해 감소한다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 종양 및/또는 하나 이상의 전이에 의해 발생한 병변을 감소시킨다. 특정 구체예에서, 치료는 종양 마커에서의 감소, 바람직하게는 종양 마커 CEA 및/또는 CA19-9의 수준에서의 감소를 발생시킨다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 또한, 특히 흉막 및/또는 복부 삼출의 삼출액 부피의 감소를 발생시킬 수 있다. 치료는 바람직하게는 무-진행 생존의 증가; 및/또는 수명 및 이에 따라 전체 생존의 증가를 발생시킨다.
- [0187] 본원에서 입증된 대로, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 여러 상이한 작용 메커니즘에 의해 이의 치료 활성을 발휘한다. 이는 종양 세포 상의 EGFR의 직접 억제, ADCC의 유도, 과립구-기반 면역 반응의 유도 및 대식세포-기반 면역 반응의 유도를 포함한다. 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료는 하기 중 하나 이상, 2개 이상 또는 바람직하게는 전부를 포함한다:
- [0188] (i) 특히 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 상기 EGFR의 결합을 통해, EGFR 양성 신생물 질환의 세포 상에서 EGFR 활성화 억제;
- [0189] (ii) 특히 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한, 면역 세포, 바람직하게는 자연살세포의 활성화를 통한, EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대해 유도되는 항체-의존성 세포 세포 독성 유도;
- [0190] (iii) 특히 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한, 과립구의 결합 및 활성화를 통한, EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 공격하고 바람직하게는 파괴하는 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 유도; 및/또는
- [0191] (iv) 특히 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화를 통한, EGFR 양성 신생물 질환의 세포를 공격하고 바람직하게는 파괴하는 대식세포의 유도.
- [0192] 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료는 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한, 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하는 상기 활성화된 과립구의 유도를 포함한다. 더욱이, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료는 바람직하게는 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하는 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함한다.
- [0193] 특수한 양태에서, 본 발명은 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대해 과립구-유래된 면역 반응을 유도하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체를 제공하고, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있다. 과립구-유래된 면역 반응은 바람직하게는 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하는 상기 활성화된 과립구의 유도를 포함한다. 과립구는 예를 들어 호중구 과립구 및/또는 호산구 과립구일 수 있다.
- [0194] 추가의 양태에서, 본 발명은 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 대해 대식세포-유래된 면역 반응을 유도하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체를 제공하고, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있다. 대식세포-유래된 면역 반응은 바람직하게는 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하는 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함한다.
- [0195] 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 첫 번째 용량의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여 후 사이토카인 방출의 유도를 포함한다. 사이토카인은 IFN- γ , IL-6, IL-8, TNF- α , IP-10 및 IL-1ra로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는 이러한 모든 사이토카인이 방출된다. 사이토카인은 특히 환자의 혈류로 방출되고 환자의 혈액에서 검출될 수 있다. 이러한 사이토카인 중 하나 이상, 바람직하게는 전부는 특히 치료되는 환자의 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40% 또는 적어도 50%에서 방출된다. 바람직하게는, 사이토카인의 방출은 환자 혈액 중의 상기 사이토카인의 농도의 적어도 2배, 바람직

하게는 적어도 5배 또는 적어도 10배의 최고 증가를 발생시킨다.

[0196] 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 것이고, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 적어도 50%, 특히 적어도 60% 또는 적어도 70%에서 피부 부작용을 발생시킨 치료 조건에 이용된다. 특히, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체는 고 푸코스 세톡시맵 (Erbix®), 파니투무맵, 잘루투무맵 및 GA201로 구성된 군으로부터 선택된다. 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 바람직하게는 치료되는 환자의 45% 이하, 바람직하게는 40% 이하, 더욱 바람직하게는 35% 이하에서 피부 부작용 (임의의 등급 포함)을 발생시킨다. 피부 부작용은 특히 피부 발진 및/또는 여드름모양 발진이다. 자세한 내용은 상기에 기재되었다.

[0197] 추가의 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 환자에서 신생물 질환을 치료하기 위한 것이고, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 적어도 12%, 특히 적어도 15% 또는 적어도 17%에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨 치료 조건에 이용된다. 특히, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체는 고 푸코스 세톡시맵 (Erbix®), 파니투무맵, 잘루투무맵 및 GA201로 구성된 군으로부터 선택된다. 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 바람직하게는 치료되는 환자의 10% 이하, 8% 이하, 바람직하게는 6% 이하, 더욱 바람직하게는 5% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨다. 피부 부작용은 특히 피부 발진 및/또는 여드름모양 발진이다.

[0198] 치료 조건은 특히 용량 당 투여되는 항체의 양, 투여 간격 및/또는 투여 유형; 및/또는 치료되는 환자의 상태를 포함하는 투여 요법을 포함한다. 바람직하게는, 피부 부작용의 발생 백분율은 임상 연구에서 결정된다. 피부 부작용의 발생 백분율은 특히 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 및 다른 항-EGFR 항체에 대해, 바람직하게는 유사하거나, 중첩되거나 동일한 투여량 범위, 유사하거나 동일한 투여 간격, 및 연령, 종양 등급 및 종양 타입에 있어서 유사한 환자 그룹을 포함하는 유사하거나 동일한 조건하에 결정된다.

[0199] 특정 구체예에 따르면, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 질환에 대해 치료되는 환자의 50% 초과, 60% 초과 또는 70% 초과에서 피부 부작용을 나타내는 것으로 밝혀진 EGFR 양성 신생물 질환을 앓고 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다. 그러한 EGFR 양성 신생물 질환의 예 및 바람직한 구체예는 본원에 기재되어 있고 이는 개개 설명에서 언급된다.

[0200] **이전 치료**

[0201] 본 발명자는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 다수의 이전 항암 치료, 특히 화학요법제 및/또는 다른 항암 항체, 특히 항-EGFR 항체, 예컨대 고 푸코스 항-EGFR 항체 (예컨대, Erbix®)를 이용한 이전 치료에 실패한 환자에서도 높은 치료 효능 및 임상적 성공을 나타내는 것을 발견하였다. 관찰된 효과는 현저한데, 이는 질병이 추가로 진행되고, 특히 전이가 진행된 경우에 암 요법이 더욱 실패하기 쉽기 때문이다. 다수의 치료 후, 암 세포는 종종 고도로 돌연변이되고, 이에 의해 더욱 용이하게 치료를 회피할 수 있다. 또한, 종양 부하, 즉, 환자에서의 종양 세포의 수는 질병이 진행함에 따라 증가한다. 더 많은 종양 세포 수에서, 약간의 종양 세포의 사멸보다 남아있는 종양 세포의 증식이 우세할 수 있다. 전이의 발생도 동일하게 적용된다. 그러므로, 강하게 이전 치료된 환자, 특히 널리 확산된 전이를 갖는 환자에서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 제시된 치료 효과는 인상적이고 예기치 않은 것이며, 또한 신규한 환자 그룹에 대해 신규한 치료 선택을 제공한다.

[0202] 이러한 발견에 비추어, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 특히 EGFR 양성 신생물 질병의 하나 이상의 이전 치료를 받은 환자에서 EGFR 양성 신생물 질병, 특히 EGFR 양성 암을 치료하기 위한 것이다. 신생물 질병의 이전 치료는 하나 이상의 화학요법제를 이용한 치료, 방사선 치료(방사선요법), 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 하나 이상의 치료 항체를 이용한 치료, 특히 하나 이상의 고 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료 및 상기 치료 중 2개 이상의 조합을 포함한다. 특정 구체예에서, 이전 치료는 항-EGFR 항체와 같은 EGFR 억제제를 이용한 적어도 한 치료를 포함하고, 이 때 환자는 상기 EGFR 억제제에 의해 발생한 피부 부작용으로 고통 받았다. 특정 구체예에서, EGFR 억제제를 이용한 이전 치료는 중단되거나 중지되어야 했거나 EGFR 억제제의 용량은 상기 피부 부작용의 발생으로 인해, 특히 3 또는 4등급의 피부 부작용의 발생으로 인해 감소되어야 했다. 항-EGFR 항체와 같은 EGFR 억제제를 이용한 이전 치료 동안 발생한 피부 부작용은 특히 본원에 기재된 피부 발진 및/또는 여드름모양 피부 발진을 포함할 수 있고/거나 본원에 기재된 대로, 특히 3등급 이상의 심각한 피부 부작용일 수 있다.

[0203] 또한, EGFR 양성 신생물 질병은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료 전 수술에 의해 치료될 수 있다. 한 구체예에 따르면, 환자의 이전 치료는 암 수술, 바람직하게는 원발성 종양 및/또는 전이의 적어도 일부의 수

술적 제거를 포함하였다.

[0204] 바람직한 구체예에서, 환자는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료 전 2회 이상, 바람직하게는 3회 이상의 이전 항암 치료를 받았다. 이전 치료는 단일요법으로서 또는 추가 요법, 예를 들어, 하나 이상의 화학요법제 및/또는 방사선요법 및/또는 EGFR과 상이한 항원에 대해 유도된 하나 이상의 추가 항체와 조합하여 특히 세특시맵과 같은 고 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 적어도 하나의 치료를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 환자는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료 전에 화학요법제 및/또는 치료적 항체와 같은 적어도 2개, 바람직하게는 적어도 3개 또는 적어도 4개의 상이한 항암제로 치료되었다. 이전 치료 중 하나 이상, 특히 전부는 실패하였고 이전 치료 후에 EGFR 양성 암은 재발하거나 진행되었다.

[0205] 특정 구체예에서, 그러나, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 화학요법제 또는 항암 항체로 이전에 치료된 적이 없는 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위해 이용된다. 따라서 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 1차 요법으로서 이용될 수 있다.

[0206] *이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체*

[0207] 본 발명의 특정 양태 및 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 억제제, 특히 고 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료가 상기 EGFR 억제제에 의해 발생한 본원에 기재된 피부 부작용과 같은 부작용으로 중단된 후에, 및/또는 이전 치료에 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료가 실패한 후에 이용된다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 및 고 푸코스 항-EGFR은 동일한 항체를 기초로 하며, 따라서 특히 동일한 항원에 결합하고, 동일한 CDR 영역을 포함하지만, Fc 영역 내에서의 이들의 당화, 특히 이들의 푸코스의 양에서 서로 상이하다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 적은 양의 푸코스를 갖고, 더 강한 ADCC 반응을 매개할 수 있다. 또한, 이는 바람직하게는 상기 기재된 바와 같이 많은 양의 bisGlcNAc를 갖는다.

[0208] 이전 치료에 이용된 고 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 60% 또는 그 초과, 65% 또는 그 초과, 70% 또는 그 초과, 또는 75% 또는 그 초과인 이의 CH2 도메인 내 푸코스의 양을 갖는다. 각각의 고 푸코스 항체는 표준 세포주, 예를 들어, CHO 세포 또는 SP2/0 세포에서 항체를 생성시키는 경우에 수득된다. 예를 들어, SP2/0 세포에서 생성되는 항체 세특시맵(Erbitux®)은 CH2 도메인에 부착되는 탄수화물 사슬 내에 70% 초과의 푸코스를 갖는 고 푸코스 항-EGFR 항체이다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인 내의 푸코스의 양은 고 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인 내의 푸코스의 양보다 적어도 20 퍼센트 포인트, 바람직하게는 적어도 30 퍼센트 포인트, 더욱 바람직하게는 적어도 40 퍼센트 포인트, 적어도 45 퍼센트 포인트 또는 적어도 50 퍼센트 포인트, 또는 심지어 적어도 55 퍼센트 포인트 더 낮다. 예를 들어, 고 푸코스 항-EGFR 항체가 70%의 푸코스 함량을 갖고, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 50 퍼센트 포인트 낮은 푸코스 함량을 갖는 경우, 이는 20%의 푸코스 함량을 갖는다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 비푸코실화되고, 푸코스를 포함하지 않는다.

[0209] 추가 구체예에서, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체는 10% 또는 그 미만, 7% 또는 그 미만 또는 5% 또는 그 미만, 더욱 바람직하게는 4% 또는 그 미만의 CH2 도메인 내 bisGlcNAc의 양을 갖거나, bisGlcNAc를 포함하지 않는다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인 내의 bisGlcNAc의 양은 바람직하게는 고 푸코스 항-EGFR 항체의 CH2 도메인 내의 bisGlcNAc의 양보다 적어도 5 퍼센트 포인트, 더욱 바람직하게는 적어도 7 퍼센트 포인트, 가장 바람직하게는 적어도 10 퍼센트 포인트 더 높다. 또한, 고 푸코스 항-EGFR 항체는 80% 또는 그 미만, 70% 또는 그 미만 또는 65% 또는 그 미만, 특히 60% 또는 그 미만의 갈락토스의 양을 포함할 수 있다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 갈락토스의 양은 바람직하게는 고 푸코스 항-EGFR 항체의 갈락토스의 양보다 적어도 10 퍼센트 포인트 더 높거나, 더욱 바람직하게는 적어도 15 퍼센트 포인트 더 높거나, 적어도 20 퍼센트 포인트 더 높거나, 가장 바람직하게는 적어도 25 퍼센트 포인트 더 높다. 특정 구체예에서, 고 푸코스 항-EGFR 항체는 40% 또는 그 미만, 35% 또는 그 미만 또는 30% 또는 그 미만, 특히 25% 또는 그 미만의 2개의 갈락토스 단위를 지니는 글리칸의 양을 포함한다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 2개의 갈락토스 단위를 지니는 글리칸의 양은 바람직하게는 고 푸코스 항-EGFR 항체의 2개의 갈락토스 단위를 지니는 글리칸의 양보다 적어도 15 퍼센트 포인트 더 높거나, 더욱 바람직하게는 적어도 10 퍼센트 포인트 더 높거나, 적어도 15 퍼센트 포인트 더 높거나, 가장 바람직하게는 적어도 20 퍼센트 포인트 더 높다.

[0210] 고 푸코스 항-EGFR 항체는 바람직하게는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 동일한 항체 유형이고, 특히 IgG 항체, 바람직하게는 IgG1 항체이다. 바람직하게는, 고 푸코스 항-EGFR 항체는 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있고/있거나 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상호특이성을 나타낸다. 특정 구체예에서, 고 푸코스 항-EGFR 항체는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 상응하는 아미노산 서열

과 적어도 80%, 적어도 90% 또는 적어도 95%, 더욱 바람직하게는 100% 동일한 중쇄 및/또는 경쇄 아미노산 서열을 갖는다. 특히, 중쇄 CDR 및/또는 경쇄 CDR의 아미노산 서열은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 CDR의 상응하는 아미노산 서열과 동일하다. 바람직한 구체예에서, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체는 항체 세특시맵(Erbix®)이거나, 항체 세특시맵과 상호특이성을 나타낸다.

[0211] 한 구체예에 따르면, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체는 리간드 결합 및/또는 EGFR의 이합체화, 특히 EGFR와 표피 성장인자 수용체 패밀리의 다른 구성원, 예를 들어, HER2, HER3 및 HER4의 이종이합체화를 차단할 수 있다.

