



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0048095
(43) 공개일자 2016년05월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 31/495 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
C07K 16/22 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/3955 (2013.01)
A61K 31/495 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2016-7005617
- (22) 출원일자(국제) 2014년08월29일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2015년03월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2014/053463
- (87) 국제공개번호 WO 2015/031782
국제공개일자 2015년03월05일
- (30) 우선권주장
61/872,165 2013년08월30일 미국(US)
62/004,687 2014년05월29일 미국(US)

- (71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
바이스, 카를로스
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코
디엔에이 웨이 1
버곤, 리차드
미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코
디엔에이 웨이 1
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이귀동

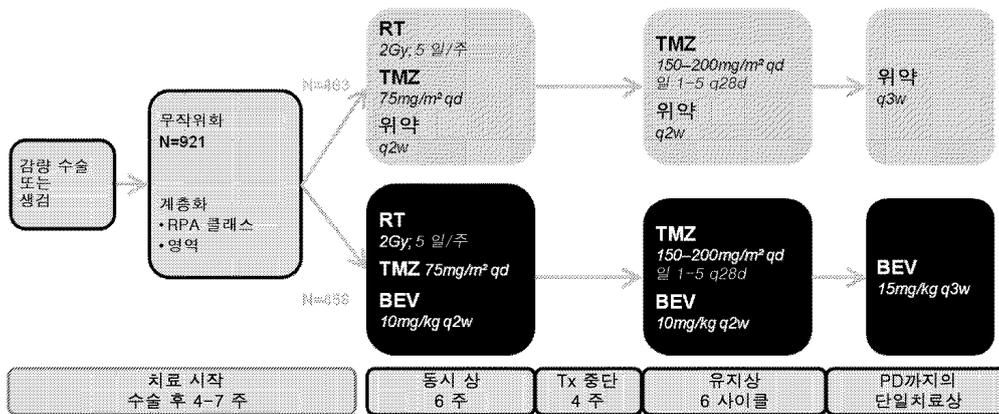
전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 **교모세포종을 치료하기 위한 병용 요법**

(57) 요약

본 발명은 교모세포종으로 진단된 환자의 치료 방법에 관한 것으로, 유효량의 항-VEGF 항체 및 화학치료제를 포함하는 요법을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/39541 (2013.01)

A61K 45/06 (2013.01)

C07K 16/22 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2300/00 (2013.01)

(72) 발명자

필립스, 하이디

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코

디엔에이 웨이 1

샌드만, 토마스

미국 94080-4990 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코

디엔에이 웨이 1

명세서

청구범위

청구항 1

교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법으로서,

유효량의 항-VEGF 항체, 유효량의 화학치료제, 및 유효량의 방사선요법을 포함하는 요법을 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하고,

상기 치료가, 항-VEGF 항체가 없는 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해, 상기 환자의 중앙값 전체 생존률 시간(median overall survival time)을 연장시키는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 환자가 2 이하의 WHO 수행 상태를 갖는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 화학치료제가 테모졸로마이드(TMZ)인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 테모졸로마이드(TMZ)가 150 mg/m^2 로 투여되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 5

청구항 3에 있어서, 상기 테모졸로마이드(TMZ)가 200 mg/m^2 로 투여되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 방사선요법이 2 Gy로 투여되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체가 A4.6.1 에피토프에 결합하는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체가 베바시주맙(bevacizumab)인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체가 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL)를 포함하고, 상기 가변 중쇄(VH)는 서열번호: 2의 아미노산 서열을 갖고 상기 가변 경쇄(VL)는 서열번호: 1의 아미노산 서열을 갖는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체의 유효량이 10 mg/kg (2주 마다 정맥 내로)인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 11

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체의 유효량이 15 mg/kg (3주 마다 정맥 내로)인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체의 유효량이 처음에는 90분에 걸쳐 정맥 내로 투여되고, 후속 주입은 60분, 그리고 이후 30분에 걸쳐 투여되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 13

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체가 제1 주기에 상기 환자에게 최초 투여되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 14

청구항 10에 있어서, 상기 항-VEGF 항체는 상기 화학치료제의 이전에 또는 이후에 후속 투여되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 15

청구항 1에 있어서, 상기 교모세포종이 전신경성(proneural) 하위유형인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 16

청구항 1에 있어서, 상기 교모세포종이 새롭게 진단된 교모세포종인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 17

청구항 1에 있어서, 상기 항-VEGF 항체가 상기 화학치료제와 동시에 투여되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 18

청구항 1에 있어서, 상기 중앙값 전체 생존률 시간이, 상기 항-VEGF 항체 없이 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해, 위험비(HR)가 0.42이고 약 4.9 개월 연장되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 19

청구항 1에 있어서, 상기 중앙값 전체 생존률 시간이, 상기 항-VEGF 항체 없이 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해, 위험비(HR)가 약 0.24 내지 약 0.72이고 약 4.9 개월 연장되는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 20

청구항 18 또는 19에 있어서, 상기 환자가 65세 미만인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 21

청구항 18 또는 19에 있어서, 상기 환자가 65세 이상인, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하는 방법.

청구항 22

유효량의 항-VEGF 항체, 화학치료제, 및 방사선요법의 용도로서,
항-VEGF 항체가 없는 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비하여, 교모세포종으로 진단된 환자의 중앙값 전체 생존률 시간을 연장하기 위한 약제의 제조에서의, 용도.

청구항 23

유효량의 항-VEGF 항체, 화학치료제, 및 방사선요법을 포함하는 조성물로서, 항-VEGF 항체가 없는 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비하여, 교모세포종으로 진단된 환자의 중앙값 전체 생존률 시간을 연장하기 위한 방법에서 사용하기 위한, 조성물.

청구항 24

키트로서, 본질적으로 에피토프 A4.6.1에 결합하는 항-VEGF 항체, 화학치료제, 및 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하기 위한 설명서로서, 유효량의 항-VEGF 항체 및 화학치료제를 상기 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 설명서를 갖는 패키지 삽입물 또는 라벨을 포함하고, 상기 환자는 2 이하의 이전 항암 레지멘을 투여받은 적이 있고, 상기 치료는 상기 항-VEGF 항체가 없는 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해 상기 환자의 중앙값 전체 생존 시간을 연장하는, 키트.

청구항 25

청구항 24에 있어서, 상기 항-VEGF 항체가 베바시주맙(bevacizumab)인, 키트.

청구항 26

청구항 24에 있어서, 상기 교모세포종이 전신경성 하위유형인, 키트.

청구항 27

청구항 24에 있어서, 상기 교모세포종이 새롭게 진단된 교모세포종인, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 항-VEGF 항체를 이용한 질환 및 병태의 치료에 관한 것이다. 더 구체적으로, 본 발명은 하나 이상의 추가 항종양 치료제와 조합된 항-VEGF 항체를 이용하여 교모세포종에 민감하거나 이로 진단된 인간 환자의 치료에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 신경아교종은 모든 악성 뇌 및 CNS 종양의 81%를 차지한다. 교모세포종(다형성 교모세포종(GBM); 세계보건기구(WHO) IV 등급 별아교세포종)은 특히 악성 신경아교종의 60% 내지 70%를 차지하며, 신경아교종의 가장 공격적인 하위유형으로 남아 있다. 이는 주로 성인(진단 시 중앙값 연령: 64 세)에서 발생하며, 그것의 발생률은 미국에서 3.05/100,000으로 추정된다. 1년 및 5년 전체 생존률은 각각 29% 및 3%이며, 교모세포종의 예후는 특히 나쁘게 남아 있다(미국 중추 뇌종양 레지스트리(2005)(CBTRUS; <http://www.cbtrus.org>)).

[0003] 교모세포종의 치료에 일부 진전이 있었으나, 상기 질환은 제한된 치료 선택권을 갖는, 크게 충족되지 않는 의료적 필요성을 나타낸다. 특히, 친-혈관신생 혈관 내피 성장 인자(VEGF)에 대해 표적화된 단클론성 항체인 베바시주맙(Avastin®)은 유의미한 치료 잠재성을 보유한다.

발명의 내용

[0004] 본 발명은 교모세포종으로 새롭게 진단된 환자를 포함하는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하기 위한 방법 및 키트를 제공한다.

[0005] 일 측면에서, 본 발명은 유효량의 항-VEGF 항체, 유효량의 화학치료제, 및 유효량의 방사선요법을 포함하는 요법을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 교모세포종으로 진단된 환자의 치료 방법을 제공하며, 여기서 상기 치료는 항-VEGF 항체가 없는 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해 환자의 중앙 전체 생존률(OS) 시간을 연장시킨다.

- [0006] 또 하나의 측면에서, 본 발명은 항-VEGF 항체가 없는 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해 교모세포종으로 진단된 환자의 중앙값 전체 생존률 시간을 연장하기 위한 약제의 제조에서 유효량의 항-VEGF 항체, 화학치료제, 및 방사선요법의 사용을 특징으로 한다.
- [0007] 또 하나의 측면에서, 본 발명은 항-VEGF 항체가 없는 상기 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해 교모세포종으로 진단된 환자의 중앙값 전체 생존률 시간의 연장 방법에서 사용하기 위한 유효량의 항-VEGF 항체, 화학치료제, 및 방사선요법을 포함하는 조성물을 특징으로 한다.
- [0008] 임의의 하나의 상기 측면의 일부 구현예에서, 환자는 2 이하의 WHO 수행 상태를 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 화학치료제는 테모졸로마이드(TMZ)일 수 있다. 일부 구현예에서, 유효량의 TMZ는 임의로 경구로 투여된 150 mg/m²일 수 있다. 일부 구현예에서, 유효량의 TMZ는 임의로 경구로 투여된 200 mg/m²일 수 있다. 일부 구현예에서, 방사선요법은 2 Gy로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-VEGF 항체는 A4.6.1 에피토프에 결합할 수 있다. 일부 구현예에서, 항-VEGF 항체는 베바시주맙일 수 있다. 일부 구현예에서, 항-VEGF 항체는 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL)를 포함할 수 있고, 여기서 상기 VH는 아미노산 서열

[0009] EVQLVESGGGLVQP...GSLRLS...CAAS GYFTFTNYGMN...VVRQAPGK...GLEWV...GWINTY...TGEPTYAADF

[0010] KRRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSH...WYFDVWGQ...GTLVTVSS (서열번호: 2)를 가질 수 있고, VL은 아미노산 서열 DIQMTQSPSS LSASV...GDRVT ITCSASQDIS