[0212] 한 구체예에 따르면, 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 에피토프와 상이한 EGFR의 에피토프에 특이적으로 결합한다. 이러한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체 및 고 푸코스 항-EGFR 항체는 상이한 CDR 서열을 갖는다. 특정 구체예에서, 고 푸코스 항-EGFR 항체는 항체 파니투무맵(Vectibix)이거나, 항체 파니투무맵과 상호특이성을 나타낸다.

[0213] 고 푸코스 항-EGFR 항체는 완전 항체 또는 항체의 단편 또는 유도체일 수 있다. 이전 치료에서 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체는 추가 치료제에 컨쥬게이션될 수 있다. 적합한 치료제의 예는 방사성핵종 및 화학요법제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 화학요법제, 예를 들어, 마이탄신이다. 한 구체예에 따르면, 이전 치료에 사용된 고 푸코스 항-EGFR 항체는 컨쥬게이트가 아니다. 고 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 이전 치료는 단일요법이거나, 하나 이상의 화학요법제 및/또는 하나 이상의 추가 항체 및/또는 방사선요법과 함께 조합요법일 수 있다. 적합한 화학요법제 및 추가 항체는 본원의 다른 곳에 기재된 것이다.

[0214] 실시예에 제시된 바와 같이, 본 발명에 따라 사용되는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상응하는 고 푸코스 항-EGFR 항체보다 높은 치료 효능을 지닌다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 치료 효능은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 고 푸코스 항-EGFR 항체와 동일한 용량이나, 덜한 빈도로 투여되는 경우 및/또는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 고 푸코스 항-EGFR 항체와 동일 빈도이나 더 적은 용량으로 투여되는 경우에도 상응하는 고 푸코스 항-EGFR 항체의 치료 효능보다 여전히 높은 것이 또한 관찰되었다. 따라서, 유리하게는, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용하는 경우 투여량은 낮아질 수 있고, 치료 주기는 연장될 수 있다. 게다가, 임상 연구에서 현저하게 적고 가벼운 피부 부작용이 관찰되었고, 이는 추가의 중요한 이점이다. 종래 기술의 항-EGFR 항체로 관찰된 피부 부작용이 용량과 관련되므로, 본 발명의 항-EGFR 항체의 유리한 프로파일은 또한 요망되는 경우 투여량의 증가를 허용한다. 따라서, 본 발명의 항-EGFR 항체를 이용할 때 이용가능한 투여량 범위가 확대되며, 이것 역시 치료에 중요하다.

[0215] *이전 치료에서 사용된 추가의 항체*

[0216] 한 구체예에 따르면, 인간 환자는 항-EGFR 항체로 이전에 치료되었고, 상기 이전 치료는 치료 동안 발생한, 특히 3등급 이상의 피부 부작용으로 인해 중단, 종결되었거나, 항-EGFR 항체의 투여량은 감소되어야 했다. 한 구체예에 따르면, 인간 환자는 항-EGFR 항체로 이전에 치료되었고, 항-EGFR 항체를 이용한 상기 이전 치료는 상기 항-EGFR 항체에 대해, 특히 3 또는 4등급의 피부 부작용이 발생했기 때문에 지속되지 않거나 지속될 수 없다. 현저한 수의 환자에서 그러한 심각한 피부 반응을 발생시키는 것으로 알려진 항-EGFR 항체는 비제한적으로 Erbix®, GA201, 파니투무맵 및 잘루투무맵을 포함한다.

[0217] 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 적어도 하나의 치료적 항체가 이전 치료에 이용되었다. 개개의 항체는 또한 다른 항원에 대해 유도되고/거나 EGFR에 특이적으로 결합하지 않는 항체를 포함할 수 있다. 이전 치료에서 사용될 수 있었던 이들 추가 항체는 바람직하게는 종양 세포에 존재하고, 바람직하게는 비-종양 세포 상에 존재하지 않거나 적은 양으로 비-종양 세포에 존재하는 항원 또는 항체가 접근하기 쉽지 않은 부위에 특이적으로 결합한다. 바람직하게는, 추가 항체는 미국식품의약국(FDA), 유럽의약품청(EMA, 이전에는 EMEA) 및 독일의약의료협회(BfArM)와 같은 기관에 의해 암 치료에 대해 승인되어 있다. 추가 항체의 바람직한 예는 항-HER2 항체, 예를 들어, 트라스투주맵(Herceptin) 및 퍼투주맵(Omnitarg); 항-VEGF 항체, 예를 들어, 베바시주맵(Avastin); 항-CD52 항체, 예를 들어, 알렘투주맵(Campath); 항-CD30 항체, 예를 들어, 브렌톡시맵(Adcetris); 항-CD33 항체, 예를 들어, 켈투주맵(Mylotarg); 및 항-CD20 항체, 예를 들어, 리톡시맵(Rituxan, Mabthera), 토시투모맵(Bexxar) 및 이브리투모맵(Zevalin)이다.

[0218] 추가 항체는 완전 항체 또는 항체의 단편 또는 유도체일 수 있다. 한 구체예에서, 추가 항체는 추가 치료제에 컨쥬게이션된다. 상기 치료제의 예는 방사성핵종 및 화학요법제, 특히 본원에 기재된 바와 같은 화학요법제이다. 한 구체예에 따르면, 이전 치료에 사용된 추가 항체는 컨쥬게이트가 아니다.

- [0219] 이전 치료에서 사용된 화학요법제
- [0220] 특정 구체예에서, 이전 치료는 임의로 감소된 푸코스 항-EGFR 항체와 상이한 하나 이상의 치료 항체와 조합된, 화학요법제 또는 2개 이상의 화학요법제의 조합물을 이용한 하나 이상의 치료를 포함한다. 화학요법제는 임의의 화학요법제일 수 있고, 사이클로포스파미드; 라파티닙; 카페시타빈; 시타라빈; 비노렐빈; 겐시타빈; 마이탄신(maytansine); 안트라사이클린(anthracyclines), 예를 들어, 다우노루비신(daunorubicin), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 이다루비신(idarubicin), 발루비신(valrubicin) 및 미톡산트론(mitoxantrone); 탁산, 예를 들어, 파클리탁셀(탁솔(Taxol)), 도세탁셀(탁소테레(Taxotere)) 및 SB-T-1214; 아로마타제 억제제, 예를 들어, 아미노글루테티미드(aminoglutethimide), 테스토락톤(testolactone)(테슬락(Teslac)), 아나스트로졸(anastrozole)(아리미덱스(Arimidex)), 레트로졸(letrozole)(페마라(Femara)), 엑세메스탄(exemestane)(아로마신(Aromasin)), 보로졸(vorozole)(리비조르(Rivizor)), 포르메스탄(formestane)(렌타론(Lentaron)), 파드로졸(fadrozole)(아페마(Afema)), 4-하이드록시안드로스텐디온, 1,4,6-안드로스타트리엔-3,17-디온(ATD) 및 4-안드로스텐-3,6,17-트리온(6-OXO); 국소이성화효소 억제제, 예를 들어, 이리노테칸(irinotecan), 토폠테칸(topotecan), 캄프토테신(camptothecin), 라멜라린 D(lamellarin D), 에토포시드(etoposide)(VP-16), 테니포시드(teniposide), 독소루비신, 다우노루비신, 미톡산트론, 암사크린(amsacrine), 엘립티신(ellipticines), 아우르인트리카르복실산(aurintricarboxylic acid) 및 HU-331; 백금 기반 화학요법제, 예를 들어, 시스-디아민디클로로백금(II)(시스플라틴), 시스-디아민(1,1-사이클로부탄디카르복실레이트)백금(II)(카르보플라틴(carboplatin)) 및 [(1R,2R)-사이클로헥산-1,2-디아민](에탄디오에이트-0,0')백금(II)(옥살리플라틴(oxaliplatin)); 알킬화제, 예를 들어 다카르바진 및 항대사물질, 특히 항폴린산제, 예를 들어, 메토티렉세이트(methotrexate), 페메트렉세드(pemetrexed), 랄티트렉세드(raltitrexed) 및 프랄라트렉세이트(pralatrexate), 피리미딘 유사체, 예를 들어, 플루오로우라실(flurouracil), 겐시타빈, 플록스우리딘, 5-플루오로우라실 및 테가푸르-우라실(tegafur-uracil), 및 퓨린 유사체로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 특히, 이전 치료는 상이한 화학요법제의 조합, 예컨대 폴린산 및 플루오로우라실 및 옥살리플라틴(FOLFOX)의 조합, 또는 폴린산 및 플루오로우라실 및 이리노테칸(FOLFIRI)의 조합을 이용한 하나 이상의 치료를 포함하였다. 특정 구체예에서, 화학요법제의 이러한 조합은 상기 기재된 하나 이상의 항암 항체, 특히 고 푸코스 항-EGFR 항체, 예컨대 세특시맵(Erbix®) 또는 항-VEGF 항체, 예컨대 베바시주맵(Avastin)과 추가로 조합된다.
- [0221] **감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 포함하는 조성물 및 투여량**
- [0222] 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 약학적 조성물에 포함될 수 있다. 바람직하게는 상기 약학적 조성물은 정맥내 주사에 적합하다. 이는 항체를 포함하는 수용액, 또는 정맥내 주사에 적합한 조성물을 제조하는데 사용될 수 있는 조성물, 예를 들어, 동결건조된 항체 조성물일 수 있다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 포함하는 조성물은 용매, 희석제, 및 부형제로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 추가 성분을 추가로 포함할 수 있다. 조성물의 성분은 바람직하게는 모두 약학적으로 허용되는 것이다. 조성물은 고체 또는 유체 조성물, 특히 바람직하게는 수용액, 에멀전 또는 현탁액 또는 동결건조된 분말일 수 있다. 약학적 조성물과 같은 항체를 제조하기 위한 제형은 당 분야에 잘 알려져 있으므로, 어떠한 상세한 설명도 불필요하다.
- [0223] 조성물은 바람직하게는 1 mg/ml 내지 100 mg/ml, 더욱 바람직하게는 2 mg/ml 내지 50 mg/ml, 2.5 mg/ml 내지 30 mg/ml 또는 3 mg/ml 내지 25 mg/ml, 특히 약 5 mg/ml 내지 약 15 mg/ml의 범위 내의 농도로 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 포함한다.
- [0224] 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 임의의 적합한 투여 경로, 바람직하게는 정맥내 주사에 의해 환자에 투여될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 환자의 체중 kg 당 0.5 내지 50 mg, 2 내지 40 mg, 4 내지 30 mg, 바람직하게는 6 내지 25 mg, 더욱 바람직하게는 8 내지 20 mg의 범위 내의 용량으로 투여된다. 여기서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 낮은 투여량으로 투여될 수 있고, 단일요법으로 제공되는 경우에도 여전히 치료 효과를 유도하는 것이 발견되었다. 따라서, 유리하게는 낮은 투여량이 이용될 수 있다. 그러나, 개선된 치료 프로파일 및 특히 현저하게 감소되고 단지 경미한 특히 피부 부작용과 같은 부작용 발생률로 인해, 또한 높은 투여량이 이용될 수 있다. 따라서, 또한 Erbitux®와 같은 항-EGFR 항체에 대해 일반적으로 이용되는 것과 동일하거나 심지어 더 높은 투여량이 적합하다. 따라서, 이용가능한 투여량 범위가 현저하게 확대된다. 특히, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 주 당 750 mg 이하, 바람직하게는 주 당 700 mg 이하, 주 당 600 mg 이하, 주 당 500 mg 이하, 주 당 400 mg 이하, 주 당 650 mg 이하, 더욱 바람직하게는 주 당 300 mg 이하, 주 당 250 mg 이하, 주 당 200 mg 이하, 주 당 175 mg 이하, 가장 바람직하게는 주 당 150 mg 이하의 양을 투여하기 위한 것이다. 특정 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 투여 당 10 mg 내지 2500 mg, 50mg 내지 2250mg, 바람직하게는 100 mg 내지 2000 mg, 150mg 내지 1900mg, 175mg 내지 1800mg, 200mg 내지 1750mg, 225mg 내지

1700mg, 250mg 내지 1600mg, 275mg 내지 1500 mg, 300mg 내지 1400mg, 325mg 내지 1300mg, 350mg 내지 1200 mg, 375 mg 내지 1100 mg, 400mg 내지 1000mg, 425mg 내지 950 mg, 450mg 내지 900 mg, 475 mg 내지 850mg 및 500mg 내지 800mg의 용량으로 투여된다. 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해 유도되는 피부 부작용 및 다른 부작용의 낮은 발생률로 인해, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 또한 더 높은 용량, 특히 500 mg 내지 2000 mg, 바람직하게는 600 mg 내지 1500 mg 또는 700 mg 내지 1400 mg 범위 내의 용량, 특히 800 mg 이상, 바람직하게는 900 mg 이상 또는 1000 mg 이상의 용량으로 투여될 수 있다. 때로, 용량은 절대 투여량 대신 신체 표면 m^2 당 mg으로서 표시된다. 이러한 경우에, 투여 당 상기 언급된 절대 투여량은 인간 신체 표면적이 대충 약 $2 m^2$ 이므로 m^2 당 투여량을 나타내기 위해 반으로 나누어진다.

[0225] 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 1일 내지 4주, 바람직하게는 2일 내지 3주, 더욱 바람직하게는 3일 내지 2주 또는 5일 내지 9일 범위의 간격으로 투여되고, 특히 매주 또는 격주로 투여된다. 한 구체예에 따르면, 치료는 후속 용량보다 높은 초기 용량의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, 초기 용량은 예컨대 상기 기재된 대로 정상 용량의 1.1 내지 10배, 바람직하게는 정상 용량의 1.2 내지 2배 또는 정상 용량의 1.3 내지 1.6배를 포함한다. 이에 관해 용어 "정상 용량"은 초기 용량 후 투여되는 후속 용량을 의미한다. 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 장기간 치료에 이용된다. 바람직한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 적어도 4회, 바람직하게는 적어도 5회, 적어도 6회, 적어도 7회, 적어도 8회, 적어도 10회, 적어도 12회, 적어도 15회, 적어도 20회 또는 적어도 25회 투여를 포함한다. 환자는 특히 감소된 푸코스 항-EGFR 항체로 적어도 4주, 바람직하게는 적어도 5주, 적어도 6주, 적어도 7주, 적어도 8주, 적어도 10주, 적어도 3개월, 적어도 4개월, 적어도 6개월, 적어도 9개월 또는 적어도 1년 동안 치료된다. 따라서, 치료는 장기간 치료를 위한 것이다.

[0226] 특수한 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 800 mg 내지 1200 mg, 특히 950 mg 내지 1050 mg의 범위, 예컨대 약 990 mg의 초기 용량, 및 500 mg 내지 950 mg, 특히 650 mg 내지 800 mg의 범위, 예컨대 약 720 mg의 후속 용량을 이용하여 1주 간격으로 투여된다. 특정 구체예에서, 이러한 투여량 범위는 또한 격주 투여를 위해 이용될 수 있다. 다른 구체예에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 2주 간격으로 투여되고 각각의 용량은 1100 mg 내지 1700 mg, 바람직하게는 1300 mg 내지 1450 mg의 범위, 특히 약 1370 mg이다.

[0227] 주입을 포함하는 주사에 의한 항체의 투여는 환자의 신체 내에서 유해한 반응, 특히 주입 관련 반응(IRR)을 야기시킬 수 있다. 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 투여하는 경우 각각의 효과가 또한 발생할 수 있다. 각각의 주입 관련 반응을 감소시키기 위해, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 치료는 상기 주입 관련 반응의 치료, 감소 또는 예방을 위한 척도 및/또는 수단과 조합될 수 있다.

[0228] 본 발명의 한 구체예에 따르면, IRR의 예방 또는 감소는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 치료와 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제의 전-투약을 조합시킴으로써 달성된다. 상기 작용제는 다음과 같은 특징 중 하나 이상을 가질 수 있다: 이는 비-아편 진통제이고/이거나, 이는 비-살리실레이트 진통제이고/이거나, 이는 아닐린 진통제/아닐린 유도체이고/이거나, 이는 아세트아닐리드 유도체이고/이거나, 이는 아미노페놀 유도체이고/이거나, 이는 아세트아미노페놀이오/이거나, 이는 사이클로-옥시게나제 억제제이고/이거나, 이는 프로스타글란딘 억제제이다. 바람직하게는, *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드(파라세타몰 또는 아세트아미노펜)는 진통제 및/또는 해열제로 사용된다. 상기 작용제는 예를 들어 정맥내 또는 경구 투여된다.

[0229] 상기 전-투약은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여와 관련된 IRR을 유의하게 감소시키는 것이 본 발명자에 의해 발견되었다. 그러므로, 본 발명의 한 양태에서, 이러한 전-투약은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여에 의해 야기되는 IRR을 예방하거나 치료하는데 사용된다. 예시적 주입 관련 반응은 열, 부종, 예를 들어, 혈관부종, 관절통 및 떨림이다.

[0230] 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제는 바람직하게는 250 mg 내지 1500 mg, 적어도 500 mg, 바람직하게는 적어도 700 mg, 적어도 800 mg, 적어도 900 mg, 더욱 바람직하게는 1000 mg의 용량으로 투여된다. 이는 바람직하게는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여 전에, 바람직하게는 하나의 단일 용량 또는 2개 이상, 바람직하게는 2개의 별개의 용량으로 투여된다.

[0231] 바람직한 구체예에서, 상기 작용제는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여 전 5분 내지 6시간, 바람직하게는 10분 내지 4시간, 15분 내지 3시간 또는 20분 내지 2시간, 더욱 바람직하게는 30분 내지 90분, 특히 1시간 전에, 특히 단일 용량으로 투여된다.

[0232] 특정한 바람직한 구체예에서, 상기 작용제는 2개 용량으로 투여되는데, 첫 번째 용량은 감소된 푸코스 항-EGFR

항체의 투여 전 8시간 내지 48시간, 바람직하게는 12시간 내지 36시간 또는 16시간 내지 24시간 전, 특히 전날 저녁(즉, 약 12시간 전)에 투여된다. 두 번째 용량은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여 전 5분 내지 6시간, 바람직하게는 10분 내지 4시간, 15분 내지 3시간 또는 20분 내지 2시간, 더욱 바람직하게는 30분 내지 90분, 특히 1시간 전에 투여된다. 특정한 바람직한 구체예에서, 작용제의 첫 번째 용량은 항체의 투여 전날 저녁에 투여되고, 두 번째 용량은 항체의 투여 1시간 전에 제공된다. 바람직하게는, 둘 모두의 용량은 1000 mg의 작용제이다. 상기 투여 계획의 특히 바람직한 작용제는 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드이다.

[0233] 바람직한 구체예에서, 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 첫 번째 투여 전에만 투여되고 임의로 추가로 주입 관련 반응이 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 이전 투여에 의해 유도된 후에 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 임의의 투여 전에 투여된다. 추가의 구체예에서, 작용제는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여에 대한 주입 관련 반응이 발생했을 때 투여된다. IRR에 대한 전-투약의 수를 제한함에 의해, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의해 유도된 ADCC의 효능에 대한 상기 전-투약의 잠재적인 음성 효과가 최소화될 수 있다.

[0234] 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제는 하나 이상의 스테로이드, 바람직하게는 글루코코르티코이드, 예를 들어, 코르티솔, 코르티손 아세테이트, 클로프레놀, 프레드니손, 프레드니솔론, 데플라자코르트, 플루오코르톨론, 트리암시놀론, 베타메타손 또는 벡사메타손, 특히 메틸프레드니솔론과 조합되어 투여될 수 있다. 스테로이드는 바람직하게는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여 전 5분 내지 4시간, 더욱 바람직하게는 15분 내지 1시간, 가장 바람직하게는 약 30분 전에 투여된다. 스테로이드는 바람직하게는 25 내지 500 mg, 더욱 바람직하게는 50 내지 250 mg 또는 100 내지 150 mg의 용량, 특히 약 125 mg의 용량으로 투여된다.

[0235] 본 발명의 특히 바람직한 구체예에서, 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 치료는 IRR을 효과적으로 감소시키거나 예방하기 위해 하기와 같이 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드 및 임의로 메틸프레드니솔론을 이용한 전-투약과 조합된다:

[0236] a) 항체의 투여 전 저녁에 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐)아세트아미드의 첫 번째 용량,

[0237] b) 항체의 투여 1시간 전에 1000 mg의 *N*-(4-하이드록시페닐)의 두 번째 용량, 및

[0238] c) 임의로 항체의 투여 30분 전에 125 mg의 메틸프레드니솔론의 1회 용량.

[0239] 이러한 계획에서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상기 기재된 용량으로 투여되고, 이는 상기 개시내용에 언급되어 있다.

[0240] 특정 구체예에서, 스테로이드가 투여되지 않고, 바람직하게는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여에 의해 발생한 주입 관련 반응을 감소 또는 예방하기 위해 스테로이드 및 항히스타민이 투여되지 않는다. 상기 기재된 대로, 본 발명의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 유리한 당화 프로파일로 인해, 특히 IgE 매개된 알레르기 반응이 관찰되지 않았다. 현저한 히스타민 또는 ECP 방출이 관찰되지 않았다. 한 구체예에 따르면, 주입 관련 반응은 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제로만 치료되거나 예방된다.

[0241] 또 다른 양태에서, 본 발명은 항-EGFR 항체의 투여에 의해 발생한 주입 관련 반응을 치료하거나 예방하기 위한 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제를 제공한다. 항-EGFR 항체는 바람직하게는 본원에 정의된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체이다. 따라서 본 발명의 다른 양태의 특징 및 구체예가 본 발명의 이러한 양태에 적용된다.

[0242] 주입-관련 반응을 감소시키기 위한 또 다른 접근법은 개선된 치료 계획의 이용이다. 본원에 제공된 실험 데이터에 의해 입증된 바와 같이, 주입-관련 반응은 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 첫 번째 용량을 두 부분으로 나누고 부분 용량들을, 바람직하게는 짧은 시간 틀 내에, 환자에게 연속하여 투여함에 의해 효과적으로 예방될 수 있었다.

[0243] 특정한 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 첫 번째 용량은 둘 이상의 분리된 부분 용량들, 특히 2개의 분리된 부분 용량들로서 환자에게 투여된다. 바람직하게는 첫 번째 용량의 모든 부분 용량들이 3일 내에, 바람직하게는 2일 내에, 특히 36시간 내에 환자에게 투여된다. 바람직한 구체예에서, 환자에게 투여된 첫 번째 부분 용량은 150 mg 이하, 바람직하게는 100 mg 이하, 더욱 바람직하게는 80 mg 이하, 특히 약 60 mg의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 포함한다. 첫 번째 부분 용량은 바람직하게는 적어도 1시간, 바람직하게는 적어도 1.5시간, 더욱 바람직하게는 적어도 2시간, 특히 약 2.5시간의 기간에 걸쳐 주입을 통해, 특히 정맥내 주입을 통해 환자에게 투여된다. 바람직한 구체예에서, 첫 번째 용량은 2개의 분리된 부분 용량으로 나뉜다. 바람직하게는, 두 번째 부분 용량은 첫 번째 부분 용량에 포함되지 않은 첫 번째 용량 중의 감소된 푸

코스 항-EGFR 항체의 잔량을 포함한다. 두 번째 부분 용량은 바람직하게는 10시간 이내, 바람직하게는 8시간 이내, 더욱 바람직하게는 6시간 이내의 기간 내에, 특히 약 5.5시간 이내에 주입을 통해, 특히 정맥내 주입을 통해 환자에게 투여된다. 첫 번째 용량의 첫 번째 및 두 번째 부분 용량은 바람직하게는 연속 2일에 투여된다.

[0244] 특정 구체예에서, 특히 상기 투여 계획을 이용하는 경우, 주입-관련 반응의 감소 또는 예방을 위해 스테로이드는 투여되지 않고, 바람직하게는 스테로이드 및 항히스타민은 투여되지 않고, 더욱 바람직하게는 또한 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제는 투여되지 않는다. 특히, 주입-관련 반응은 단지 개선된 투여 계획을 이용하여 감소되거나 예방된다. 이는 특정 경우에 IRR에 대해 유도된 전-투약, 특히 스테로이드 및/또는 항히스타민 및/또는 진통 및/또는 해열 특성을 갖는 작용제를 이용한 전-투약이 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 치료 활성을 감소시킬 수 있음이 입증될 수 있었기 때문에 특히 유리하다. 따라서, 유리한 특정 구체예에서 환자는 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여에 의해 발생한 주입 관련 반응을 감소시키거나 예방하기 위해 전-투약을 받지 않는다. 다른 구체예에서, 개선된 투여 계획은 상기 기재된 진통 및/또는 해열제의 투여와 조합된다.

[0245] 상기 기재된 전-투약 및 특히 개선된 투여 계획을 이용하여, 주입-관련 반응 (IRR)이 감소될 수 있다. 예를 들어, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 임상 연구에서, 환자의 약 50%만이 항체의 첫 번째 주입에 주로 제한된 IRR를 나타내었고 재발하지 않았다. 관찰된 IRR은 또한 단지 1 또는 2등급의 IRR이었다. 또한, 임상 연구에서 관찰된 IRR은 지금까지 어떠한 알레르기 반응도 포함하지 않았다.

[0246] **본 발명의 특정 구체예**

[0247] 본 발명의 특수하고 특히 바람직한 구체예가 하기에 다시 기재될 것이다:

[0248] 특수한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 다음 특징을 갖는다:

[0249] (i) 이는 SEQ ID NO:7 또는 9의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:7 또는 9와 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, SEQ ID NO:1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다;

[0250] (ii) 이는 SEQ ID NO:8 또는 10의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:8 또는 10과 적어도 80% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, SEQ ID NO:4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO:5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, SEQ ID NO:6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다;

[0251] (iii) 이는 CH2 도메인 내에 하기 당화 특징을 갖는다:

[0252] (a) 30% 이하, 바람직하게는 25% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0253] (b) 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 10%의 양분성 GlcNAc을 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0254] (c) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양; 및

[0255] (d) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0256] (e) 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양; 및

[0257] (f) 임의로 적어도 0.5%, 바람직하게는 적어도 1%의 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0258] (iv) 이는 임의로 VH 도메인 내에 당화 부위를 포함하고, 상기 당화 부위가 존재하는 경우, 이는 하기 당화 특징을 갖는다:

[0259] (a) 40% 이하, 바람직하게는 35% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0260] (b) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 40%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0261] (c) 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양; 및

[0262] (d) 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0263] (e) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;

[0264] (f) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 45%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.

[0265] 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 900 mg 내지 1100 mg 범위의 초기 용량 및 600 mg 내지 850 mg 범위의 후속 용량을 이용하여 1주 간격으로 투여된다. 다른 구체예에서, 본 발명에 따른

감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 2주 간격으로 투여되고 각각의 용량의 1250 mg 내지 1500 mg의 범위이다.

- [0266] 특히 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 주 당 적어도 240 mg의 양으로 적어도 6주 동안 투여될 때 치료되는 환자의 10% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키고/거나 치료되는 환자의 35% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시킨다.
- [0267] 특정 구체예에서, 임의의 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는,
- [0268] (i) 환자에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨, 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®) 및/또는 GA201로 이전에 치료된 인간 환자;
- [0269] (ii) 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®) 및/또는 GA201에 대해 3등급 이상의 공지된 심각한 피부 부작용을 지닌 인간 환자;
- [0270] (iii) 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®) 및/또는 GA201을 이용한 치료 동안 3등급 이상의 심각한 부작용의 증간된 발생 위험을 갖는 인간 환자;
- [0271] (iv) 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자로서, 상기 이전 치료가 상기 치료 동안 발생한 상기 항-EGFR 항체에 대한 피부 부작용으로 인해 중단, 종결되거나, 항-EGFR 항체의 투여량이 감소되어야 했고, 항-EGFR 항체가 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®) 또는 GA201인 인간 환자;
- [0272] (v) 항-EGFR 항체로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자로서, 항-EGFR 항체를 이용한 상기 이전 치료가 상기 항-EGFR 항체에 대한 피부 부작용이 발생했기 때문에 지속되지 않거나 지속될 수 없고, 항-EGFR 항체가 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®) 또는 GA201인 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.
- [0273] 특정 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 환자에서 EGFR 양성 신세포 암종을 치료하기 위한 것이고, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 환자에서 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있고; 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 10% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키고/거나 치료되는 환자의 35% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시킨다. 추가의 구체예에서, 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 인간 환자에서 악성 흉막 또는 복막 삼출을 치료하기 위한 것이고, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 환자에서 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있고; 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 10% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키고/거나 치료되는 환자의 35% 이하에서 여드름모양 피부 발진을 발생시킨다. 특정 구체예에서, 환자는 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료 전에, Erbix®와 같은 그러한 피부 부작용을 발생시키는 항-EGFR 항체로 이전 치료되었고, 이전 치료는 상기 항-EGFR 항체에 대한 피부 부작용으로 인해 종결되거나 중단되었다.
- [0274] 한 구체예에 따르면, 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체가 제공되고, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있으며, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 10% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨다. 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 치료되는 환자의 5% 이하에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시킨다.
- [0275] 한 구체예에 따르면, 상기 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 50% 초과에서 피부 부작용 및/또는 환자의 적어도 12%에서 3등급 이상의 피부 부작용을 나타내는 것으로 밝혀진 EGFR 양성 신생물 질환을 앓고 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다. 한 구체예에 따르면, 상기 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 것이고, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 적어도 50%에서 피부 부작용을 발생시키거나, 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 적어도 12%에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨 치료 조건이 이용된다. 한 구체예에 따르면, 상기 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 상기 환자에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨 적어도 하나의 EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다. EGFR 억제제는 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맙 (Erbix®), 파니투무맙 (Vectibix®) 및 GA201일 수 있다.
- [0276] EGFR 양성 신생물 질환은 결장 암종, 직장 암종, 비-소세포 폐 암종, 편평 세포 폐암, 신세포 암종, 삼중 음성 유방암, 두경부의 편평 세포 암종, 식도 샘암종, 위 샘암종, 위식도 접합부 샘암종, 자궁내막 암종 또는 육종, 자궁경부 암종으로 구성된 군으로부터 선택되는 EGFR 양성 암일 수 있다.
- [0277] 한 구체예에 따르면, 상기 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 인간 환자에서 신장암을 치료하기 위한 것이고, 바람

직하게는, 신장암은 투명 세포 신세포 암종 및 유두 신세포 암종으로부터 선택된다.