[0011] NYL...NWYQQKPGKAPK...VLIYFTSS...LHS GVPSRFSGSGSGTDFTLT...ISSLPEDFATY...YCQQYSTV

[0012] PWTFGQGT...KVEIKR (서열번호: 1)을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 유효량의 항-VEGF 항체는 임의로 2주마다 정맥내로 투여된 약 10 mg/kg(예를 들면, 10 mg/kg)일 수 있고, 예를 들면 90분에 걸쳐 초기에 정맥내로, 그리고 60 분 및 그 다음 30 분에 걸친 후속 주입으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 유효량의 항-VEGF 항체는 약 15 mg/kg(예를 들면, 15 mg/kg)일 수 있고 (임의로 2주마다 정맥내로 투여됨), 예를 들면 90분에 걸쳐 초기에 정맥내로, 그리고 60 분 및 그 다음 30 분에 걸친 후속 주입으로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 항-VEGF 항체는 제1 주기에 환자에게 최초 투여될 수 있고, 임의로, 항-VEGF 항체의 임의의 후속 투여는 화학치료제 전 또는 후일 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 항-VEGF 항체는 화학치료제, 및 임의로 방사선요법과 동시 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 환자에 대한 스테로이드의 투여는 중단될 수 있다. 일부 구현예에서, 교모세포종은 전신경성 하위유형이다. 일부 구현예에서, 교모세포종은 새롭게 진단된 교모세포종이다.
- [0013] 상술된 방법, 용도 및 조성물에서, 중앙값 OS 시간은, 항-VEGF 항체가 없는 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해, 위험비(HR)가 약 0.42이고 약 4.9 개월 연장될 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 중앙값 OS 시간은, 항-VEGF 항체가 없는 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해 위험비(HR)가 약 0.24 내지 약 0.72이고 약 4.9 개월 연장될 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 중앙값 OS 시간은, 항-VEGF 항체가 없는 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해, 위험비(HR)가 약 0.24 내지 약 0.72이고 적어도 5 개월 이상 개월 연장될 수 있다. 상술된 방법의 일부 구현예에서, 환자는 65세 미만일 수 있다. 상술된 방법의 다른 구현예에서, 환자는 65세 이상일 수 있다.
- [0014] 또 하나의 측면에서, 본 발명은 본질적으로 에피토프 A4.6.1에 결합하는 항-VEGF 항체, 화학치료제, 및 유효량의 항-VEGF 항체 및 화학치료제를 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 교모세포종으로 진단된 환자를 치료하기 위한 설명서를 갖는 패키지 삽입물 또는 라벨을 포함하는 키트를 제공하며, 여기서 상기 치료는 항-VEGF 항체가 없는 화학치료제를 투여받은 교모세포종 환자에 비해 환자의 중앙값 OS 시간을 연장시킨다. 상기 측면의 일부 구현예에서, 환자는 2 이하의 이전 항암 레지멘을 투여받았을 수 있다. 상기 측면의 일부 구현예에서, 항-VEGF 항체는 베바시주맙일 수 있다. 상기 측면의 일부 구현예에서, 교모세포종은 전신경성(proneural) 하위유형이다. 상기 측면의 일부 구현예에서, 교모세포종은 새롭게 진단된 교모세포종이다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 실시예 1에 더 상세히 개시된 2-군 III 상 연구 설계의 치료 순서를 나타내는 도식이다. 연구 치료는 교모세포종의 감량 수술 또는 생검 후 4 내지 7 주에 시작되었고, 3 개의 상이한 상(phase)이 포함되었다: 10 mg/kg의 베바시주맙 또는 위약이 테모졸로마이드(TMZ) 및 방사선요법과 조합되어 2주마다 투여된 다음 28 일 치료가 중단되는 동시 상(concurrent phase); 10 mg/kg의 베바시주맙 또는 위약이 TMZ와 조합되어 2주마다 투

여되는 유지 상(maintenance phase); 및 15 mg/kg의 베바시주맵 또는 위약이 질환 진행 전까지 3주 마다 투여되는 단일요법 상(monotherapy phase).

도 2a는 도 1에 개관된 III상 AvaGlio 시험의 위약 및 베바시주맵-치료군으로부터, 전신경성(PN) 유형의 교모세포종을 갖는 평가 환자의 무진행 생존(PFS)에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타내는 그래프이다. n = 99.

도 2b는 도 1에 개관된 III상 AvaGlio 시험의 위약 및 베바시주맵-치료군으로부터, 전신경성(PN) 유형의 교모세포종을 갖는 평가 환자의 전체 생존률(OS)에 대한 카플란 마이어 곡선을 나타내는 그래프이다. n = 99.

도 3은 다변량 분석에 의해 공지된 임상 예후 인자에 대해 조정된, III상 AvaGlio 시험 치료군으로부터, PN(n=95) 및 비-PN(n=235) 유형의 교모세포종을 갖는 환자의 OS를 나타내는 그래프이다. RT 및 화학요법 치료에 대한 베바시주맵의 부가는 IDH1 야생형 PN 교모세포종을 갖는 환자에 대해 OS 연장에 있어서 통계적으로 유의미한 이점을 부여하였다(HR: 0.42, 95% CI: 0.24-0.72, p=0.002; PN 하위유형 및 베바시주맵 치료 간 상호작용: p=0.012). n=10의 IDH1 돌연변이-양성 환자 및 공변량 정보가 없는 n=9의 환자는 다변량 Cox-비례 위험 분석에서 제외되었다. 도 3은 도 4a 및 4b에 나타낸 동일한 다변량 분석에 기반한 요약이다.

도 4a는 공지된 예후 공변량이 고려되는 경우, Phillips-분류된 PN 하위유형 교모세포종을 갖는 베바시주맵-치료 환자의 유의미한 OS 이점을 나타내는 그래프이다. *p < 0.5, **p < 0.05.

도 4b는 공지된 예후 공변량이 고려되는 경우, Phillips-분류된 비-PN 하위유형 교모세포종을 갖는 베바시주맵-치료 환자가 유의미한 OS 이점을 나타내지 않음을 나타내는 그래프이다. *p < 0.5, **p < 0.05.

도 5a는 공지된 예후 공변량이 고려되는 경우, TCGA-분류 PN 하위유형 교모세포종을 갖는 베바시주맵-치료 환자의 유의미한 OS 이점을 나타내는 그래프이다. *p < 0.5, **p < 0.05.

도 5b는 공지된 예후 공변량이 고려되는 경우, TCGA-분류 비-PN 하위유형 교모세포종을 갖는 베바시주맵-치료 환자가 유의미한 OS 이점을 나타내지 않음을 나타내는 그래프이다. *p < 0.5, **p < 0.05.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

I. 정의

[0016]

"항-혈관신생제" 또는 "혈관신생 억제제"는 직접적으로 또는 간접적으로 혈관신생, 맥관형성, 또는 바람직하지 않은 혈관 투과도를 억제하는 소분자량 물질, 폴리뉴클레오타이드, 폴리펩타이드, 단리된 단백질, 제조합 단백질, 항체, 또는 이들의 콘주게이트 또는 융합 단백질을 나타낸다. 항-혈관신생제에는 혈관신생 인자 또는 그 수용체에 결합하고 혈관신생 활성을 차단하는 제제가 포함됨이 이해되어야 한다. 예를 들면, 항-혈관신생제는 명세서에 걸쳐 정의된 또는 당해기술에 공지된 혈관신생제에 대한 항체 또는 다른 길항제, 예를 들면 비제한적으로 VEGF-A 또는 VEGF-A 수용체(예를 들면, KDR 수용체 또는 Flt-1 수용체)에 대한 항체, VEGF-트랩, 항-PDGF 억제제, 예컨대 Gleevec™(이마티닙 에실레이트)이다. 항-신생혈관제에는 또한 원상태 혈관신생 억제제, 예를 들면 안지오테닌, 엔도스타틴 등이 포함된다. 예를 들면, [Klagsbrun and D'Amore, Annu. Rev. Physiol., 53:217-39(1991); Streit and Detmar, Oncogene, 22:3172-3179(2003)(예를 들면, 악성 흑색종에서의 항-혈관신생 요법을 기재하는 표 3); Ferrara & Alitalo, Nature Medicine 5:1359-1364(1999); Tonini 등, Oncogene, 22:6549-6556(2003)(예를 들면, 공지된 항혈관신생 인자를 기재하는 표 2); 및 Sato. Int. J. Clin. Oncol., 8:200-206(2003)(예를 들면, 표 1은 임상시험에서 사용된 항-신생혈관제를 기재함)]를 참조하라.

[0017]

[0018]

본원에서 용어 "항체"는 가장 넓은 개념에서 사용되며, 이들이 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 한, 비제한적으로 단클론성 항체, 다클론성 항체, 다중특이적 항체(예를 들면, 이중특이적 항체), 및 항체 단편을 포함하는 다양한 항체 구조를 포괄한다.

[0019]

용어 "VEGF" 또는 "VEGF-A"는, 예를 들면 [Leung 등, Science, 246:1306(1989), 및 Houck 등, Mol. Endocrin., 5:1806(1991)]에 기재된 바와 같이, 천연 발생 대립유전자 및 이들의 가공된 형태와 함께 165-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자 및 관련된 121-, 145-, 189-, 및 206-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자를 나타내기 위해 사용된다. VEGF-A는 VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, 및 PlGF를 포함하는 유전자 패밀리의 일부이다. VEGF-A는 주로 2 개의 고 친화도 수용체 티로신 키나제, VEGFR-1(Flt-1) 및 VEGFR-2(Flk-1/KDR)에 결합하며, 후자는 VEGF-A의 혈관 내피 세포 미토겐성 신호의 주요 전달물질이다. 추가로, 뉴로핀-1은 헤파린-결합 VEGF-A 이소형에 대한 수용체로 확인되었고, 혈관 발생에서 역할을 담당할 수 있다. 용어 "VEGF" 또는 "VEGF-A"는 또한 비-인간 종, 예컨대 마우스, 랫트, 또는 영장류로부터의 VEGF들을 나타낸다. 때때로 특정 종으

로부터의 VEGF는 인간 VEGF에 대해 hVEGF 또는 쥐과 VEGF에 대해 mVEGF와 같은 용어로 명시된다. 전형적으로, VEGF는 인간 VEGF를 나타낸다. 용어 "VEGF"는 또한 165-아미노산 인간 혈관 내피 세포 성장 인자의 아미노산 8 내지 109 또는 1 내지 109를 포함하는 폴리펩타이드의 끝이 잘린 형태 또는 단편을 나타내기 위해 사용된다. 임의의 그와 같은 형태의 VEGF에 대한 언급은 출원에서, 예를 들면 "VEGF(8-109)", "VEGF(1-109)" 또는 "VEGF165"로 확인될 수 있다. "끝이 잘린" 원상태 VEGF에 대한 아미노산 위치는 원상태 VEGF 서열에서 명시된 바와 같이 넘버링된다. 예를 들면, 끝이 잘린 원상태 VEGF에서 아미노산 위치 17(메티오닌)은 또한 원상태 VEGF에서의 위치 17(메티오닌)이다. 끝이 잘린 원상태 VEGF는 KDR 및 Flt-1 수용체에 대해 원상태 VEGF와 필적하는 결합 친화도를 갖는다.