- [0278] 한 구체예에 따르면, 상기 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 인간 환자에서 악성 삼출을 치료하기 위한 것이다. 삼출은 흉막 삼출 또는 복막 삼출일 수 있고, EGFR 양성 신생물 질환은 위 암종 또는 식도/위 접합부의 샘암종이다.
- [0279] 바람직한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 CH2 도메인의 당화 부위 내에 하기 당화 특징 중 모두를 포함한다:
- [0280] (i) 20% 내지 0%, 바람직하게는 15% 내지 3%의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0281] (ii) 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 10%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0282] (iii) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0283] (iv) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0284] (v) 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%의 적어도 하나의 시알산, 특히 NeuAc을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0285] (vi) 적어도 0.5%, 바람직하게는 적어도 1%의 2개의 시알산 특히 NeuAc을 지니는 글리칸의 상대적인 양; 및
- [0286] (vii) 이는 Gal α1,3-Gal을 포함하지 않는다.
- [0287] 또한, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 중쇄 가변 영역 VH 내에 추가의 당화 부위를 포함할 수 있고 VH 도메인의 당화 부위 내에 하기 당화 특징을 모두 포함할 수 있다:
- [0288] (i) 40% 이하, 바람직하게는 35% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0289] (ii) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 40%의 양분성 GlcNAc을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0290] (iii) 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0291] (iv) 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0292] (v) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0293] (vi) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 45%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.
- [0294] 상기 기재된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO: 2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있고; SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함할 수 있다.
- [0295] 한 구체예에 따르면, EGFR 양성 신생물 질환은 K-RAS 돌연변이를 포함한다.
- [0296] 한 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 치료는 매주 또는 덜 빈번하게 용량 당 250 내지 1500 mg, 바람직하게는 350 내지 1250mg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함한다.
- [0297] 특정 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료는,
- [0298] (i) EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한, 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하는 상기 활성화된 과립구의 유도; 및/또는
- [0299] (ii) EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하는 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함한다.
- [0300] 특정 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는,
- [0301] (i) 3등급 이상의 심각한 피부 부작용을 발생시키는 EGFR 억제제에 대한 3등급 이상의 공지된 심각한 피부 부작용을 갖는 인간 환자;
- [0302] (ii) 특히 환자의 10% 초과에서, 3등급 이상의 심각한 피부 부작용을 발생시키는 EGFR 억제제로의 치료 동안 3등급 이상의 심각한 부작용이 발생할 위험이 증가된 인간 환자;
- [0303] (iii) EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자로서, 상기 이전 치료가 상기 치료 동안 발생한 상기

EGFR 억제제에 대한 피부 부작용으로 인해 중단, 종결되거나 EGFR 억제제의 투여량이 감소되어야 했던 인간 환자; 및/또는

- [0304] (iv) EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자로서, EGFR 억제제를 이용한 상기 이전 치료가 상기 EGFR 억제제에 대한 피부 부작용이 발생했기 때문에 지속되지 않거나 지속될 수 없는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.
- [0305] 특정 구체예에 따르면, 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합이거나 (Fc γ RIIIa-158F/F), 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합이거나 (Fc γ RIIIa-158V/F), 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합이고 (Fc γ RIIIa-158V/V), 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이들의 Fc γ RIIIa 동종이형과 무관하게 환자를 치료하기 위한 것이다.
- [0306] 특정 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이전 치료에서 항-EGFR 항체에 대해 알레르기 반응이 발생한 인간 환자를 치료하고/거나 기존에 Gal-Gal IgE 항체를 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.
- [0307] 특정 구체예에 따르면, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 하나 이상의 항암 요법으로 이전에 치료된 적이 있고 EGFR 양성 신생물 질환이 상기 이전 치료(들)에 내성이거나 상기 이전 치료(들) 후에 진행된 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.
- [0308] 본 발명은 특히 하기 구체예에 속한다.
- [0309] 구체예 1: 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 CH2 도메인 내에 당화 부위를 갖는 항-EGFR 항체로서, 상기 당화 부위에 부착된 글리칸의 50% 이하가 푸코스를 지니고 (감소된 푸코스 항-EGFR 항체) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 항체-의존성 세포 세포독성 반응을 유도할 수 있고, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 10% 이하에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시키는, 항-EGFR 항체.
- [0310] 구체예 2: 구체예 1에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 5% 이하에서 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진을 발생시키는 항-EGFR 항체.
- [0311] 구체예 3: 구체예 1 또는 2에 있어서, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 치료되는 환자의 50% 초과에서 피부 부작용을 나타내고/거나 환자의 적어도 12%에서 3등급 이상의 피부 부작용을 나타내는 것으로 밝혀진 EGFR 양성 신생물 질환을 앓고 있는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체.
- [0312] 구체예 4: 구체예 1 내지 3 중 하나 이상에 있어서, 적어도 하나의 다른 항-EGFR 항체가 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 적어도 50%에서 피부 부작용을 발생시키거나, 상기 다른 항-EGFR 항체를 이용한 환자의 적어도 12%에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨 치료 조건이 이용되는, 인간 환자에서 EGFR 양성 신생물 질환을 치료하기 위한 항-EGFR 항체.
- [0313] 구체예 5: 구체예 1 내지 4 중 하나 이상에 있어서, 인간 환자에서 3등급 이상의 피부 부작용을 발생시킨 적어도 하나의 EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자를 치료하기 위한 항-EGFR 항체.
- [0314] 구체예 6: 구체예 5에 있어서, EGFR 억제제가 항-EGFR 항체, 예컨대 세톡시맵 (Erbix®), 파니투무맵 (Vectibix®) 및 GA201인 항-EGFR 항체.
- [0315] 구체예 7: 구체예 1 내지 6 중 하나 이상에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 결장 암종, 직장 암종, 비-소세포 폐 암종, 편평 세포 폐암, 신세포 암종, 삼중 음성 유방암, 두경부의 편평 세포 암종, 식도 샘암종, 위 샘암종, 위식도 접합부 샘암종, 자궁내막 암종 또는 육종, 자궁경부 암종으로 구성된 군으로부터 선택되는 EGFR 양성 암인 항-EGFR 항체.
- [0316] 구체예 8: 구체예 1 내지 7 중 하나 이상에 있어서, 인간 환자에서 신장암을 치료하기 위한 항-EGFR 항체로서, 바람직하게는, 신장암이 투명 세포 신세포 암종 및 유두 신세포 암종으로부터 선택되는 항-EGFR 항체.
- [0317] 구체예 9: 구체예 1 내지 8 중 하나 이상에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환을 갖는 인간 환자에서 악성 삼출을 치료하기 위한 항-EGFR 항체.
- [0318] 구체예 10: 구체예 9에 있어서, 삼출이 흉막 삼출 또는 복막 삼출이고, EGFR 양성 신생물 질환이 위 암종 또는 식도/위 접합부의 샘암종인 항-EGFR 항체.
- [0319] 구체예 11: 구체예 1 내지 10 중 하나 이상에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 CH2 도메인의 당화 부위

내에 하기 당화 특징을 모두 포함하는 항-EGFR 항체:

- [0320] (i) 20% 내지 0%, 바람직하게는 15% 내지 3%의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0321] (ii) 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 10%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0322] (iii) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0323] (iv) 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 15%의 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0324] (v) 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%의 적어도 하나의 시알산, 특히 NeuAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0325] (vi) 적어도 0.5%, 바람직하게는 적어도 1%의 2개의 시알산, 특히 NeuAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
- [0326] (vii) 이는 Gal α1,3-Gal을 포함하지 않는다.
- [0327] 구체예 12: 구체예 1 내지 11 중 하나 이상, 특히 구체예 11에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체가 중쇄 가변 영역 VH에 추가의 당화 부위를 포함하고 VH 도메인의 당화 부위에 하기 당화 특징을 모두 포함하는 항-EGFR 항체:
 - [0328] (i) 40% 이하, 바람직하게는 35% 이하의 푸코스 잔기를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - [0329] (ii) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 40%의 양분성 GlcNAc를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - [0330] (iii) 적어도 85%, 바람직하게는 적어도 90%의 적어도 하나의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - [0331] (iv) 적어도 70%, 바람직하게는 적어도 80%의 적어도 2개의 갈락토스를 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - [0332] (v) 적어도 50%, 바람직하게는 적어도 60%의 적어도 하나의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양;
 - [0333] (vi) 적어도 35%, 바람직하게는 적어도 45%의 적어도 2개의 시알산을 지니는 글리칸의 상대적인 양.
- [0334] 구체예 13: 구체예 1 내지 12 중 하나 이상에 있어서, SEQ ID NO: 1의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO: 2의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO: 3의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하고; SEQ ID NO: 4의 아미노산 서열을 갖는 CDR1, SEQ ID NO: 5의 아미노산 서열을 갖는 CDR2, 및 SEQ ID NO: 6의 아미노산 서열을 갖는 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항-EGFR 항체.
- [0335] 구체예 14: 구체예 1 내지 13 중 하나 이상에 있어서, EGFR 양성 신생물 질환이 K-RAS 돌연변이를 포함하는 항-EGFR 항체.
- [0336] 구체예 15: 구체예 1 내지 14 중 하나 이상에 있어서, 치료가 매주 또는 덜 빈번하게 용량 당 250 내지 1500 mg, 바람직하게는 350 내지 1250mg의 양의 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 투여를 포함하는 항-EGFR 항체.
- [0337] 구체예 16: 구체예 1 내지 15 중 하나 이상에 있어서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체를 이용한 EGFR 양성 신생물 질환의 치료가,
 - [0338] (i) EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 과립구, 특히 호중구 및 호산구 과립구의 결합 및 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하기 위한 상기 활성화된 과립구의 유도; 및/또는
 - [0339] (ii) EGFR 양성 신생물 질환의 세포에 결합된 감소된 푸코스 항-EGFR 항체에 의한 대식세포의 활성화; 및 EGFR 양성 신생물 질환의 상기 세포를 파괴하는 상기 활성화된 대식세포의 유도를 포함하는 항-EGFR 항체.
- [0340] 구체예 17: 구체예 1 내지 16 중 하나 이상에 있어서,
 - [0341] (i) 심각한 피부 부작용을 발생시키는 EGFR 억제제에 대한 3등급 이상의 공지된 심각한 피부 부작용을 지닌 인간 환자;
 - [0342] (ii) 특히 환자의 10% 초과에서 3등급 이상의 심각한 부작용을 발생시키는 EGFR 억제제를 이용한 치료 동안, 3등급 이상의 심각한 부작용의 증가된 발생 위험을 갖는 인간 환자;
 - [0343] (iii) EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자로서, 상기 이전 치료가 상기 치료 동안 상기 EGFR 억제제에 대한 피부 부작용이 발생했기 때문에 중단, 종결되었거나, EGFR 억제제의 투여량이 감소되어야 했던 인간 환자; 및/또는

- [0344] (iv) EGFR 억제제로 이전에 치료된 적이 있는 인간 환자로서, EGFR 억제제를 이용한 상기 이전 치료가 상기 EGFR 억제제에 대한 피부 부작용이 발생했기 때문에 지속되지 않거나 지속될 수 없는 인간 환자를 치료하기 위한 것인 항-EGFR 항체.
- [0345] 구체예 18: 구체예 1 내지 17 중 하나 이상에 있어서, 하기 특징 중 하나 이상을 갖는 항-EGFR 항체:
- [0346] (i) 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 페닐알라닌에 대해 동형접합이거나 (Fc γ RIIIa-158F/F), 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린 및 페닐알라닌에 대해 이형접합이거나 (Fc γ RIIIa-158V/F), 환자는 Fc γ 수용체 IIIa의 아미노산 위치 158에서 발린에 대해 동형접합이고 (Fc γ RIIIa-158V/V), 바람직하게는, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이들의 Fc γ RIIIa 동종이형과 무관하게 환자를 치료하기 위한 것이다;
- [0347] (ii) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 이전 치료에서 항-EGFR 항체에 대해 알레르기 반응이 발생한 인간 환자를 치료하고/거나 기존에 Gal-Gal IgE 항체를 갖는 인간 환자를 치료하기 위한 것이다; 및/또는
- [0348] (iii) 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 하나 이상의 항암 요법으로 이전에 치료된 적이 있고 EGFR 양성 신생물 질환이 상기 이전 치료(들)에 내성이거나 상기 이전 치료(들) 후에 진행된 인간 환자를 치료하기 위한 것이다.
- [0349] 본원에 기재된 수치 범위는 범위를 규정하는 수를 포함한다. 본원에 제공된 표제는 본 발명의 다양한 양태 또는 구체예의 제한이 아니며, 이는 전체로서 본 명세서에 대한 참조로 읽혀질 수 있다. 한 구체예에 따르면, 방법의 경우에서 특정 단계를 포함하거나 조성물의 경우에서 특정 성분을 포함하는 것으로 본원에 기재된 주제는 각각의 단계 또는 성분으로 구성된 주제를 나타낸다. 본원에 기재된 바람직한 양태 및 구체예를 선택하고 조합시키는 것이 바람직하며, 바람직한 구체예의 각각의 조합으로부터 발생하는 특정 주제가 또한 본 발명의 개시에 속한다.
- [0350] 본 출원은 둘 모두가 2013년 4월 22일 출원된 EP 13 002 106.6 및 EP 13 002 108.2의 우선권을 주장하고, 이들은 그 전문이 본원에 참조로서 포함된다.
- [0351] **도면**
- [0352] **도 1**은 감소된 푸코스 항-EGFR 항체의 첫 번째 주입 후 24시간 내에 예시적인 환자에서의 IP-10 반응을 나타낸다. 1 ng/ml 초과와 혈청 농도는 이미 상승된 수준이고 > 10 ng/ml 값이 강력한 반응으로 고려된다.
- [0353] **도 2**는 지시된 항체 또는 PBS와 함께 4시간 동안 인큐베이션한 후 예시적인 환자의 전혈 샘플에서의 사이토카인 방출을 나타낸다.
- [0354] **도 3**은 상이한 인간 혈액 세포 유형에 대한 Fuc⁻ 세특시맵 (본 발명), Fuc⁺ 세특시맵 (Erbix[®]) 및 대조군 인간 IgG1 항체 (hIgG1)의 결합을 나타낸다. (A) 분화 (CD) 유전자의 클러스터의 발현에 따라 분류된 상이한 혈액 세포 유형에 대한 결합. (B) A의 하부축 영역의 상세한 표시.
- [0355] **도 4**는 EGFR을 발현하는 표적 세포의 존재 (+ A-431) 또는 부재하에 (- A-431; 대조군) 상이한 농도의 Fuc⁻ 세특시맵 (본 발명) 또는 Fuc⁺ 세특시맵 (Erbix[®])과 함께 인큐베이션한 후 전혈 샘플에서 반응성 산소 종의 생성을 나타낸다. (A) 반응성 산소 종에 대한 염색을 나타내는 세포의 백분율. (B) 혈액 샘플에서 반응성 산소 종의 농도.
- [0356] **도 5**는 EGFR을 발현하는 표적 세포의 존재 (+ A-431) 또는 부재하에 (- A-431; 대조군) 상이한 농도의 Fuc⁻ 세특시맵 (본 발명) 또는 Fuc⁺ 세특시맵 (Erbix[®])과 함께 인큐베이션한 후 전혈 샘플에서 락토페린의 분비를 나타낸다. 혈장에서 락토페린의 농도가 표시된다.
- [0357] **도 6**은 CH2 내의 당화 부위 및 임의로 항체의 VH 도메인에 부착된 탄수화물 사슬의 바이안테너리 복합체 타입 구조의 개략도를 도시한다. 검정색 사각형은 N-아세틸글루코사민 잔기 (GlcNAc)를 나타내고, 회색 원은 만노스 잔기 (Man)를 나타내고, 흰색 원은 갈락토스 잔기 (Gal)를 나타내고, 회색 마름모는 시알산 잔기 (SA)를 나타내고, 검정색 삼각형은 푸코스 잔기 (Fuc)를 나타내고, 회색 사각형은 양분성 N-아세틸글루코사민 잔기 (bisGlcNAc)를 나타낸다. 바이안테너리 복합체 타입 구조에서, 탄수화물의 분지에 있는 Gal 및 SA, bisGlcNAc 뿐만 아니라 Fuc는 단지 임의로 탄수화물 구조에 존재하며 부재할 수도 있다.
- [0358] **실시예**
- [0359] **실시예 1: 세특시맵 변이체의 당화 분석**

[0360] 본원에서 세특시맵의 저 푸코실화 변이체(Fuc⁻ 세특시맵)인 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 세포주 GT-5s (DSM ACC 3078)로부터 유래된 인간 골수성 백혈병 세포주에서의 발현에 의해 획득되었지만 상기 세포주는 GMD 발현을 변형시킴에 의해 감소된 푸코실화 활성을 갖도록 변경되었다. 고 푸코스 항-EGFR 항체 세특시맵 (Fuc⁺ 세특시맵)은 마우스 골수종 세포주 SP2/0에서 생성되었으므로, 실질적으로 세특시맵 (Erbitux®)에 해당한다. 이러한 항체는 또한 후속하는 시험관내 연구에서 참조로서 이용되었다 (실시예 4, 6, 7 및 8).

[0361] Fuc⁻ 세특시맵의 당화 패턴을 더욱 상세하게 특성규명하기 위해, 글리코프로파일링(glycoprofiling) 연구를 수행하였다. 키메라 인간/마우스 IgG1 항체 세특시맵은 중쇄 불변 영역 2 (Fc 당화 부위)에 하나의 N-당화 부위 및 중쇄 가변 영역 (Fab 당화 부위)에 하나의 N-당화 부위를 포함한다. 글리코프로파일링을 위해, 무손상 N-글리칸을 단백질 코어로부터 방출시키고 N-글리칸의 환원 말단을 형광 마커로 표지시켰다. 표지된 N-글리칸의 정제된 샘플을 UPLC에 의해 분리시켰다. 형광측정 검출에 기반한 피크 면적을 N-글리칸 구조의 상대적인 몰 풍부도(relative molar abundances)의 계산에 이용하였다. 항체의 모든 N-당화 부위 상의 전체적인 당화에 대한 추정 데이터가 표 1에 요약되어 있다. 상기 값은 관심 단당류의 유형 (예컨대, 푸코스)을 함유하는 N-글리칸의 상대적인 몰 함량을 나타낸다.

[0362] 표 1

샘플	상대적인 풍부도 [mol%]*							
	F	S > 0	S2	G > 0	G2	B	M	Gal
Fuc⁻ 세특시맵	7	34	19	90	56	36	0	0
Fuc⁺ 세특시맵	81	8	0	52	20	0	18	18

[0363]

[0364] * 글리칸 구조의 상대적인 풍부도는 N-글리칸의 총 양에 관한 것이다.

[0365] F = 푸코실화된 N-글리칸; S > 0 = 시알릴화된 N-글리칸; S2 = 2개의 시알산을 갖는 N-글리칸; G > 0 = 갈락토실화된 N-글리칸; G2 = 2개의 갈락토스를 갖는 N-글리칸; B = 양분성 N-아세틸글루코사민을 갖는 N-글리칸; M: 고-만노스-타입 및 하이브리드-타입 N-글리칸; Gal: Galili 에피토프-포함 N-글리칸.

[0366] 글리코프로파일링은 Fuc⁻ 세특시맵이 마우스 SP2/0 세포 (Erbitux®의 생성에 사용됨)에서 발현된 Fuc⁺ 세특시맵에 비해 훨씬 낮은 푸코스 함량 및 높은 bisGlcNAc, 시알산 및 갈락토스 함량을 갖는 것을 나타낸다. 또한, Fuc⁺ 세특시맵은 상당량의 고 만노스-타입 및 하이브리드-타입 N-글리칸을 나타내는 한편, Fuc⁻ 세특시맵은 복합체-타입 N-글리칸으로 배타적으로 당화된다. 더욱이, Fuc⁻ 세특시맵은 인간 세포주에서의 생성으로 인해 인간 당화 프로파일링을 지녔고, 이에 따라 검출가능한 NeuGc 및 검출가능한 Gal α1,3-Gal (Galili 에피토프)을 갖지 않는다.

[0367] Fuc⁻ 세특시맵을 추가로 특성규명하기 위해, 또한 상이한 당화 부위 (Fab 당화 및 Fc 당화)에서의 당화 패턴을 분석하였다. 각각 Fc 및 Fab 당화 부위에서 당화 프로파일의 분리된 확인을 위해, 항체를 분해하여 글리칸 분석 전에 Fab 및Fc 부위로 분리시켰다.

[0368] 표 2

샘플	상대적인 풍부도 [mol%]*					
	F	S > 0	S2	G > 0	G2	B
Fuc⁻ 세특시맵 Fab 부분	8	89	56	99	94	77
Fuc⁻ 세특시맵 Fc 부분	9	11	3	87	41	18

[0369]

[0370] * 글리칸 구조의 상대적인 풍부도는 N-글리칸의 총 양에 관한 것이다.

[0371] F = 푸코실화된 N-글리칸; S > 0 = 시알릴화된 N-글리칸; S2 = 2개의 시알산을 갖는 N-글리칸; G > 0 = 갈락토실화된 N-글리칸; G2 = 2개의 갈락토스를 갖는 N-글리칸; B = 양분성 N-아세틸글루코사민을 갖는 N-글리칸.

- [0372] Fuc⁻ 세톡시맵 및 Fuc⁺ 세톡시맵(Erbitux®)의 표적 결합, 특이성, 친화성 및 Fv 매개 항-종양 활성을 다양한 동등성 연구(또한 하기 실시예 참조), 특히 EGFR 항원 ELISA, 유세포측정법 분석, EGFR 하향조절, VEGF 생성의 감소, 종양 증식의 억제 및 종양 아폽토시스의 유도에서 분석하였다. 결과는 본 발명에 따른 Fuc⁻ 세톡시맵이 종양 세포 증식 억제의 충분한 유지 및 종양 세포 아폽토시스의 유도를 나타내는 것을 증명하였다. 따라서, Fuc⁻ 세톡시맵 및 Fuc⁺ 세톡시맵은 결합 및 Fv 매개 항-종양 특성에 있어서 기본적으로 동등하다. 따라서, 치료 효능 및 특히 항-전이 활성과 관련된 개선은 감소된 푸코스 항 EGFR 항체의 개선된 당화 특징에 관한 것이다.
- [0373] 실시예 1에 기재된 바와 같은 Fuc⁻ 세톡시맵을 이후의 분석 및 실시예에서 사용하였다.
- [0374] **실시예 2: 임상 연구**
- [0375] 국소적으로 진행되거나 전이성인 EGFR-양성 고형 악성종양을 갖는 환자에서 단일요법으로서 Fuc⁻ 세톡시맵의 임상 I상 용량 상승 연구 (실시예 1 참조)를 수행하였다. 결장암, 폐암, 위암, 식도암, 투명 세포 신장 세포암 및 유두 신장 세포암을 포함하는 신장 세포암, 담낭암, 난소암 및 직장암을 갖는 환자를 포함하는, 여러 상이한 종양 유형을 갖는 환자를 연구에 포함시켰다. 매주 또는 2주간 투여 계획을 이용하였다. 환자는 12 mg, 60 mg, 120 mg, 240 mg, 480 mg, 720 mg, 990 mg 또는 1370 mg의 Fuc⁻ 세톡시맵을 수용하였다. 모든 환자는 임상 연구의 시작 전에 진행성 질환 상태를 가졌다. 치료는 안전하였고 파라세타몰 및/또는 개선된 투여 계획에 의해 제어될 수 있는 첫 번째 주입시에만 경증 내지 중간 정도의 주입-관련 반응 (IRR)을 지니며 매우 잘 용인되었다.
- [0376] 뛰어난 치료 효능은 다양한 상이한 종양의 치료를 위해 말기 환자에서 관찰되었다. 특히, 질병 상태의 안정화는 결장 (KRAS 돌연변이체 뿐만 아니라 KRAS 야생형 종양 포함), 직장, 위, 신장/신장 세포, 폐, 난소 및 음경암과 같은 종양 유형에서 최대 870일까지 수득될 수 있었다. 적어도 질병 상태의 안정화 (임상 효과)는 약 6개월의 안정한 질환의 평균 지속기간을 갖는 연구에 포함된 모든 환자의 50%를 넘는 환자에서 달성되었다. 적어도 8회 용량 (또는 격주로 4회)의 본 발명에 따른 Fuc⁻ 세톡시맵을 수용한 환자 중에서, 심지어 82%는 임상 효과를 나타내었다. 부분적이거나 심지어 완전한 반응이 진행된 질병을 갖고 많은 이전 치료를 받은 진행성 환자에서 단일 작용제 요법으로서 Fuc⁻ 세톡시맵을 이용한 환자의 약 18%에서 관찰되었다. 이러한 환자들은 특히 불량한 예후를 지니므로 이는 현저한 효과이다. 따라서, 이들은 첫 번째 또는 두 번째 시간 동안 치료를 받은 환자와 비슷하지 않다. 모든 환자의 46%는 종양 감소를 나타내었다. 더욱이, 폐 또는 복막에서 삼출의 완전한 감소가 수득되었다. 주요 임상 효과는 Erbitux® 실패 후의 환자 및 K-Ras 야생형의 감염자(progressor) 뿐만 아니라 K Ras 돌연변이 환자를 포함하는 결장암, 및 NSCLC, 투명하고 투명하지 않은 신세포 암종, 위 및 식도암, 및 담낭과 같은 비전형적인 항-EGFR 항체 적응증에서 관찰되었다. 따라서, 감소된 푸코스 항-EGFR 항체는 중요한 새로운 치료 옵션을 제공한다.
- [0377] 상이한 암 유형과 관련하여, 결장암에 대한 안정한 질환의 가장 긴 지속기간은 약 400일이었고, 평균 지속기간은 약 180일이었다. Erbitux® 치료시 진행된 환자 및 K-Ras 돌연변이 종양을 갖는 환자를 포함하는 결장암 환자의 약 80%는 임상 효과를 나타내었다. 신세포 암종을 갖는 환자는 약 240일의 안정한 질환의 평균 지속기간을 나타내었고, 지금까지 관찰된 가장 긴 지속기간은 최대 400일이다.
- [0378] 연구에 포함된 신세포 암종을 지닌 모든 환자가 질환의 안정화를 나타내었고, 이는 모든 경우에 이미 주 당 12 mg 내지 120 mg의 낮은 양의 Fuc⁻ 세톡시맵으로 수득되었다는 사실은 특히 주목할 만하다. 35%까지의 종양 병변의 합계의 감소가 신세포 암종에 대해 관찰되었다. 지금까지 신세포 암종을 갖는 환자의 무-진행 생존의 가장 긴 지속기간은 최대 400일이었다.
- [0379] 또한 폐암 또는 위/식도암을 갖는 환자는 본 발명에 따른 Fuc⁻ 세톡시맵 항체에 현저한 반응을 나타내었다. 두 그룹 모두는 완전한 반응을 갖는 환자를 포함한다. 여전히 진행 중인 비-소세포 폐암 환자의 치료는 현재 870일 초과 안정한 질환을 발생시킨다. 더욱이, Fuc⁻ 세톡시맵 항체를 이용한 치료는 위 또는 식도암을 갖는 환자에서 종양 마커의 강력한 감소 및 복막 삼출 (복수)의 완전한 감소를 발생시켰다.
- [0380] 이러한 임상 결과는, 이것이 주 당 단지 12 mg의 Fuc⁻ 세톡시맵을 수용한 환자를 포함하는 모든 용량 코호트의 결과이기 때문에 특히 현저한 것이다. 특히, 안정한 질환이 저 Fuc⁻ 세톡시맵 용량 (12 mg 내지 240 mg)으로 치료된 환자의 70%를 초과하는 환자에서 관찰되었다. 게다가, 모든 환자의 40%를 초과하는 환자는 표적 병변에서 종양 감소를 나타내었다. Fuc⁻ 세톡시맵을 이용한 치료는 또한 이에 영향을 받은 암 환자에서 흉막 및 복막 삼출을 감소시켰다.