[0020] "항-VEGF 항체"는 충분한 친화도 및 특이성으로 VEGF에 결합하는 항체이다. 선택된 항체는 보통 VEGF에 대한 결합 친화도를 가질 것이다, 예를 들면 항체는 100 nM 내지 1 pM의 Kd 값으로 hVEGF에 결합할 수 있다. 항체 친화도는, 예를 들면 표면 플라즈몬 공명 기반 분석(예컨대 PCT 출원 공개 번호 WO2005/012359에 기재된 BIAcore 분석); 효소-결합 면역흡착제 분석(ELISA); 및 경쟁 분석(예를 들면 RIA)에 의해 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항-VEGF 항체는 상기 VEGF 활성이 관여되는 질환 또는 병태의 표적화 및 간섭에서 치료제로 사용될 수 있다. 또한, 항체는, 예를 들면 치료제로서의 그 유효성을 평가하기 위해, 다른 생물학적 활성 분석을 거칠 수 있다. 그와 같은 분석은 당해기술에 공지되어 있고 항체에 대한 표적 항원 및 의도된 용도에 의존한다. 그 예에는 HUVEC 억제 분석; 종양 세포 성장 억제 분석(예를 들면, WO 89/06692에 기재됨); 항체-의존적 세포성 세포독성(ADCC) 및 보체-매개된 세포독성(CDC) 분석(미국 특허 번호 5,500,362); 및 작용 활성 또는 조혈 분석(WO 95/27062 참고)이 포함된다. 항-VEGF 항체는 보통 다른 VEGF 동족체, 예컨대 VEGF-B 또는 VEGF-C에도, 다른 성장 인자, 예컨대 PlGF, PDGF 또는 bFGF에도 결합하지 않을 것이다.

[0021] "rhuMAb VEGF" 또는 "Avastin®"으로도 공지된 항-VEGF 항체 "베바시주맵(BV 또는 Bev)"은 [Presta 등, *Cancer Res.* 57:4593-4599(1997)]에 따라 산출된 재조합 인간화 항-VEGF 단클론성 항체이다. 이는 돌연변이된 인간 IgG1 프레임워크 영역 및 그 수용체에 대한 인간 VEGF의 결합을 차단하는 쥐과 항-hVEGF 단클론성 항체 A.4.6.1로부터의 항원-결합 상보성-결정 영역을 포함한다. 대부분의 프레임워크 영역을 포함하는 베바시주맵 아미노산 서열의 대략 93%는 인간 IgG1에서 유도되며, 서열의 약 7%는 쥐과 항체 A.4.6.1에서 유도된다. 베바시주맵은 약 149,000 달톤의 분자량을 가지며 당화된다. 다른 항-VEGF 항체에는 미국 특허 번호 6,884,879 및 WO 2005/044853에 기재된 항체가 포함된다.

[0022] "에피토프 A.4.6.1"은 항-VEGF 항체 베바시주맵(AVASTIN®)에 의해 인식된 에피토프를 나타낸다(Muller 등, *Structure.* 6: 1153-1167, 1998 참고). 본 발명의 특정 구현예에서, 항-VEGF 항체에는 비제한적으로 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생성된 단클론성 항-VEGF 항체 A.4.6.1과 동일한 에피토프에 결합하는 단클론성 항체; Presta 등(*Cancer Res.* 57: 4593-4599, 1997)에 따라 산출된 재조합 인간화 항-VEGF 단클론성 항체가 포함된다.

[0023] 본 발명에 따른 "기능적 에피토프"는 항체로의 결합에 정력적으로 기여하는 항원의 아미노산 잔기를 나타낸다. 항원의 임의의 하나의 정력적으로 기여하는 잔기의 돌연변이(예를 들면, 알라닌 또는 동족체 돌연변이에 의한 야생형 VEGF의 돌연변이)는 항체의 상대 친화도 비(변이체 VEGF의 IC50/야생형 VEGF의 IC50)가 5를 초과하도록 항체의 결합을 손상시킬 것이다(WO2005/012359의 실시예 2 참고). 일 구현예에서, 상대 친화도 비는 용액 결합 파아지 디스플레이 ELISA에 의해 결정된다. 간단히, 96-웰 Maxisorp 면역플레이트(NUNC)를 PBS 중 2 µg/ml의 농도에서 시험될 항체의 Fab 형태로 4°C에서 밤새 코팅하고, 실온에서 2 시간 동안 PBS, 0.5% BSA, 및 0.05% Tween20(PBT)으로 차단한다. PBT 중 hVEGF 알라닌 점 변이체(잔기 8-109 형태) 또는 야생형 hVEGF(8-109)를 디스플레이하는 파아지의 연속 희석물을 먼저 실온에서 15 분 동안 Fab-코팅된 플레이트 상에서 인큐베이션하고, 플레이트를 PBS, 0.05% Tween20(PBST)으로 세정하였다. 결합된 파아지를 PBT 중 1:5000 희석된 항-M13 단클론성 항체 홀스래디쉬 페록시다아제(Amersham Pharmacia) 콘주게이트로 검출하고, 대략 5 분 동안 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB, Kirkegaard & Perry Labs, Gaithersburg, Md.) 기질로 발색하고, 1.0 M H3PO4로 켄칭하고, 450 nm에서 분광광도법으로 판독한다. IC50 값의 비(IC50, ala/IC50, wt)는 결합 친화도(상대 결합 친화도)에서의 감소 배율을 나타낸다.

[0024] 항-VEGF 항체 라니바이주맵 또는 LUCENTIS® 항체 또는 rhuFab V2는 인간화되고, 친화도-성숙된 항-인간 VEGF Fab 단편이다. 라니바이주맵은 에스케리치아 콜리 발현 벡터 및 박테리아 발효에서의 표준 재조합 기술 방법으로 생성된다. 라니바이주맵은 당화되지 않으며 ~48,000 달톤의 분자량을 갖는다. WO 98/45331 및 US 2003/0190317을 참조하라.

- [0025] "단리된" 항체는 그 천연 환경의 성분에서 확인되고 분리된 및/또는 회수된 것이다. 그 천연 환경의 오염물질 성분은 항체에 대한 연구, 진단적 또는 치료적 사용을 방해할 물질이며, 효소, 호르몬, 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질이 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 항체는 (1) 예를 들면, Lowry 방법에 의해 결정된 항체의 95 중량% 초과로, 일부 구현예에서 99 중량% 초과로; (2) 예를 들면, 회전 컵 시퀀시미터를 이용해서 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15 개 잔기를 획득하기 충분한 정도로, 또는 (3) 예를 들면, 쿠마씨 블루 또는 은 염색을 이용해서 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의해 균질성까지 정제된다. 항체의 천연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않을 것이므로, 단리된 항체에는 제조할 세포 내 원 위치 항체가 포함된다. 그러나 대개, 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.
- [0026] "원상태(native) 항체"는 보통 2 개의 동일한 경쇄(L) 및 2 개의 동일한 중쇄(H)로 이루어진 약 150,000 달톤의 헤테로사량체 당단백질이다. 각각의 경쇄는 하나의 공유 디설파이드 결합에 의해 중쇄에 연결되는 반면, 디설파이드 연결의 수는 상이한 면역글로불린 이소형의 중쇄 간에 변한다. 각각의 중쇄 및 경쇄는 또한 규칙적으로 이격된 사슬내 디설파이드 브릿지를 갖는다. 각각의 중쇄는 하나의 말단에 가변 도메인(V_H)에 이어 수많은 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 하나의 말단에 가변 도메인(V_L) 그리고 그 다른 말단에 불변 도메인을 갖는다; 경쇄의 불변 도메인은 중쇄의 제1 불변 도메인과 정렬되며, 경쇄 가변 도메인은 중쇄의 가변 도메인과 정렬된다. 특정한 아미노산 잔기가 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 간 인터페이스를 형성하는 것으로 여겨진다.
- [0027] 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노-말단 도메인을 나타낸다. 중쇄의 가변 도메인은 "VH"로 불릴 수 있다. 경쇄의 가변 도메인은 "VL"로 불릴 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로 항체의 가장 가변적인 부분이며, 항원-결합 부위를 포함한다.
- [0028] 용어 "가변"은 가변 도메인의 특정 부분이 항체 간에 서열이 광범위하게 상이하며, 그 특정한 항원에 대한 각각의 특정한 항체의 결합 및 특이성에서 이용된다는 점을 나타낸다. 그러나 가변성은 항체의 가변 도메인에 걸쳐 고르게 분포되지는 않는다. 이는 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 모두에서 초가변성 영역(HVR)으로 불리는 3 개 세그먼트에 집중된다. 가변 도메인의 보다 고도로 보존된 부분은 프레임워크 영역(FR)으로 불린다. 원상태 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 대부분 베타-시트 입체배치를 채용하며, 베타-시트 구조를 연결하고 일부 경우에서 그 일부를 형성하는 루프를 형성하는 3 개의 HVR에 의해 연결된 4 개의 FR 영역을 포함한다. 각 사슬에서 HVR은 FR 영역에 의해 가까운 부근에서 함께 유지되며, 다른 사슬로부터의 HVR과 함께 항체의 항원-결합 부위 형성에 기여한다(Kabat 등, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD(1991) 참고). 불변 도메인은 항원에 대한 항체 결합에 직접적으로 관여되지는 않지만, 다양한 효과기 기능, 예컨대 항체-의존적 세포성 독성에서의 항체 참여를 나타낸다.
- [0029] 임의의 척추동물 종으로부터의 항체(면역글로불린) "경쇄"는 그것의 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반하여, 카파(κ) 및 람다(λ)로 불리는 2 개의 명확히 구별되는 유형 중 하나에 배정될 수 있다.
- [0030] 이들의 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 항체(면역글로불린)는 상이한 클래스로 배정될 수 있다. 면역글로불린에는 5 개의 주요 클래스: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이 있으며, 이들 중 몇몇은 서브클래스(이소형), 예를 들면 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, 및 IgA₂로 추가 구분될 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 대응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 α , δ , ϵ , γ 및 μ 로 불린다. 상이한 클래스의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 입체배치는 잘 알려져 있고, 일반적으로 예를 들면 [Abbas 등, *Cellular and Mol. Immunology*, 4th ed.(W. B. Saunders, Co., 2000)]에 기재되어 있다. 항체는 하나 이상의 다른 단백질 또는 펩타이드와 항체의 공유 또는 비-공유 회합에 의해 형성된 더 큰 융합 분자의 일부일 수 있다.
- [0031] 본원에서 사용된 용어들 "전장 항체", "온전한 항체" 및 "전체 항체"는 상호교환적으로 아래에서 정의된 바와 같이 항체 단편이 아닌 그 실질적으로 온전한 형태의 항체를 나타낸다. 용어들은 특히 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 갖는 항체를 나타낸다.
- [0032] "항체 단편"은 바람직하게는 이들의 항원-결합 영역을 포함하는 온전한 항체의 일부를 포함한다. 항체 단편의 예에는 Fab, Fab', F(ab')₂, 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체; 단일-사슬 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체가 포함된다.
- [0033] 항체의 파파인 소화는 각각 단일 항원-결합 부위를 갖는 "Fab" 단편으로 불리는 2 개의 동일한 항원-결합 단편 및 그 명칭이 쉽게 결정화하는 그 능력을 반영하는 잔여 "Fc" 단편을 생성한다. 펩신 처리는 2 개의 항원-결합 부위를 가지며 여전히 항원과 가교결합할 수 있는 F(ab')₂ 단편을 산출한다.