- [0381] 임상 연구의 또 다른 놀라운 결과는 본원에 기재된 새로운 치료적 치료를 가능케 한 항-EGFR 항체에 의해 발생하는 현저하게 낮은 비율의 부작용이었다. 통상적인 항-EGFR 항체, 예컨대 Erbitux®는 치료되는 환자의 80% 내지 90%에서 피부 부작용, 특히 발진을 발생시킨다. 피부 반응의 약 15% 이상은 심각하며 (적어도 3등급), 피부 피사를 갖는 병증을 포함한다. 또한, Fuc+ 세특시맵 Erbitux®로 치료된 거의 모든 환자는 점진적인 마그네슘 손실로 고통받으며, 환자의 55% 이하에서 저마그네슘혈증이 발생한다 (예컨대, 유럽 의약청(EMA) 및 미국 식품 및 약물 안전청(FDA)의 Erbitux®에 대한 시판 허가와 함께 제공되는 문서, 및 브리티시 콜롬비아 암 기구의 세특시맵 암 약물 매뉴얼을 참조하라). 이와 대조적으로, 본 연구의 환자는 단지 약 40%만이 피부 반응을 발생시켰고, 대부분은 단지 경증 반응이었고 (1등급) 나머지는 중간 정도였다 (2등급). 3 또는 4 등급의 피부 부작용은 발생하지 않았다. 특히, 환자의 단지 24%가 여드름모양 피부 발진으로 고통받았고 심지어 그러한 환자도 단지 경증 형태를 발생시켰다. 3등급 이상의 여드름모양 피부 발진은 관찰되지 않았다. 게다가, 감소된 마그네슘 및 칼륨 수준이 Fuc- 세특시맵을 이용한 임상 연구 동안 환자의 8% 미만 및 9% 미만에서 각각 관찰되었다. Fuc- 세특시맵에 대한 알레르기 반응은 관찰되지 않았고 이는 개선된 당화에 기인할 수 있다. 또한 Erbitux®에 비해 설사와 같은 다른 부작용 효과의 낮은 발생률이 본 발명에 따른 항-EGFR 항체에 대해 관찰되었다. 특히, 치료되는 환자의 단지 24%만이 3등급 이상의 부작용을 지녔는데, 이 중 어떤 것도 피부 부작용은 아니었다. 그러한 부작용으로 인해 임상 연구 동안 중단, 투여에서의 지연, 또는 투여량의 감소는 불필요했다. 본 발명에 따른 Fuc- 항체의 전반적인 개선된 당화 패턴 및 또한 개선된 당화 패턴과 분명히 관련되는 다양한 인간 혈액 세포 유형의 결합에서의 차이 (실시에 6을 참조하라)는 본원에 기재된 바와 같이 새로운 치료 기회가 제공됨에 따른 이러한 유리한 부작용 프로파일 때문일 수 있었다고 여겨진다.
- [0382] 본 발명에 따른 감소된 푸코스 항-EGFR 항체, 본원에서 Fuc-세특시맵의 투여시 주요 반응이 있었던 환자의 선택된 기록 (실시에 1을 참조하라)이 하기 실시예에 기재된다.
- [0383] **실시예 3: Fuc- 세특시맵으로 치료된 EGFR 양성 암 환자의 예시적인 병증**
- [0384] *예시적인 병증 1*
- [0385] 진행된 결장암 (KRAS wt) 및 폐, 간 및 복막 전이를 갖는 환자 (Fc γ R1IIa-158V/V)를 하기 이전 치료 이후에 1370 mg의 Fuc- 세특시맵으로 치료하였다.
- [0386] 1. FOLFOX 및 베바시주맵
- [0387] 2. FOLFIRI 및 Fuc+ 세특시맵 (Erbitux®)
- [0388] 3. FOLFOX
- [0389] 4. 다카르바진
- [0390] 5. 카페시타빈 및 미토마이신
- [0391] Fuc- 세특시맵을 이용한 치료 동안, 환자는 간 기능의 정상화 및 종양 마커의 현저한 감소 (Ca19.9는 362에서 150 U/ml로 감소되었고 CEA는 398에서 15 ng/ml로 감소되었다)를 경험하였고, 이는 치료 효능을 나타낸다. 컴퓨터 단층촬영 (CT) 스캔은 종양 부담에서 26.2%의 감소를 기록하였다. 환자가 단지 1등급의 여드름모양 발진 및 마그네슘 수준에서의 1등급 감소를 발생시켰으므로, 치료는 잘 용인되었다.
- [0392] *예시적인 병증 2*
- [0393] 진행된 HER2 음성 위암 (속립성 복막 암종증 및 복수)을 갖는 환자 (Fc γ R1IIa-158F/F)를 FOLFOX를 이용한 3차 화학요법에 실패한 후에 1370 mg의 Fuc- 세특시맵으로 치료하였다. Fuc- 세특시맵으로 치료한 지 처음 2개월 후에, 환자는 종양 마커의 현저한 감소 (Ca19.9: 2359에서 443 U/ml)를 경험하였고, 이는 치료 효능을 나타낸다. 창자간막 절에서의 측정가능한 병변이 13x11 cm에서 12x8 cm로 감소하였다. 더욱이, 복부 삼출에서의 상당한 감소가 달성되었고, 이는 거의 더 이상 검출될 수 없다. 환자가 단지 1등급의 여드름모양 발진을 발생시켰으므로, 치료는 최적으로 용인되었다. 마그네슘 수준은 정상 범위 내에 남아 있었다.
- [0394] *예시적인 병증 3*
- [0395] 흉막 및 복막 전이를 포함하는 식도/위 접합부의 샘암종을 갖는 환자 (Fc γ R1IIa-158F/F)를 매주 1370 mg의 Fuc- 세특시맵으로 치료하였다. 암은 HER2 과발현을 나타내지 않으나, EGFR 유전자 증폭이 FISH에 의해 검출되었다. 환자는 또한 흉막 및 복막 삼출로 고통받았고 빈번하게 천공 및 배출되어야 했다. Fuc- 세특시맵을 이용한 요법의 시행 이후에, 흉막 삼출은 다시 배출될 필요가 없었고 환자의 일반적인 상태는 현저하게 개선되었

다. 이미 한 사이클의 Fuc- 세톡시맵 치료 이후에, 종양 마커는 현저하게 감소하였다 (종양 마커 Ca19-9는 1769에서 204 U/ml로 감소하였고 종양 마커 CEA는 444에서 104 ng/ml로 감소하였다). 시험된 모든 종양 마커의 정상 수준으로의 충분한 감소 (Ca19-9: 12.4 U/ml 및 CEA: 4.4 ng/ml)와 함께 더 이상 측정할 수 없는 복수로 의 복부 삼출의 충분한 감소가 달성되었고, 이는 완전한 임상 반응을 갖는 환자를 발생시켰다.

[0396] 예시적인 병증 4

[0397] 진행된 비-소세포 폐암을 갖는 환자 (Fc γ RIIIa-158V/V)를 매주 720 mg의 Fuc- 세톡시맵으로 치료하였고 방사선 및 CT 스캔에 의해 확인되는 >397일 동안의 완전한 반응이 발생하였다. 환자는 이전에 기관지내시경 (bronchoscopy)을 받았을 뿐 아니라 Fuc- 세톡시맵을 이용한 치료를 시작했을 때 1년에 걸쳐 방사선-화학요법 (시스플라틴 및 비노렐빈 이용) 및 화학요법 (도세탁셀 이용) 치료를 받았다. 전-투약을 동반한 처음 18회 주입 동안, 뿐만 아니라 전-투약 없이 추가의 주입 동안 치료는 매우 잘 용인되었다. 종양 병변은 처음 주입 동안 일정하게 남아 있었다. 이후 종양 병변은 수축하기 시작했고 치료 시작 약 10.5개월 후에 RECIST 1.1에 따른 완전한 반응에 도달했다. 모든 종양 병변의 소실은 8주 내에 2회의 연속 CT 스캔에서 확인되었다. 일반적인 건강 상태는 양호하며, 환자는 심지어 다시 일을 하고 있다. 이는, 보통 유사한 초기 암 상태를 가진 환자의 건강 상태 및 예후가 그들의 직업을 수행할 가능성과 꽤 소원하므로 매우 놀라운 사건이다. 치료는 현재 진행 중이다.

[0398] 예시적인 병증 5

[0399] 유두 신세포 암종을 갖는 환자 (Fc γ RIIIa-158F/F)를 매주 120 mg의 Fuc- 세톡시맵으로 치료하였다. 표적 병변을 합친 면적은 Fuc- 세톡시맵 치료에 의해 35%만큼 감소하였고, 표적 병변의 합 최대 크기에 관하여 45% 감소하였다.

[0400] 예시적인 병증 6

[0401] 폐, 간 및 림프절 전이와 함께 진행된 결장암을 갖는 환자 (FOLFIRI 플러스 아바스틴 (베바시주맵) 및 다른 화학요법을 이용한 2번의 이전 치료 후에)를 매 2주마다 990 mg으로 치료하였다. 환자는 빠른 증상 완화 및 실험실 검사 (간 기능) 및 CEA 수준의 정상화와 함께 종양 표적 병변의 합 약 35% 감소를 지니며 1차 스캔에서 RECIST 1.1에 따라 부분적인 반응을 나타내었다. 환자가 단지 경증 피부 독성을 발생시켰으므로, 치료는 최적으로 용인되었다.

[0402] 예시적인 병증 7

[0403] 유두 신세포 암종을 갖는 환자 (Fc γ RIIIa-158F/V)를 매주 60 mg의 Fuc- 세톡시맵으로 치료하였다. 환자는 1년 넘게 안정한 질환을 나타내었다.

[0404] 예시적인 병증 8

[0405] 돌연변이체 KRAS와 함께 투명 세포 신세포 암종을 갖는 환자 (Fc γ RIIIa-158F/F)를 매주 120 mg의 Fuc- 세톡시맵으로 치료하였다. 종양은 4개월 동안 치료한 후에 단지 느린 성장을 나타내었다.

[0406] 예시적인 병증 9

[0407] 투명 세포 신세포 암종을 갖는 환자 (Fc γ RIIIa-158F/F)를 매주 12 mg의 Fuc- 세톡시맵으로 치료하였다. 종양 성장은 5개월 동안 멈췄고, 그 후 느린 성장만이 검출되었다.

[0408] **실시예 4: Fuc- 세톡시맵에 반응하는 NK 세포 및 대식세포의 개입**

[0409] 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵의 치료 활성에서 자연살세포 (NK 세포) 및 대식세포의 개입을 분석하기 위해, 항체의 투여 전, 동안 및 후에 임상 연구의 모든 환자로부터 혈청 샘플을 수득하였다.

[0410] IFN- γ 는 상승된 IFN- γ 수준의 주요 공급원인 Fuc- 세톡시맵 유도된 NK 세포의 자극의 지시인자로서 분석되었다. 낮은 정도의 IFN- γ 유도가 50%를 약간 초과하는 환자에서 관찰되었다. IFN- γ 가 매우 일시적으로 유도되는 것이 공지되어 있으므로, IFN- γ -유도된 단백질 10 (IP-10)을 여러 환자에서 추가로 분석하였다. IP-10은 IFN- γ 로의 자극시에 대식세포에 의해 분비되고 NK 세포에 의한 IFN- γ 분비 및 대식세포의 활성화의 더욱 안정한 지시인자로서 기능한다. IP-10 분비의 신속하고 강력한 자극이 주입 시작 후 6시간 내에 대부분의 환자 (88%)에서 관찰되었다 (도 1).

[0411] 또한, Fuc- 세톡시맵 항체에 의한 다양한 사이토카인의 유도가 또한 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵, Fuc+ 세톡

시뮬, 양성 대조군으로서 B- 및 T-림프구 에피토프에 대해 유도된 항체 MabCampath 및 음성 대조군으로서 PBS를 이용한 항체 치료 전에 취해진 환자의 혈액 샘플을 인큐베이션함에 의해 시험관내 분석되었다. 결과로서, 사이토카인 IFN- γ , IL-6, IL-8 및 TNF- α 의 증가가 관찰될 수 있었다 (도 2).

[0412] IFN- γ 및 IP-10 방출의 유도는 Fuc- 세톡시맵의 반응에서 대식세포 및 NK 세포의 개입을 나타낸다. 또한, 이러한 및 추가의 사이토카인의 방출의 유도는 또한 임상 연구에 이용된 Fuc- 세톡시맵 항체의 치료 효능에 대한 지시인자이다. 유도된 사이토카인은 면역 반응이 항체에 의해 촉발되어 이후의 항체 치료에 대해 환자의 면역 시스템을 추가로 활성화시킴을 나타낸다.

[0413] **실시예 5: 주입-관련 반응의 예방**

[0414] Fuc- 세톡시맵의 치료 활성을 평가하기 위한 임상 연구에서, 또한 Fuc- 세톡시맵의 주입에 의해 야기된 경증 내지 중간 정도의 부작용 (주입 관련 반응, IRR)이 첫 번째 코호트의 환자에서 첫 번째 주입 동안 관찰되었다. IRR을 예방하기 위해, 나머지 환자를 Fuc- 세톡시맵 주입 전에 파라세타몰로 사전 치료하였다. 파라세타몰 사전 치료는 Fuc- 세톡시맵 주입 전 저녁에 1000 mg의 1회 용량 및 1시간 전에 1000 mg의 1회 용량을 포함하였다. 환자의 사전 치료는 IRR을 감소시켰다.

[0415] 두 번째 접근법에서, 첫 번째 주입의 투여 계획은 IRR을 줄이기 위해 최적화되었다. 이러한 최적화된 투여 계획에 따르면, 첫 번째 용량을 2일 연속 제공되는 2회 주입으로 나눈다. 첫 번째 주입은 60 mg의 Fuc- 세톡시맵을 함유하고 2.5시간에 걸쳐 투여된다. 두 번째 주입은 첫 번째 용량의 나머지 양의 Fuc- 세톡시맵을 함유하고 다음 날 주입에 의해 5.5시간 내에 투여된다. 첫 번째 주입의 투여 계획을 개선함에 의해, IRR의 발생은 50%까지 추가로 감소될 수 있었다. 이러한 투여 계획은 또한 첫 번째 주입 및 IRR이 발생하는 경우 (단지) IRR 이후 다음 1회 주입으로 전-투약의 최소화를 가능케 하였다. 이는, 전-투약, 특히 스테로이드가 Fuc- 세톡시맵의 중요한 기능인 NK-세포 및 ADCC 활성을 억제할 뿐 아니라, 대식세포 및 항신경 활성, 및 단핵구 수의 감소를 억제한다고 문헌에 기재되어 있으므로 중요하다. 더 적은 전-투약으로 치료된 환자에서 본 발명의 항-EGFR 항체는 또한 더 높은 항-종양 효능을 나타내었다.

[0416] 또한, 전체 임상 연구 동안, 전-투약 또는 개선된 투여 계획을 이용하여, 주입 관련 반응은 주로 첫 번째 주입 동안 관찰되었고 이는 단지 경증이거나 중간 정도의 중증도를 지남에 주목해야 한다 (1 또는 2등급). 또한, 치료되는 환자는 본 발명에 따른 항-EGFR 항체에 대해 알레르기 반응을 나타내지 않았다.

[0417] 이들 발견은 Fuc- 세톡시맵 주입에 의해 야기된 IRR이 파라세타몰과 같은 진통제를 이용한 사전 치료에 의해 및 /또는 첫 번째 용량 동안 최적화된 투여 스케줄을 이용함에 의해 예방될 수 있음을 나타낸다.

[0418] **실시예 6: 임상전 시험관내 및 생체내 연구에서 항원 EGFR에 대한 상이하게 푸코실화된 항체 변이체의 분석**

[0419] 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵 항체는 임상 연구를 수행하기에 앞서 여러 시험관내 및 생체내 연구에서 특성구명되었다. 특히, 또한 Fuc+ 세톡시맵 항체와의 비교가 수행되었다. 이러한 연구는 항원 EGFR에 대한 항체의 결합 및 항원 EGFR에 대한 이들의 효과, EGFR을 발현하는 상이한 종양 세포에 대한 이들의 생물학적 효과 (ADCC 포함), 및 생체내 종양 모델에서 이들의 효능을 포함하였다.