- [0034] "Fv"는 완전한 항원-결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 일 구현예에서, 2-사슬 Fv 중은 밀접한 비-공유 회합으로 1 개의 중쇄 및 1 개의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 구성된다. 단일-사슬 Fv(scFv) 중에서, 1 개의 중쇄 및 1 개의 경쇄 가변 도메인은 경쇄 및 중쇄가 2-사슬 Fv 중에서와 비슷한 "이량체" 구조로 회합할 수 있도록 가요성 펩타이드 링커에 의해 공유 결합될 수 있다. 이는 상기 입체배지에서 각각의 가변 도메인의 3 개의 HVR은 VH-VL 이량체의 표면 상에서 항원-결합 부위를 정의하도록 상호작용한다. 총괄적으로, 6 개의 HVR은 항체에 대한 항원-결합 특이성을 부여한다. 그러나, 전체 결합 부위에 비해 더 낮은 친화도에서지만, 단일 가변 도메인(또는 항원에 대해 특이적인 3 개의 HVR만을 포함하는 Fv의 절반)도 항원을 인식하고 결합하는 능력을 갖는다.
- [0035] Fab 단편은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함하며, 또한 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH1)을 포함한다. Fab' 단편은 항체-힌지 영역으로부터의 하나 이상의 시스테인을 포함하는 중쇄 CH1 도메인의 카복시 말단에서 소수 잔기의 부가에 의해 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 자유 티올 그룹을 보유하는 Fab'에 대해 본원에서 지정된다. F(ab')₂ 항체 단편은 본래 이들 사이에 힌지 시스테인을 갖는 Fab' 단편의 쌍으로 생성되었다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링도 공지되어 있다.
- [0036] "단일-사슬 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함하며, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩타이드 사슬에 존재한다. 일반적으로, scFv 폴리펩타이드는 scFv가 항원 결합을 위해 바람직한 구조를 형성할 수 있도록 VH 및 VL 도메인 간에 폴리펩타이드 링커를 추가로 포함한다. scFv의 검토에 대해서는, 예를 들면 [Pluckthuen, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds.(Springer-Verlag, New York: 1994), pp 269-315]를 참조하라.
- [0037] 용어 "디아바디"는 2 개의 항원-결합 부위를 갖는 항체 단편을 나타내며, 이 단편은 동일한 폴리펩타이드 사슬(VH-VL)에서 경쇄 가변 도메인(VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인(VH)을 포함한다. 동일한 사슬 상에서 2 개의 도메인 간 페어링을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 이용함으로써, 도메인은 또 하나의 사슬의 상보적 도메인과 쌍을 이루고 2 개의 항원-결합 부위를 생성하도록 유도된다. 디아바디는 2가(bivalent) 또는 이중특이적일 수 있다. 디아바디는, 예를 들면 [EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson 등, *Nat. Med.* 9:129-134(2003); 및 Hollinger 등, *PNAS USA* 90: 6444-6448(1993)]에서 보다 자세히 기재되어 있다. 트리아바디 및 테트라바디는 또한 [Hudson 등, *Nat. Med.* 9:129-134(2003)]에 기재되어 있다.
- [0038] 용어 "단클론성 항체"는 본원에서 사용된 바와 같이 실질적으로 균질한 항체 집단에서 수득된 항체를 나타내며, 즉 집단을 이루는 개체 항체는 가능한 돌연변이, 예를 들면 소량으로 존재할 수 있는 친연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 따라서, 수식어 "단클론성"은 구별되는 항체의 혼합물이 아닌 항체의 특징을 나타낸다. 특정 구현예에서, 그와 같은 단클론성 항체에는 전형적으로 표적에 결합하는 폴리펩타이드 서열을 포함하는 항체가 포함되며, 여기서 상기 표적 결합 폴리펩타이드 서열은 복수의 폴리펩타이드 서열로부터의 단일 표적 결합 폴리펩타이드 서열의 선택이 포함되는 방법에 의해 수득되었다. 예를 들면, 선택 방법은 복수의 클론, 예컨대 하이브리도마 클론, 파아지 클론, 또는 재조합 DNA 클론의 풀로부터의 독특한 클론의 선택일 수 있다. 선택된 표적 결합 서열이, 예를 들면 표적에 대한 친화도를 향상하기 위해, 표적 결합 서열을 인간화하기 위해, 세포 배양에서 그 생성을 향상하기 위해, 생체내 그 면역원성을 감소시키기 위해, 다중특이적 항체를 생성하기 위해 등등 추가 변경될 수 있으며, 변경된 표적 결합 서열을 포함하는 항체가 또한 본 발명의 단클론성 항체라는 것이 이해되어야 한다. 전형적으로 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체가 포함되는 다클론성 항체 제조물과는 대조적으로, 단클론성-항체 제조물의 각각의 단클론성 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 유도된다. 이들의 특이성에 부가하여, 단클론성-항체 제조물은 이들이 전형적으로 다른 면역글로불린에 의해 오염되지 않는다는 점에서 유리하다.
- [0039] 수식어 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질한 집단 항체으로부터 수득되는 항체의 특징을 나타내며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체 생성을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는다. 예를 들면, 본 발명에 따라 사용될 단클론성 항체는, 예를 들면 하이브리도마 방법(예를 들면, Kohler and Milstein., *Nature* 256:495-497(1975); Hongo 등, *Hybridoma* 14(3):253-260(1995), Harlow 등, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling 등, in: *Monoclonal Antibodies and T-cell Hybridoma* 563-681(Elsevier, N.Y., 1981)), 재조합 DNA 방법(예를 들면, 미국 특허 번호 4,816,567 참고), 파아지-디스플레이 기술(예를 들면, Clackson 등, *Nature* 352:624-628(1991); Marks 등, *J. Mol. Biol.* 222:581-597(1992); Sidhu 등, *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310(2004); Lee 등, *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093(2004); Fellouse, *PNAS USA* 101(34):12467-12472(2004); 및 Lee 등, *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132(2004) 참

고)을 포함하는 다양한 기술, 및 인간 면역글로불린 유전자위 또는 인간 면역글로불린 서열을 인코딩하는 유전자의 전부 또는 일부를 갖는 동물에서 인간 또는 인간-유사 항체를 생성하는 기술(예를 들면, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits 등, *PNAS USA* 90: 2551(1993); Jakobovits 등, *Nature* 362: 255-258(1993); Bruggemann 등, *Year in Immunol.* 7:33(1993); 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016; Marks 등, *Bio/Technology* 10:779-783(1992); Lonberg 등, *Nature* 368:856-859(1994); Morrison, *Nature* 368:812-813(1994); Fishwild 등, *Nature Biotechnol.* 14:845-851(1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.* 14:826(1996); 및 Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93(1995) 참고)에 의해 제조될 수 있다.

[0040] 본원에서 단클론성 항체에는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 종에서 유도되거나 특정한 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체에서의 대응 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라성" 항체가 포함되는 반면, 나머지 사슬(들)은 이들이 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 또 하나의 종에서 유도되거나 또 하나의 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체뿐만 아니라 그와 같은 항체의 단편에서의 대응 서열과 동일하거나 상동성이다 (예를 들면, 미국 특허 번호 4,816,567 및 Morrison 등, *PNAS USA* 81:6851-6855(1984)). 키메라성 항체에는 PRIMATIZED® 항체가 포함되며, 여기서 항체의 상기 항원-결합 영역은, 예를 들면 관심 항원으로 마카크 원숭이를 면역화하여 생성된 항체로부터 유도된다.

[0041] 비-인간(예를 들면, 쥐과) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 면역글로불린에서 유도된 최소 서열을 포함하는 키메라성 항체이다. 일 구현예에서, 인간화 항체는 수령체의 HVR로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도, 및/또는 수용력을 갖는 비-인간 중(공여체 항체), 예컨대 마우스, 랫트, 토끼, 또는 비인간 영장류의 HVR로부터의 잔기로 대체되는 인간 면역글로불린(수령체 항체)이다. 일부 예에서, 인간 면역글로불린의 FR 잔기는 대응하는 비-인간 잔기에 의해 대체한다. 더욱이, 인간화 항체는 수령체 항체 또는 공여체 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 추가 정련하기 위해 제조될 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 및 전형적으로 2 개의 가변 도메인 중 실질적으로 모두를 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 추가변성 루프는 비-인간 면역글로불린의 루프에 대응하며, 모든 또는 실질적으로 모든 FR은 인간 면역글로불린 서열의 FR이다. 인간화 항체는 임의로 또한 전형적으로 인간 면역글로불린의, 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 적어도 일부를 포함할 것이다. 추가 세부사항에 대해서는, 예를 들면 [Jones 등, *Nature* 321:522-525(1986); Riechmann 등, *Nature* 332:323-329(1988); 및 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596(1992)]를 참조하라. 또한, 예를 들면, [Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115(1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038(1995); Hurlle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433(1994); 및 미국 특허 번호 6,982,321 및 7,087,409]를 참조하라.

[0042] "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체에 대응하고/하거나 본원에서 개시된 바와 같은 인간 항체를 제조하기 위한 임의의 기술을 이용해서 제조된 아미노산 서열을 보유하는 것이다. 인간 항체의 상기 정의에는 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체가 배제된다. 인간 항체는 파아지-디스플레이 라이브러리를 포함하는 당해 기술에 공지된 다양한 기술을 이용해서 생성될 수 있다. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381(1991); Marks 등, *J. Mol. Biol.* 222:581(1991). 또한 인간 단클론성 항체의 제조를 위해 [Cole 등, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77(1985); Boerner 등, *J. Immunol.* 147(1):86-95(1991)]에 기재된 방법이 이용 가능하다. 또한 [van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-374(2001)]를 참조하라. 인간 항체는 항원 유발접종에 반응하여 그와 같은 항체를 생성하기 위해 개질되었지만, 그 내인성 유전자위가 불활성화된 형질전환(transgenic) 동물, 예를 들면 면역화된 제노마우스(예를 들면, XENOMOUSE™ 기술에 관한 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584 참고)에 항원을 투여하여 제조될 수 있다. 또한, 예를 들면 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 산출된 인간 항체에 관한 [Li 등, *PNAS USA* 103:3557-3562(2006)]를 참조하라.

[0043] 본원에서 사용되는 용어 "초가변성 영역", "HVR" 또는 "HV"는 서열이 초가변성이고/이거나 구조적으로 정의된 루프를 형성하는 항체-가변 도메인 영역을 나타낸다. 일반적으로, 항체는 6 개의 HVR; VH에 3 개(H1, H2, H3), 및 VL에 3 개(L1, L2, L3)를 포함한다. 원상태 항체에서, H3 및 L3은 6 개 HVR의 가장 큰 다양성을 나타내며, H3은 특히 항체에 대해 미세한 특이성을 부여하는데 있어서 독특한 역할을 담당하는 것으로 여겨진다. 예를 들면, [Xu 등, *Immunity* 13:37-45(2000); Johnson and Wu in *Methods in Molecular Biology* 248:1-25(Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003)]를 참조하라. 사실상, 중쇄만으로 구성된 천연 발생 낙타과 항체는 경쇄의 부재 하에서 기능적이고 안정하다. 예를 들면, [Hamers-Casterman 등, *Nature* 363:446-448(1993) 및 Sheriff 등, *Nature Struct. Biol.* 3:733-736(1996)]을 참조하라.

[0044] 수많은 HVR 묘사가 사용되며, 본원에서 포괄된다. Kabat 상보성-결정 영역(CDRs)인 HVR은 서열 가변성에 기반하며, 가장 일반적으로 사용된다(Kabat 등, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD(1991)). Chothia는 대신에 구조적 루프의 위치를 나타낸다(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917(1987)). AbM HVR은 Kabat CDR 및 Chothia 구조적 루프 간 절충을 나타내며, Oxford Molecular의 AbM 항체-모델링 소프트웨어에 의해 이용된다. "접촉" HVR은 이용 가능한 복잡한 결정 구조의 분석에 기반한다. 이들 HVR 각각으로부터의 잔기가 아래에 주지된다.

루프	Kabat	AbM	Chothia	접촉
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B(Kabat- 넘버링)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35(Chothia- 넘버링)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0045] HVR은 하기: VL에서 24-36 또는 24-34(L1), 46-56 또는 50-56(L2), 및 89-97 또는 89-96(L3), 및 VH에서 26-35(H1), 50-65 또는 49-65(H2), 및 93-102, 94-102, 또는 95-102(H3)와 같이 "확장된 HVR"을 포함할 수 있다. 가변-도메인 잔기는 각각의 이들 확장된-HVR 정의에 대해 [Kabat 등, *상기와 동일*]에 따라 넘버링된다.

[0047] "프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에서 정의된 바와 같이 HVR 잔기 이외의 가변-도메인 잔기이다.

[0048] 표현 "Kabat에서의 가변-도메인 잔기-넘버링" 또는 "Kabat에서의 아미노산-위치 넘버링" 및 이들의 변형은 [Kabat 등, *상기와 동일*]에서 항체 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 대해 사용된 넘버링 시스템을 나타낸다. 상기 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 HVR의 단축 또는 내로의 삽입에 대응하는 더 적거나 더 많은 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들면, 중쇄 가변 도메인에는 H2의 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입(Kabat에 따른 잔기 52a) 및 중쇄 FR 잔기 82 뒤에 삽입된 잔기(예를 들면, Kabat에 따른 잔기 82a, 82b, 및 82c 등)가 포함될 수 있다. 잔기의 Kabat 넘버링은 항체 서열의 상동성 영역에서 "표준" Kabat 넘버링된 서열과의 정렬에 의해 주어진 항체에 대해 결정될 수 있다.

[0049] "친화도-성숙된" 항체는 변경(들)을 보유하지 않는 모계 항체에 비해, 항원에 대한 항체의 친화도 향상을 일으키는 이들의 하나 이상의 HVR에 하나 이상의 변경을 갖는 것이다. 일 구현예에서, 친화도-성숙된 항체는 표적 항원에 대한 나노몰 또는 심지어 피코몰 농도의 친화도를 갖는다. 친화도-성숙된 항체는 당해기술에서 공지된 절차에 의해 생성된다. 예를 들면, [Marks 등, *Bio/Technology* 10:779-783(1992)]은 VH- 및 VL-도메인 서플링에 의한 친화도 성숙을 기재한다. HVR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은, 예를 들면 [Barbas 등, *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813(1994); Schier 등, *Gene* 169:147-155(1995); Yelton 등, *J. Immunol.* 155:1994-2004(1995); Jackson 등, *J. Immunol.* 154(7):3310-3319(1995); 및 Hawkins 등, *J. Mol. Biol.* 226:889-896(1992)]에 기재되어 있다.

[0050] 용어 "항-신생물성 조성물" 또는 "항암 조성물" 또는 "항암제"는 적어도 하나의 활성 치료제, 예를 들면 "항암제"를 포함하는 암 치료에 유용한 조성물을 나타낸다. 치료제(항암제)의 예에는 비제한적으로 화학치료 제제, 성장 억제제, 세포독성제, 방사선 요법에서 사용되는 제제, 항-신생혈관계, 세포자멸제, 항-튜블린 제제, 및 암을 치료하기 위한 다른 제제, 예컨대 항-HER-2 항체, 항-CD20 항체, 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 길항제(예를 들면, 티로신 키나제 억제제), HER1/EGFR 억제제(예를 들면, 에를로티닙(Tarceva™), 혈소판 유도된 성장 인자 억제제(예를 들면, Gleevec™(이마티닙 메실레이트)), COX-2 억제제(예를 들면, 셀레록시브), 인터페론, 사이토카인, 하나 이상의 하기 표적 ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-베타, BlyS, APRIL, BCMA VEGF, 또는 VEGF 수용체(들), TRAIL/Apo2에 결합하는 길항제(예를 들면, 중화 항체), 및 다른 생물활성 및 유기 화학 제제 등이 포함된다. 이들의 조합도 본 발명에 포함된다.

[0051] "화학치료 제제" 또는 "화학치료제"는 암 치료에 유용한 화학적 화합물이다. 화학치료 제제의 예에는 암 치료에 유용한 화학적 화합물이 포함된다. 화학치료 제제의 예에는 알킬화제, 예컨대 테모졸로마이드(TMZ), 알킬화제 다카르바진의 이미다조테트라진 유도체가 포함된다. 화학치료 제제의 추가예에는, 예를 들면 파클리탁셀 또는 토폠테칸 또는 폐결핵된 리포솜 독소루비신(PLD)이 포함된다. 화학치료 제제의 다른 예에는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 CYTOXAN® 주기로포스파마이드; 알킬 설포네이트, 예컨대 부설판, 임프로설판 및 피포설판; 아지리

딘, 예컨대 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민, 예컨대 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸올로멜라민; 아세토게닌(특히 플라타신 및 플라타시논); 캄프토테신; 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(그 아도젤레신, 카르젤레신 및 바이젤레신 합성 유사체 포함); 크립토파이신(특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘뤼테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로르암부실, 클로르나파진, 콜로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로르에타민, 메클로르에타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤비친, 펜에스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 우라신 머스타드; 나이트로스우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님누스틴; 항생제, 예컨대 엔디인 항생제(예를 들면, 칼리키아마이신, 특히 칼리키아마이신 감마1 및 칼리키아마이신 오메가 1(예를 들면, [Agnew, Chem. Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186(1994)] 참고); 다이네마이신, 예컨대 다이네마이신 A; 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트; 에스페라마이신뿐만 아니라 네오키노스타틴 발색단 및 관련된 색소단백질 엔디인 항생 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, ADRIAMYCIN® 독소루비신(모폴리노-독소루비신, 시아노모폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 테옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 아이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물, 예컨대 메토크세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU); 엽산 유사체, 예컨대 테노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카모푸르, 사이타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 예노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스탄올, 메피티오스탄, 테스트락톤; 항-부신제, 예컨대 아미노글루테티마이드, 미토탄, 트릴로스타; 엽산 보충물, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글리코사이드; 아미노레벌린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메몰신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이인; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSK® 다당류 복합제(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); 라족산; 라이족신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2''-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센(특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라바이노사이드("Ara-C"); 주기로포스파마이드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들면, TAXOL® 파클리탁셀(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE® 파클리탁셀의 크레모포어-비함유, 알부민-조작된 나노입자 제형(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.), 및 TAXOTERE® 도세탁셀(Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); 클로란부실; GEMZAR® 젬시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토크세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴, 옥살리플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파마이드; 미톡산트론; 빈크리스틴; NAVELBINE® 비노렐빈; 노반트론; 테니포사이드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 크셀로다; 이반드로네이트; 이리노테칸(캄프토사르, CPT-11)(5-FU 및 류코보린을 포함하는 이리노테칸의 치료 레지멘 포함); 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴(DMF0); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 카페시타빈; 콤레타스타틴; 류코보린(LV); 옥살리플라틴, 예컨대 옥살리플라틴 치료 레지멘(FOLFOX); 라파티닙(Tykerb®); 세포 증식을 감소시키는 PKC-알파, Raf, H-Ras, EGFR 억제제(예를 들면, 에를로티닙(Tarceva®)) 및 VEGF-A 억제제 및 상기 중 임의의 약제학적으로 허용 가능한 염, 산 또는 유도체가 포함된다.