[0420] **항원 결합 검정**

[0421] Fuc- 세톡시맵 항체의 항원 결합을 측정하고 고정된 EGFR을 이용한 ELISA 검정에서 항체의 결합을 위한 EGFR-발현성 세포를 염색함으로써 세포 측정법에 의해 Fuc+ 세톡시맵과 비교하였다. 이러한 시험관내 검정에서, 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵 항체는 Fuc+ 세톡시맵의 결합과 유사한 EGFR에 대한 강력한 결합을 나타내었다.

[0422] **EGFR-발현성 세포에 대한 직접 효과**

[0423] EGFR을 발현하는 인간 종양 세포에서 EGFR 인산화를 억제하고 아포토시스를 유도하는 Fuc- 세톡시맵 및 Fuc+ 세톡시맵의 활성을 측정하였다. 리간드 결합에 의한 활성화시에, EGFR은 이합체화되고 자가인산화된다. 세톡시맵의 결합으로 인한 EGFR 활성화의 억제는 EGFR의 인산화의 감소를 측정함에 의해 분석될 수 있다. 이는 특이적 항체로 인산화된 EGFR을 염색함에 의해 측정되었다. 상기 분석은 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵은 물론 Fuc+ 세톡시맵이 EGFR-발현성 종양 세포주 A431 (음문의 인간 표피모양 암종 세포주) 세포 및 LS174T (인간 상피 결장 샘암종)에서 EGFR 인산화를 효과적으로 억제함을 나타내었다. 더욱이, 두 항체 모두는 EGFR-발현성 종양 세포에서 아포토시스를 유도할 수 있다. 이는 A431 세포를 항체와 접촉시킬 때 미토콘드리아 탈수소효소의 방출을 측정함에 의해 분석되었다. EGFR 인산화의 억제 및 아포토시스의 유도에 있어서 본 발명에 따른 Fuc-

세특시맵 뿐만 아니라 Fuc+ 세특시맵의 활성화는 유사한 것으로 나타났다.

[0424] ADCC 검정

[0425] 항체 Fc 도메인 내의 당화 부위 내의 푸코스 함량의 감소는 항원 양성 종양 세포의 특정 용해를 발생시키는 항체-의존성 세포 세포독성인 ADCC 활성의 증가를 발생시키는 것으로 보고되어 있다. 이러한 효과는 자연살세포 상의 Fc γ RIIIa 수용체에 대한 푸코스-감소된 항체의 더 높은 친화성 결합에 의해 야기된다. 아미노산 위치 158에서의 상기 수용체의 2개의 동종이형(V158F)은 F 대립유전자 수용체보다 인간 IgG1에 대해 더 높은 친화성을 갖는 V 대립유전자를 지닌 인간 IgG1에 대해 상이한 친화성을 갖는 것이 공지되어 있다. 따라서, 표적 세포로서 EGFR-양성 종양 세포주(LS174T, SKOV3, SK-BR3)를 이용한 유로폼 방출 검정을 이용하여 동형접합 VV, 동형접합 FF 및 이형접합 FV 공여체에 대한 Erbitux®에 비해 Fuc- 세특시맵의 ADCC 활성을 분석하였다.

[0426] 상기 결과는 Fuc- 세특시맵이 모든 공여체에 대해 Fuc+ 세특시맵에 비해 강력하게 향상된 ADCC 활성을 매개함을 나타낸다. Fuc- 세특시맵으로 달성된 최대 용해는 Fuc+ 세특시맵에 비해 현저하게 증가되었고 특이적 용해율을 달성하는데 필요한 Fuc- 세특시맵의 농도는 크게 감소한다. 이는 심지어 Fc γ RIIIa 수용체의 VF 또는 FF 유전형질을 갖는 공여체의 효과기 세포를 고려할 때 더욱 두드러진다.

[0427] 추가의 ADCC 검정에서, 인간 폐 샘암종 상피 세포주 A549의 세포를 표적 세포로서 이용하였다. 이러한 세포의 K-Ras 유전자는 코돈 12에 돌연변이를 포함하여 Gly-12-Ser 돌연변이를 갖는 항시적으로 활성인 K-Ras 단백질을 발생시킨다. 결과로서, 본 발명에 따른 Fuc- 세특시맵은 항시적으로 활성인 EGFR 신호 도입 경로를 포함하는, 즉 EGFR 리간드 결합을 차단함에 의해 치료될 수 없는 표적 암 세포에 대해서도 ADCC를 통한 표적 세포 용해를 유도할 수 있음이 입증되었다.

[0428] 생체내 약리학적 연구

[0429] Fuc- 세특시맵의 약리학적 효과를 조사하기 위해 마우스 및 시노물구스 원숭이에서 여러 생체내 연구를 수행하였고, 이들 중 일부는 Fuc+ 세특시맵과 비교하여 수행되었다. Fuc- 세특시맵의 항종양 활성은 인간 세포주(A431, DU145)로부터의 EGFR 양성 종양 세포가 이종이식된 무흉선 누드 마우스 또는 NSCLC (비-소세포 폐암) 및 CRC (결장직장암) 기원의 환자 유래된 암종 이종이식편에서 연구되었다.

[0430] Fuc- 세특시맵 및 Fuc+ 세특시맵, 두 항체 모두는 PBS 처리된 동물에 비해 종양 성장을 용량 의존적으로 억제하는 것이 관찰될 수 있었다. 어떠한 용량 그룹에서도 Fuc- 세특시맵 처리된 그룹 및 Fuc+ 세특시맵 처리된 그룹의 상대적인 종양 부피 간에 현저한 차이는 관찰되지 않았다. Fuc- 세특시맵의 증가된 ADCC 활성의 장점이 마우스에서 관련이 없으므로 (마우스는 인간과 같은 Fc γ RIIIa 동종이형 변이를 갖지 않는다) Fuc- 세특시맵 및 Fuc+ 세특시맵의 유사한 효능이 예상되었다.

[0431] 고도의 EGFR 발현성 종양 NSCLC #7466 및 CRC #8060를 갖는 마우스에 투여된 Fuc- 세특시맵을 이용한 치료는 강력한 종양 성장 억제 및 심지어 상당한 비율의 종양 관해를 발생시켰다. 더욱이, 본 발명에 따른 Fuc- 세특시맵은 지속적으로 활성인 K-RAS의 종양형성 G12D 돌연변이체를 지니는 종양 세포 CRC #8397 (환자-유래된 결장직장 암종 세포)의 성장을 효과적으로 억제하는 것이 입증되었다.

[0432] 입증된 대로, 본 발명에 따른 Fuc- 세특시맵은 종양 세포의 K-Ras 돌연변이 상태와 무관하게 종양 성장을 억제한다.

[0433] 실시예 7: 인간 혈액 세포에 대한 상이하게 푸코실화된 항체 변이체의 결합

[0434] 인체에서 상이하게 푸코실화된 항-EGFR 항체 변이체의 거동에서의 차이를 평가하기 위해, 다양한 인간 혈액 세포에 대한 상기 항체의 결합을 분석하였다. 이에 관해, 인간 혈액 세포를 Fuc- 세특시맵, Fuc+ 세특시맵 또는 또는 관련이 없는 인간 IgG1 항체로 염색하고 상이한 혈액 세포 유형에 대해 분류하였다. 간단히 말해, 일차 인간 혈액 세포 상에서 Fc 수용체에 대한 Fuc- 세특시맵 및 Fuc+ 세특시맵의 결합을 흐름 세포측정 분석으로 측정하였다. 동결된 PBMC를 해동시키고, 결합된 천연 항체를 표면에서 벗겨내어, 세포를 10 μ g/mL의 농도의 Fuc- 세특시맵, Fuc+ 세특시맵 또는 hIgG1 (음성 대조군으로서)와 함께 인큐베이션시켰다. 항체 결합을 인간 IgG Fab2 단편에 대해 유도된 Cy2-커플링된 Fab2 단편을 이용하여 검출하고, 세포를 상이한 세포 집단의 확인을 위해 특이적인 마커로 공동-염색하였다. 과립구를 건강한 지원자의 새로운 혈액 샘플로부터 Pluriselect-Kit CD15를 이용하여 정제하고 그에 따라 염색하였다. 전혈 및 바이오티닐화된 항체를 이용하여 혈소판의 분석을 수행하였다. 결과로서, Fuc- 세특시맵 및 Fuc+ 세특시맵 둘 모두가 단핵구 (CD14+) 및 혈소판 (CD61+)에 강하게 결합하는 한편, B 세포 (CD19+)에 대해서는 단지 매우 낮은 결합만이 관찰될 수 있는 것으로 나타났다. 그

러나, Fuc+ 세톡시맵과 대조적으로, Fuc- 세톡시맵은 또한 과립구 (CD66+) 및 NK 세포 (CD16+CD56+)에 강하게 결합한다 (도 3). 후자의 혈액 세포 유형, 특히 과립구 (CD66+) 및 NK 세포 (CD16+CD56+)에 대한 결합은 Fuc+ 세톡시맵과 비교해 볼 때 적어도 부분적으로 Fuc- 세톡시맵의 감소된 피부 부작용의 원인일 수 있다고 여겨진다. 이에 관해 Fuc- cetugex (유사하게 낮은 푸코실화 포함)와 유사한 Fc 당화 패턴을 갖는 대조군 항체가 Fuc- 세톡시맵에 비해 훨씬 낮은 과립구 결합을 나타내었다는 것은 놀라운 일이다. 혈액 샘플 중 과립구 (CD66+)의 약 20%만이 상기 대조군 Fuc- 항체에 의해 결합한 반면, Fuc- 세톡시맵은 과립구의 거의 100%에 결합한다. 따라서, 강력한 과립구 결합은 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵 항체의 특수한 특징이다.

[0435] 실시예 8: 상이하게 푸코실화된 항체 변이체의 과립구의 활성화

[0436] 과립구를 활성화시키는 항-EGFR 항체의 능력을 측정하기 위해, 반응성 산소 종의 생성 및 락토페린의 분비를 분석하였다. 과립구는 면역 자극에 의한 과립구의 활성화 이후 소위 탈과립화라 불리는 공정에 의해 방출되는 세포독성 분자의 혼합물을 함유하는 분비 소포인 과립을 형성한다. 과립에 함유된 세포독성 분자의 예는 독성 산소 화합물, 리소자임 및 락토페린의 형성에 관여하는 화합물이다. 따라서, 혈액 샘플의 상청액 중 반응성 산소 종 및 락토페린의 증가는 과립구의 활성화를 나타낸다. 간단히 말해, 전혈 샘플을 EGFR을 발현하는 표적 세포 (종양 세포주 A431 (음문의 인간 표피모양 암종 세포주))의 존재 또는 부재(대조군) 하에 Fuc- 세톡시맵 또는 Fuc+ 세톡시맵과 인큐베이션시켰다. 반응성 산소 종의 생성은 산화에 반응하는 염료의 첨가에 의해 모니터링된다. 산화된 염료의 양 뿐만 아니라 반응성 산소 종을 생성하는 세포의 수를 측정한다. 또한, 혈장 중 락토페린의 농도를 AssayPro의 AssayMax 인간 락토페린 ELISA 키트 (St. Charles, MO, USA)를 이용하여 분석한다.

[0437] 결과로서, 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵은 기초 활성화 (0 µg/ml 항체) 초과 상당한 수의 활성화된 과립구를 나타낸다 (도 4A). 가장 현저하게는, 반응성 산소 종의 생성은 대조군에 비해 약 7배 증가한다 (도 4B). 대조적으로, Fuc+ 세톡시맵 Fuc+ 세톡시맵은 어떤 반응성 산소 종도 유도하지 않는다. 게다가, 본 발명에 따른 Fuc- 세톡시맵은 또한 Fuc+ 세톡시맵 보다 약 2배 높은 락토페린 방출의 유도를 나타낸다 (도 5).

[0438] 수탁증 DSM ACC3078에 대해 PCT/RO/134 품에 따른 추가 설명

[0439] 출원인은 이에 의해 본 출원에 언급된 기탁된 물질의 샘플이 독립적인, 지명된 전문가에게만 제공될 수 있도록 개개 규정이 있는 국가에 요청한다 (특히 호주, 캐나다, 크로아티아, 덴마크, 핀란드, 독일, 아이슬란드, 노르웨이, 싱가포르, 스페인, 스웨덴, 영국, 유럽에서 이용가능한 "전문가 솔루션"의 요청).

[0440] 유럽의 경우, 출원인은 이에 따라 기탁된 생물학적 물질의 샘플이 특허증에 언급된 공개일까지 또는 출원이 거절 또는 철회되거나 철회된 것으로 간주된 경우 출원일로부터 20년 동안, 샘플을 요청한 사람에 의해 지명된 전문가에게 샘플의 등록에 의해서만, 규칙 33(1)(2) EPC에 제공된 바에 따라 이용가능하도록 요청한다 (Rule 32 EPC).

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

Glycotope GmbH
Robert-Rössle-Str. 10
13125 Berlin

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: GT-5s	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC3078
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: <input checked="" type="checkbox"/> a scientific description <input type="checkbox"/> a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depository Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 2010-07-28 (Date of the original deposit).	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depository Authority on _____ (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on _____ (date of receipt of request).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhofenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depository Authority or of authorized official(s): <i>V. Weiler</i> Date: 2010-08-10

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depository authority was acquired.
Form DSMZ-BP/4 (sole page) 08/2006

[0441]

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

Glycotope GmbH
Robert-Rössle-Str. 10
13125 Berlin

VIABILITY STATEMENT
issued pursuant to Rule 10.2 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. DEPOSITOR		II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Name: Glycotope GmbH Robert-Rössle-Str. 10 Address: 13125 Berlin		Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC3078 Date of the deposit or the transfer: 2010-07-28	
III. VIABILITY STATEMENT			
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 2010-07-28 ¹ . On that date, the said microorganism was <input checked="" type="checkbox"/> viable <input type="checkbox"/> no longer viable			
IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED ⁴			
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depository Authority or of authorized official(s): Date: 2010-08-10	

¹ Indicate the date of original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).
² In the cases referred to in Rule 10.2(a) (ii) and (iii), refer to the most recent viability test.
³ Mark with a cross the applicable box.
⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.