[0052] 본원에서 사용된 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제하거나 방지하고/하거나 세포 파괴를 유도하는 물질을 나타낸다. 상기 용어는 방사성 동위원소(예를 들면, ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P 및 Lu의 방사성 동위원소), 화학치료 제제, 예를 들면 메토크세이트, 아드리아마이신, 빈카 알카로이드(빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포사이드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로르암부실, 다우노루비신 또는 다른 개제 제제, 효소 및 이들의 단편, 예컨대 핵산분해 효소, 항생제, 및 독소, 예컨대 소분자 독소 또는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소, 예컨대 이들의 단편 및/또는 변이체, 및 아래에 개시된 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하고자 하는 것이다. 다른 세포독성 제제는 아래에 기재되어 있다. 살종양제(tumoricidal agent)는 종양 세포의 파괴를 유도한다.

- [0053] 본원에서 사용되는 "성장 억제제"는 시험관내 또는 생체내 세포(예를 들면, Robo4를 발현하는 세포)의 성장 및/또는 증식을 억제하는 화합물 또는 조성물을 나타낸다. 따라서, 성장 억제제는 S 상에서 Robo4-발현 세포의 백분율을 유의미하게 감소시키는 것일 수 있다. 성장 억제제의 예에는 세포 주기 진행을 차단하는 제제(S 상 이외의 지점에서), 예컨대 G1 정지 및 M-상 정지를 유도하는 제제가 포함된다. 전형적 M-상 차단제에는 빈카(빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁산, 및 토포이소머라제 II 억제제, 예컨대 안트라주기린 항생제 독소루비신((8S-시스)-10-[(3-아미노-2,3,6-트리데옥시- α -L-라이소-핵사피라노실)옥시]-7,8,9,10-테트라하이드로-6,8,11-트리하이드록시-8-(하이드록시아세틸)-1-메톡시-5,12-나프타센디온), 에피루비신, 다우노루비신, 에토포사이드, 및 블레오마이신이 포함된다. G1을 정지시키는 제제, 예를 들면, DNA 알킬화제, 예컨대 타목시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로르에타민, 시스플라틴, 메토틱세이트, 5-플루오로우라실, 및 아라-C도 S-상 정지로 변진다. 추가 정보는 [The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn and Israel, eds., Chapter 1, entitled "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" by Murakami 등(WB Saunders: Philadelphia, 1995), 특히 p. 13]에서 찾아볼 수 있다. 탁산(파클리탁셀 및 도세탁셀)은 둘 다 주목에서 유도된 항암 약물이다. 유럽 주목에서 유도된 도세탁셀(TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer)은 파클리탁셀의 반합성 유사체(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb)이다. 파클리탁셀 및 도세탁셀은 튜블린 이량체로부터 미세소관의 어셈블리를 촉진하고, 탈중합 방지에 의해 미세소관을 안정화하여 세포에서 유사분열의 억제를 야기한다.
- [0054] 용어들 "샘플" 및 "생물학적 샘플"은 상호교환적으로 사용되어 체액, 신체 조직(예를 들면, 종양 조직), 세포, 또는 다른 공급원을 포함하는 개체에서 수득된 임의의 생물학적 샘플을 나타낸다. 체액은, 예를 들면 림프, 혈청, 신선한 전혈, 말초 혈액 단핵 세포, 냉동된 전혈, 혈장(신선 또는 냉동된 혈장 포함), 소변, 타액, 정액, 활액 및 척수액이다. 샘플에는 또한 지방 조직, 신장 조직, 결장 조직, 뇌 조직, 근육 조직, 활막 조직, 피부, 모낭, 골수, 및 종양 조직이 포함된다. 포유동물로부터 조직 생검 및 체액을 수득하는 방법은 당해기술에 널리 공지되어 있다.
- [0055] 본원에서 사용된, "치료"(및 이들의 문법적 변형, 예컨대 "치료한다" 또는 "치료하는")는 치료받는 개체의 자연스러운 과정을 변경하려는 시도에서의 임상적 개입을 나타내며, 예방을 위해 또는 임상 병리 경과 동안 수행될 수 있다. 바람직한 치료 효과에는 비제한적으로, 질환 발생 또는 재발의 방지, 증상의 완화, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적 병리 결과의 악화, 전이의 방지, 전체 생존률(OS)의 증가/연장, 무진행 생존(PFS)의 증가/연장, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 경감, 및 차도 또는 향상된 예후가 포함된다.
- [0056] "단일요법"이란 치료 기간의 경과 동안 암 또는 종양의 치료를 위한 단일 치료제만을 포함하는 치료 레지멘을 의미한다. VEGF 길항제(예를 들면, 항-VEGF 항체, 예를 들면 베바시주맵)를 이용하는 단일요법은 VEGF 길항제가 치료 기간 동안 추가 항암 요법의 부재 하에 투여됨을 의미한다.
- [0057] 용어 "유효량"은 대상체 또는 환자, 예컨대 포유동물, 예를 들면 인간에서 질환 또는 장애, 예컨대 교모세포종을 치료하기 효과적인 약물의 양을 나타낸다. 암, 예컨대 교모세포종의 경우, 약물의 치료적으로 유효량은 암 세포의 갯수를 감소시키고; 종양 크기를 감소시키고; 말초 기관 내로의 암 세포 침윤을 억제하고(즉, 얼마간 지연하고 바람직하게는 중지시키고); 종양 전이를 억제하고(즉, 얼마간 지연하고 바람직하게는 중지시키고); 종양 성장을 얼마간 억제하고; 암(예를 들면, 교모세포종)과 관련된 하나 이상의 증상을 얼마간 경감시킬 수 있다. 약물이 현존하는 암 세포의 성장을 방지하고/하거나 사멸시킬 수 있는 정도까지, 이는 세포증식억제성 및/또는 세포독성일 수 있다. 암 요법을 위해, 생체내 효능은, 예를 들면 생존 기간, 무진행 생존(PFS) 기간, 전체 생존률(OS), 반응률(RR), 반응 기간, 및/또는 삶의 질 평가에 의해 측정될 수 있다.
- [0058] "생존"은 살아서 남은 상기 대상체를 나타내며, 무진행 생존(PFS) 및 전체 생존률(OS)이 포함된다. 생존은 Kaplan-마이어 방법에 의해 추정될 수 있고, 생존에서의 임의의 차이는 계층화된 로그-순위 시험을 이용해서 계산된다.
- [0059] "전체 생존률" 또는 "OS"는 규정된 시기, 예컨대 치료 개시로부터 또는 최초 진단으로부터 약 1 년, 약 2 년, 약 3 년, 약 4 년, 약 5 년, 약 10 년 등 동안 살아남은 상기 대상체를 나타낸다. 본 발명의 기반이 되는 연구에서, 생존 분석을 위해 사용된 사건은 임의 원인의 사망이었다.
- [0060] "무진행 생존" 또는 "PFS"는 치료(또는 무작위화)로부터 최초 질환 진행 또는 사망까지의 시간을 나타낸다. 예를 들면, 이는 상기 대상체가, 예를 들면 치료 개시로부터 또는 최초 진단으로부터 규정된 시기, 예컨대 약 1 개월, 약 2 개월, 약 3 개월, 약 4 개월, 약 5 개월, 약 6 개월, 약 7 개월, 약 8 개월, 약 9 개월, 약 1 년, 약 2 년, 약 3 년 등 동안 암으로 복귀하지 않고 살아남은 시간이다. 본 발명의 일 측면에서, PFS는 MacDonald

등(*J. Clin. Oncol.* 1990;8: 1277-80, 1990)에 기재된 MacDonald 반응 기준에 의해 평가될 수 있다.

- [0061] "전체 반응률" 또는 "객관적 반응률"(ORR)은 최소량의 시간 동안 암(예를 들면, 교모세포종)의 크기 또는 양의 감소를 경험하는 사람의 백분율을 나타내며, ORR은 전체 및 부분 반응률의 합으로 나타낼 수 있다.
- [0062] "생존 연장" 또는 "생존 가능성 증가"란 미치료 대상체(예를 들면 항-VEGF 항체, 예를 들면, 베바시주맙으로 치료받지 않은 대상체) 또는 미치료 대상체 집단 각각에 비해 또는 대조군 치료 프로토콜, 예컨대 화학치료 제제만을 이용한 치료, 예컨대 교모세포종에 대한 관리 표준, 예컨대 방사선요법을 포함하거나 포함하지 않는 테모졸로마이드(TMZ)를 사용하는 것에 비해, 치료 대상체(예를 들면, 항-VEGF 항체, 예를 들면, 베바시주맙으로 치료받은 대상체) 또는 치료 대상체 집단에서 PFS 및/또는 OS 증가를 의미한다. 생존은 치료 개시 후 또는 최초 진단 후 적어도 약 1 개월, 약 2 개월, 약 4 개월, 약 6 개월, 약 9 개월, 또는 적어도 약 1 년, 또는 적어도 약 2 년, 또는 적어도 약 3 년, 또는 적어도 약 4 년, 또는 적어도 약 5 년, 또는 적어도 약 10 년 등 동안 모니터링된다.
- [0063] 위험비(HR)는 사례 비율에 대한 통계적인 정의이다. 본 발명의 목적을 위해, 위험비는 임의의 특정 시점에 대조군에서의 사례 개연성으로 나눈 실험군에서의 사례 개연성을 나타내는 것으로 정의된다. 무진행 생존 분석에서의 "위험비"는 두 무진행 생존 곡선 간 차이의 요약이며, 추적 기간에 걸쳐 대조군에 비해 치료 시의 사망 위험 감소를 나타낸다.
- [0064] 본원에서 "환자" 또는 "대상체"는 질환 또는 장애, 예컨대 교모세포종(GBM)의 하나 이상의 징후, 증상, 또는 다른 지표를 경험하고 있거나 경험했던 치료에 적절한 임의의 단일 동물(예를 들면, 포유동물, 예컨대 개, 고양이, 말, 토끼, 동물원 동물, 소, 돼지, 양, 비-인간 영장류, 및 인간 포함), 예컨대 인간을 나타낸다. 질환의 임의의 임상 징후를 나타내지 않는 임상 연구 시험에 관여된 임의의 환자 또는 유행병 연구에 관여된 환자 또는 대조군으로 한 번 이용된 환자가 환자로써 포함되려는 것이다. 환자는 항-VEGF 항체, 예를 들면, 베바시주맙, 또는 또 하나의 약물로 이전에 치료받았을 수도 있고, 또는 그렇게 치료받지 않았을 수도 있다. 환자는 본원에서 치료가 개시되는 경우 사용되는 추가 약물(들)에 접촉하지 않을 수 있다, 즉 환자는 "기준선"에서(즉, 본원에서의 치료 방법에서 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)의 첫 번째 용량 투여 전 설정 시점, 예컨대 치료가 개시되기 전 상기 대상체의 스크리닝일에), 예를 들면 항-VEGF 항체, 예를 들면, 베바시주맙 이외의 요법으로 이전에 처리되지 않았을 수 있다. 그와 같은 "미접촉" 환자 또는 대상체가 일반적으로 그와 같은 추가 약물(들)을 이용한 치료에 대한 후보로 고려된다.
- [0065] 용어들 "암" 및 "암성"은 전형적으로 조절되지 않은 세포 성장을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리적 상태를 나타내거나 설명한다. 상기 정의에는 양성 및 악성 암뿐만 아니라 휴면기 종양 또는 미세전이물이 포함된다. 암의 예에는 비제한적으로, 암종, 림프종, 모세포종, 육종, 및 백혈병이 포함된다. 그와 같은 암의 보다 구체적인 예에는 비제한적으로 예를 들면 진신경성 GBM, 신경성 GBM, 전형적 GBM, 및 간질성 GBM을 포함하는 교모세포종(GBM)이 포함된다. GBM은 새롭게 진단되거나, 진단되거나, 재발될 수 있다. 다른 암에는, 예를 들면 유방암, 편평상피 세포 암, 폐암(소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 및 폐의 편평상피 암종 포함), 복막암, 간세포 암, 위 암 또는 위암(위장관 암 포함), 췌장암, 난소암, 자궁경부암, 간암, 방광암, 간종양, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액샘 암종, 신장암 또는 신장 암, 간암, 전립선암, 외음부 암, 갑상샘암, 간암종 및 다양한 유형의 두경부 암뿐만 아니라 B-세포 림프종(저등급/난포성 비-호지킨 림프종(NHL); 소 림프구(SL) NHL; 중간 등급/난포성 NHL; 중간 등급 확산성 NHL; 고등급 면역아세포성 NHL; 고등급 림프아세포성 NHL; 고등급 소형 비-절단 세포 NHL; 대부피 질환 NHL; 외부 세포 림프종; AIDS-관련 림프종; 및 발덴스트롬 거대글로블린혈증 포함); 만성 림프구성 백혈병(CLL); 급성 림프아세포성 백혈병(ALL); 모발 세포 백혈병; 만성적 골수아세포성 백혈병; 및 이식후 림프증식성 장애(PTLD)뿐만 아니라 모반증에 관련된 비정상 혈관 증식, 부종(예컨대 뇌종양에 관련된 부종), 및 메이그 증후군이 포함된다.
- [0066] 본원에서 사용된 "종양"은 악성이든 양성이든, 모든 신생물성 세포 성장 및 증식, 그리고 모든 전-암성 및 암성 세포 및 조직을 나타낸다. 용어들 "암", "암성", "세포 증식성 장애", "증식성 장애" 및 "종양"은 본원에서 상호 배타적인 것이 아니다.
- [0067] 용어 "약제학적 제형"은 약제의 생물학적 활성이 효과적이 되도록 하는 형태이고 제형이 투여될 대상체에 허용 불가능한 독성이 있는 추가 성분을 함유하지 않는 멸균 제조물을 나타낸다.
- [0068] "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 대상체에 비독성인, 활성 성분 이외의 약제학적 제형 내 성분을 나타낸다. 약제학적으로 허용 가능한 담체에는 비제한적으로 버퍼, 부형제, 안정제, 또는 보존제가 포함된다.

- [0069] "키트"는 적어도 하나의 시약, 예를 들면 본 발명의 바이오마커 유전자 또는 단백질을 특이적으로 검출하기 위한 프로브 또는 교모세포종을 갖는 환자의 치료를 위한 약제를 포함하는 임의의 제조물(예를 들면, 패키지 또는 용기)이다. 제조물은 바람직하게는 본 발명의 방법을 수행하기 위한 단위로서 촉진되거나, 배포되거나, 판매된다.
- [0070] **II. 교모세포종의 치료를 위한 치료적 사용 및 조성물**
- [0071] 본 발명은 종양 성장을 뒷받침하기 위한 영양소를 제공하기 위해 필요한 종양 혈관의 발생을 억제하는 것을 목표로 하는 암 치료 전략인 항-혈관신생 요법을 포괄한다. 혈관신생은 원발성 종양 성장 및 전이 모두에 관여되므로, 본 발명에 의해 제공된 항-혈관신생 치료는 원발 부위에서 종양의 신생물성 성장을 억제할 수 있을 뿐만 아니라 2차 부위에서 종양의 전이를 방지할 수 있어서, 다른 치료제에 의한 종양 공격을 허용한다.
- [0072] 구체적으로 유효량의 화학치료제 및 항-VEGF 항체를 조합하는 치료 레지멘을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 교모세포종으로 진단된 환자의 치료 방법이 본원에서 제공된다. 화학요법 및 항-VEGF 항체의 투여를 조합하는 치료 레지멘은 상기 대상체의 전체 생존률(OS) 및/또는 무진행 생존(PFS)을 연장한다.
- [0073] **A. 치료 방법**
- [0074] 본 발명은 유효량의 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙) 및 유효량의 화학치료제(예를 들면, 테모졸로마이드(TMZ))를 포함하는 요법을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 교모세포종으로 진단된 환자의 치료 방법을 제공한다. 상기 대상체는 또한 방사선 요법(방사선요법)을 거칠 수 있다. 그와 같은 치료는 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)가 없이 동일한 화학치료제(예를 들면, TMZ)를 수여 받은 환자에 비해 치료 환자의 연장된 중앙값 OS 시간 및/또는 PFS 시간으로 이어질 수 있다.
- [0075] 병용 요법에는 하나 이상의 추가 항암제 및/또는 요법(예를 들면, 1 개, 2 개, 3 개, 4 개, 또는 5 개 이상의 추가 항암제 및/또는 요법)과 병용된 하나 이상의 항-VEGF 항체(예를 들면, 1 개, 2 개, 3 개, 4 개, 또는 5 개 이상의 항-VEGF 항체)가 포함될 수 있다. 항암 요법의 예에는 비제한적으로, 수술, 방사선 요법(방사선요법), 바이오요법, 면역요법, 화학요법(예를 들면, 화학치료제, TMZ를 이용), 또는 이들 제제들 및/또는 요법들의 조합이 포함된다. 또한, 세포독성제, 항-혈관신생제, 및 항-증식제가 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)와 병용될 수 있다. 하나 이상의 추가 항암제 또는 요법은 바람직하게는 이들이 서로 부정적으로 영향을 주지 않도록 VEGF 길항제에 대해 상보적 활성을 갖는다. 조합된 투여에는 별도의 제형 또는 단일 약제학적 제형을 이용한 공-투여 및 어느 순서로든 연속적인 투여가 포함되며, 여기서 바람직하게는 두(또는 모든) 활성제가 이들의 생물학적 활성을 동시에 발휘하는 시기가 있다.
- [0076] 하나 이상의 추가 항암제는 화학치료 제제, 세포독성제, 사이토카인, 성장 억제제, 항-호르몬제, 및 이들의 조합일 수 있다. 그와 같은 분자는 의도된 목적(즉, 교모세포종을 갖는 환자의 치료)에 유효량으로 조합되어 적당하게 존재한다. 예를 들면, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)를 함유하는 약제학적 조성물은 또한 치료적으로 유효량의 항-신생물제, 화학치료 제제, 성장 억제제, 세포독성제, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.
- [0077] 본 발명에 따른 다른 치료 레지멘에는 항암제, 및 비제한적으로 방사선 요법 및/또는 골수 및 말초 혈액 이식, 및/또는 세포독성제, 화학치료 제제, 또는 성장 억제제를 포함하는 투여가 포함될 수 있다. 하나의 그와 같은 구현예에서, 화학치료제는 제제 또는 제제들의 조합, 예컨대 주기포스파마이드, 하이드록시다우노루비신, 아드리아마이신, 독소루비신, 빈크리스틴(ONCOVIN™), 프레드니솔론, CHOP, CVP, 또는 COP, 또는 면역치료제, 예컨대 항-PSCA, 항-HER2(예를 들면, HERCEPTIN®, OMNITARG™)이다. 또 하나의 구현예에서, 조합에는 도세탁셀, 독소루비신, 및 주기포스파마이드가 포함된다. 병용 요법은 동시적인 또는 순차적인 레지멘으로 투여될 수 있다. 순차적으로 투여된 경우, 조합은 2 이상의 투여로 투여될 수 있다. 조합된 투여에는 별도 제형 또는 단일 약제학적 제형을 이용한 공-투여, 및 어느 순서로든 연속적인 투여가 포함되며, 여기서 바람직하게는 두(또는 모든) 활성제가 이들의 생물학적 활성을 동시에 발휘하는 시기가 있다.
- [0078] 일 구현예에서, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)를 이용한 치료에는 본원에서 확인된 항암제, 및 상이한 화학치료 제제 각테일의 공-투여를 포함하는 하나 이상의 화학치료 제제(예를 들면, TMZ) 또는 성장 억제제의 조합된 투여가 관여된다. 화학치료제에는 탁산(예컨대 파클리탁셀 및 도세탁셀) 및/또는 안트라주기린 항생제가 포함된다. 그와 같은 화학치료제에 대한 제조 및 투여 일정은 제조자의 설명서에 따라 또는 당업자에 의해 실험적으로 결정된 바에 따라 사용될 수 있다. 그와 같은 화학요법의 제조 및 투여 일정은 또한 ["Chemotherapy Service," (1992) Ed., M.C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md.]에 기재되어 있다.