Form DSMZ-BP/9 (sole page) 08/2006

[0442]

수탁번호

[0443]

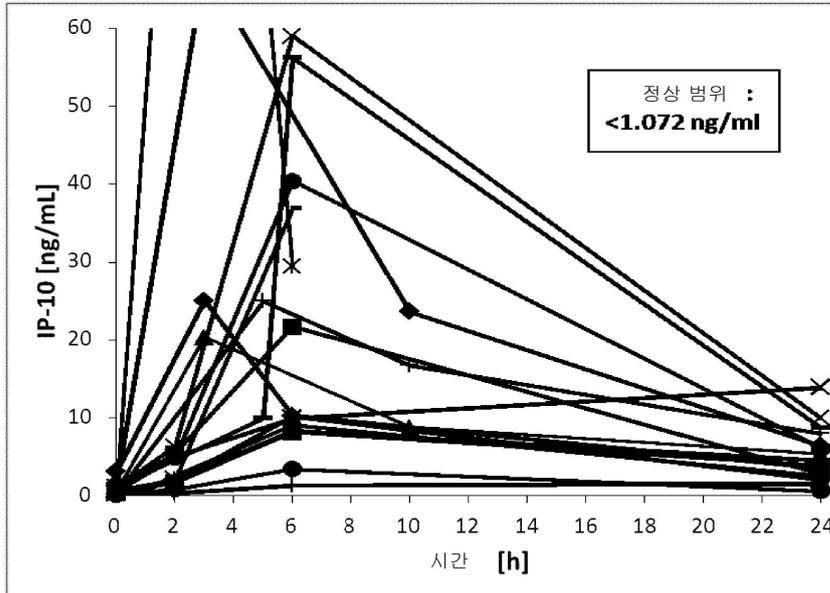
기탁기관명 : DSMZ

수탁번호 : DSMACC3078

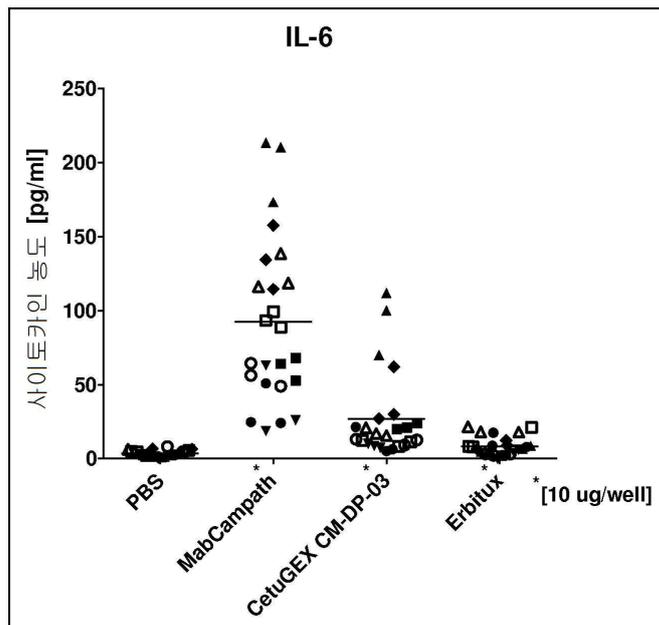
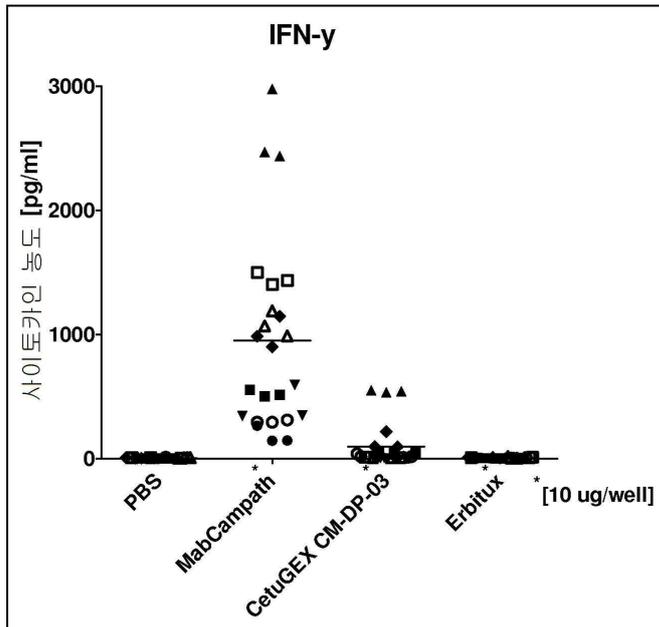
수탁일자 : 20100728

도면

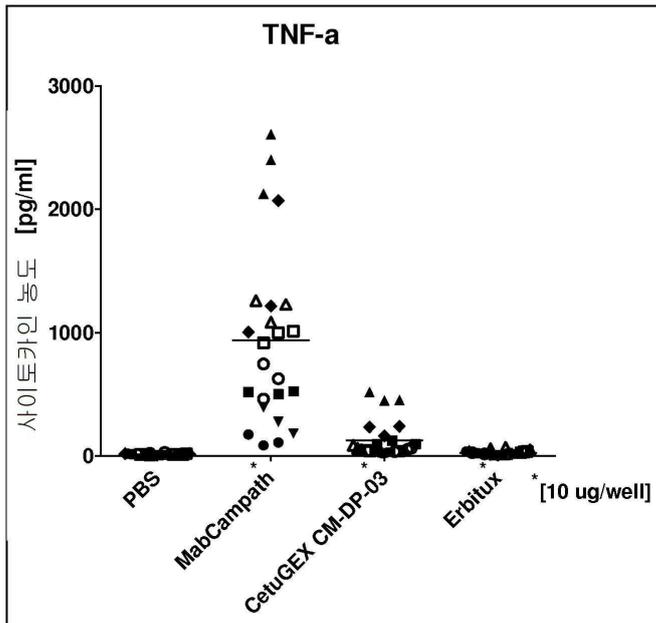
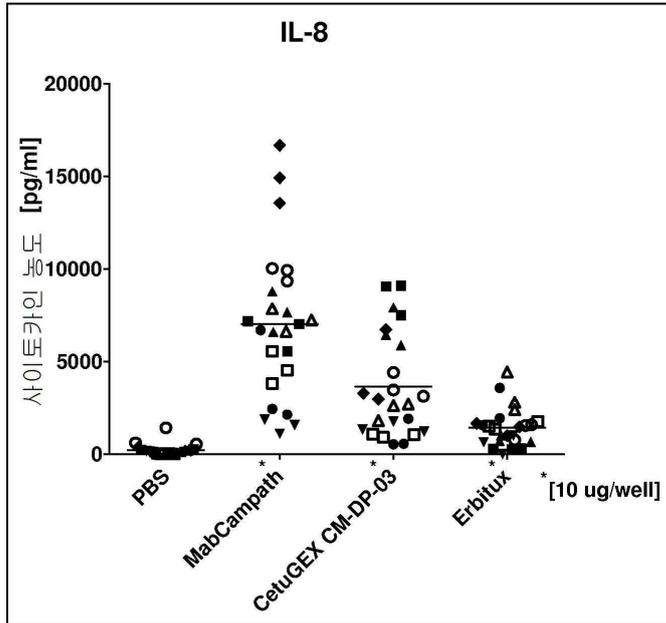
도면1



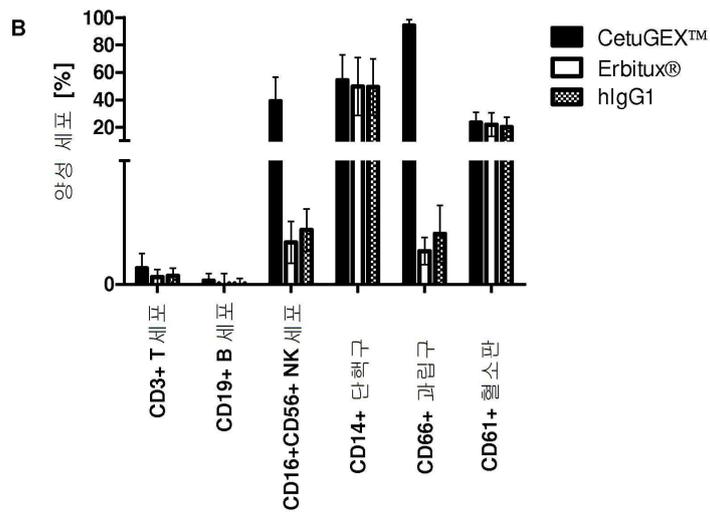
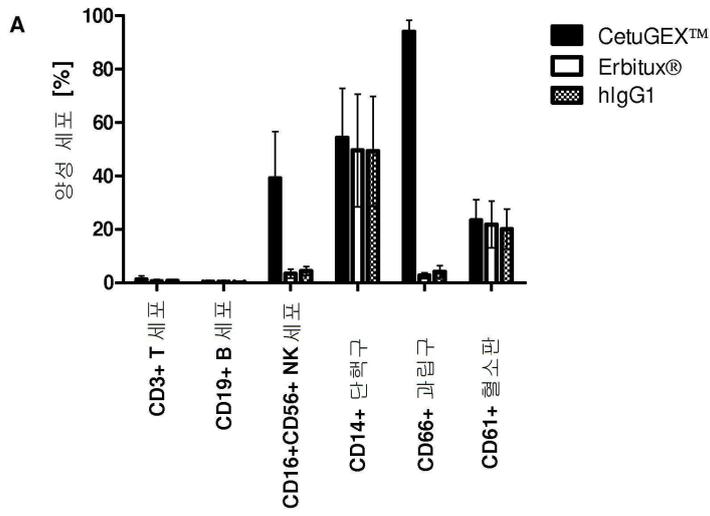
도면2a



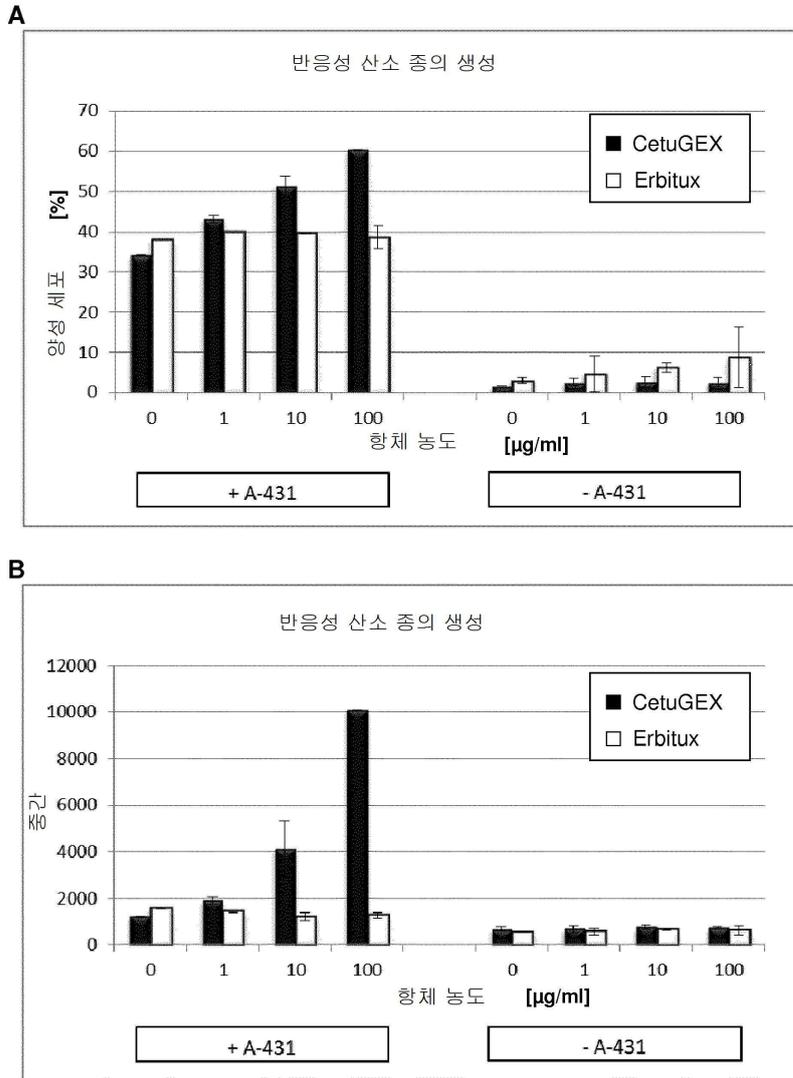
도면2b



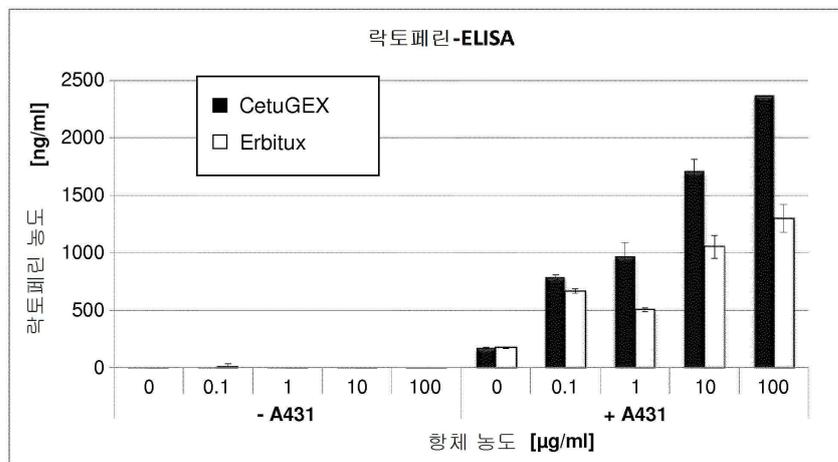
도면3



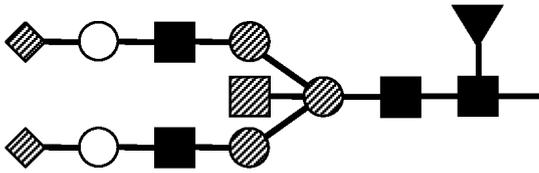
도면4



도면5



도면6



서열목록

SEQUENCE LISTING

```

<110> Glycotope GmbH
<120> Anti-cancer treatments with anti-EGFR antibodies having a low fucosylation
<130> 55 248 K
<150> EP 13 002 106.6
<151> 2013-04-22
<150> EP 13 002 108.2
<151> 2013-04-22
<160> 10
<170> BiSSAP 1.0
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<221> SOURCE
<222> 1..5
<223> /mol_type="protein"
        /note="CDRH1"
        /organism="Artificial Sequence"
<400> 1
Asn Tyr Gly Val His
1           5
<
210> 2
<211> 16
<212> PRT
    
```

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..16

<223> /mol_type="protein"

/note="CDRH2"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 2

Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser

1 5 10 15

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..11

<223> /mol_type="protein"

/note="CDRH3"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 3

Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..11

<223> /mol_type="protein"

/note="CDRL1"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn Ile His

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..7

<223> /mol_type="protein"

 /note="CDRL2"

 /organism="Artificial Sequence"

<400> 5

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..9

<223> /mol_type="protein"

 /note="CDRL3"

 /organism="Artificial Sequence"

<400> 6

Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr Thr

1 5

<210> 7

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..119

<223> /mol_type="protein"

/note="humanized heavy chain variable region"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 7

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Ile Ser Asn Tyr

 20 25 30

Gly Val His Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr

 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

 85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala

115

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..108

<223> /mol_type="protein"

/note="humanized light chain variable region"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 8

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
 20 25 30
 Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 9

<211> 119

<212> PRT

<213> artificial sequences

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..119

<223> /mol_type="protein"

 /note="mouse heavy chain variable region"

 /organism="artificial sequences"

<400> 9

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Val His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100

105