- [0079] 임의의 상기 공-투여된 제제의 적합한 투여량은 현재 사용되는 것들이며, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙) 및 다른 화학치료 제제 또는 치료의 조합된 작용(상승효과)로 인해 낮아질 수 있다.
- [0080] 병용 요법은 "상승효과"를 제공하며 "상승작용", 즉, 함께 사용된 활성 성분이 별도로 화합물을 사용하여 얻어지는 효과의 합보다 큰 경우 달성된 효과를 입증한다. 상승작용 효과는 활성 성분이 (1) 조합된, 단위 투여 제형으로 공-제형화되고 동시에 투여되거나 전달되는 경우; (2) 교대로 또는 별도 제형으로 병렬적으로 전달되는 경우; 또는 (3) 일부 다른 레지멘에 의한 경우 획득될 수 있다. 교대 요법(alternation therapy)으로 전달되는 경우, 화합물들이, 예를 들면 별도 주사기에서 상이한 주사에 의해 순차적으로 투여되거나 전달되는 경우 상승작용 효과가 획득될 수 있다. 일반적으로, 교대 요법 동안, 각 활성 성분의 효과적인 투여량은 순차적으로, 즉, 연속해서 투여되는 반면, 병용 요법에서는 2 개 이상 활성 성분의 효과적인 투여량이 함께 투여된다.
- [0081] 일반적으로, 질환의 예방 또는 치료를 위해, 추가 치료제의 적절한 투여량은 치료받을 질환의 유형, 항체의 유형, 질환의 중증도 및 경과, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙) 및 추가 제제 및/또는 요법(예를 들면, TMZ 및/또는 방사선요법)이 예방 또는 치료 목적으로 투여되는지 여부, 이전 요법, 환자의 임상 이력 및 항-VEGF 항체 및 추가 제제 및/또는 요법에 대한 반응, 및 주치의의 재량에 따라 것이다. 항-VEGF 항체 및 추가 제제 및/또는 요법은 한 번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 적당하게 투여된다. 항-VEGF 항체는 전형적으로 아래에서 제시된 바와 같이 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 추가 제제의 약 20 mg/m² 내지 600 mg/m²가, 예를 들면 하나 이상의 별도 투여에 의하건, 또는 계속되는 주입에 의하건, 환자에 대한 투여를 위한 최초 후보 투여량이다. 하나의 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 요인에 따라 약 20 mg/m², 85 mg/m², 90 mg/m², 125 mg/m², 200 mg/m², 400 mg/m², 500 mg/m² 이상의 범위일 수 있다. 며칠 이상에 걸친 반복된 투여에 있어서, 상태에 따라, 치료는 질환 증상의 원하는 억제가 일어날 때까지 지속된다. 따라서 약 20 mg/m², 85 mg/m², 90 mg/m², 125 mg/m², 200 mg/m², 400 mg/m², 500 mg/m², 600 mg/m²(또는 이들의 임의의 조합)의 하나 이상의 용량이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 용량은 (예를 들면 환자가 약 2 내지 약 20, 예를 들면 약 6 용량의 추가 제제를 투여받도록), 예를 들면 매주 또는 2주 마다, 3주 마다, 4주 마다, 5주 마다 또는 6주 마다 간헐적으로 투여될 수 있다. 초기에 더 높은 부하 용량에 이어, 하나 이상의 더 낮은 용량이 투여될 수 있다. 그러나, 다른 투여량 요법이 유용할 수 있다. 상기 요법의 진행은 종래의 기술 및 분석에 의해 쉽게 모니터링된다.
- [0082] 일 구현예에서, 상기 대상체에는 교모세포종을 치료하기 위한 임의의 약물(들)이 이전에 투여된 바 없었다. 또 하나의 구현예에서, 상기 대상체 또는 환자에는 교모세포종을 치료하기 위한 하나 이상의 약제(들)가 이전에 투여되었다. 추가 구현예에서, 상기 대상체 또는 환자는 이전에 투여된 하나 이상의 약제에 반응성이 아니었다. 상기 대상체가 비반응성일 수 있는 그와 같은 약물에는, 예를 들면 항-신생물성 제제, 화학치료 제제, 세포독성제, 및/또는 성장 억제제가 단독으로 또는 서로 조합되어 포함되지만, 항-VEGF 항체, 예컨대 베바시주맙을 이용한 조합된 치료는 없다. 상기 대상체가 비반응성일 수 있는 다른 요법에는, 예를 들면 VEGF 길항제 단일요법, 예컨대 항-VEGF 항체 단일요법이 포함된다.
- [0083] 본 발명은 추가로, 인간 환자/대상체에서 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙) 및 교모세포종(예를 들면, 새롭게 진단된 교모세포종 및/또는 전신경성 유형의 교모세포종)의 치료를 위한 하나 이상의 다른 치료제의 투여를 촉진하는 단계를 포함하는 촉진 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 방법은 적어도 하나의 화학치료 제제의 투여를 촉진하는 단계를 추가로 포함한다. 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)의 투여는 화학치료 제제(예를 들면, TMZ)의 투여와 동시적 또는 순차적일 수 있다. 촉진은 이용 가능한 임의의 수단에 의해 수행될 수 있다. 일부 구현예에서, 촉진은 항-VEGF 항체의 상업적 제형을 수반하는 패키지 삽입물에 의한다. 촉진은 또한 화학치료 제제의 상업적 제형을 수반하는 패키지 삽입물에 의할 수 있다. 촉진은 의사 또는 건강 관리 제공자에 대한 서면 또는 구두 커뮤니케이션에 의할 수 있다. 일부 구현예에서, 촉진은 패키지 삽입물이 하나 이상의 다른 화학치료 제제 및/또는 요법과 조합된 항-VEGF 항체를 이용한 교모세포종 요법을 투여받기 위한 설명서를 제공하는 패키지 삽입물에 의한다. 추가 구현예에서, 패키지 삽입물에는 실시예 4 내의 일부 또는 모든 결과가 포함된다. 일부 구현예에서, 촉진에는 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)와 화학치료 제제(예를 들면, TMZ), 그리고 임의로 또 하나의 요법(예를 들면, 방사선요법)을 이용한 상기 대상체의 치료가 이어진다.
- [0084] 본 발명은 대상체의 OS 및/또는 PFS 시간을 증가시키고, 대상체의 교모세포종 재발 가능성을 감소시키고/시키거나 대상체의 생존 가능성을 증가시키기 위해, 인간 환자/대상체에서 교모세포종의 치료를 위한 하나 이상의 다른 치료제, 예컨대 화학치료제(예를 들면, TMZ), 및/또는 요법(예를 들면, 방사선요법)과 조합된 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)의 마케팅 단계를 포함하는 비즈니스 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 방법은 항-

VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)와 병용하기 위한 화학치료 제제의 마케팅 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 마케팅에는 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)와 화학치료제를 이용한 상기 대상체의 치료가 이어진다.

[0085] 1. 투여량 및 투여

[0086] 본 발명의 치료 방법은, 예를 들면 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)가 없이 화학치료제(예를 들면, TMZ)를 투여받은 환자에 비해 치료받는 환자의 종양 크기(예를 들면, 교모세포종 종양 크기) 감소, 연장된 중앙값 전체 생존률(OS) 시간, 및/또는 무진행 생존(PFS) 시간으로 이어질 수 있다. 상술된 바와 같이, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵) 및 적어도 하나의 추가 약제/요법(예를 들면, 화학치료제, 예컨대 TMZ, 및/또는 방사선요법)의 조합을 이용한 치료는 환자에게 부가되거나 상승된(부가된 것보다 큰) 치료적 이점을 야기할 수 있다.

[0087] 본원에서 추가 약제/요법(예를 들면, 화학치료제, 예컨대 TMZ, 및/또는, 예를 들면, 방사선요법)의 적어도 하나의 투여 및 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)의 적어도 하나의 투여 간 시간은 약 1 개월 이하, 약 2 주 이하, 약 1 주 이하, 동일한 날 내에, 동일한 시간 내에, 또는 대략 동일한(동시 투여) 것이다. 일부 예에서, 적어도 하나의 항-VEGF 항체는 적어도 하나의 추가 약제/요법 전에 투여될 수 있다. 일부 예에서, 적어도 하나의 항-VEGF 항체는 적어도 하나의 추가 약제/요법 후에 투여될 수 있다. 일부 예에서, 적어도 하나의 항-VEGF 항체 및/또는 적어도 하나의 약제/요법은 하나 이상의 주기(예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 이상의 주기)로 환자에게 투여된다.

[0088] 의료분야 기술자에게는 교모세포종 진단 후 환자에 대한 치료적으로 유효량의 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)의 정확한 투여 방식이 주치의의 재량에 의할 것이 인식이 인식될 것이다. 예를 들면, 교모세포종은 새롭게 진단된 것일 수도 있고 새롭게 진단되지 않은 것일 수도 있으며, 교모세포종은 재발 교모세포종일 수도 있다.

[0089] 투여량, 다른 제제와의 조합, 시기 및 투여 빈도 등을 포함하는 투여 방식은 그와 같은 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)에 대한 환자의 가능한 반응성의 진단뿐만 아니라 환자의 상태 및 이력에 의해 영향을 받을 수 있다. 따라서, 항-VEGF 항체 단독에 대해 비교적 비민감성인 것으로 예상되는 교모세포종을 갖는 환자도 이를 이용한, 특히 항-VEGF 항체에 대한 환자의 반응성을 변경할 수 있는 다른 제제 및/또는 요법(예를 들면, 화학치료제, 예컨대 TMZ, 및/또는, 예를 들면, 방사선요법)과 조합된 치료로부터 여전히 이점을 얻을 수 있다.

[0090] 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)를 포함하는 조성물은 우수 의료 실시(GMP)와 일치하는 방식으로 제형화되고, 용량제공(dosed)되고, 투여될 것이다. 상기 맥락에서의 고려 요인에는 치료받는 교모세포종의 특정 유형(예를 들면, 새롭게 진단된 교모세포종 또는 재발 교모세포종, 전신경성 유형의 교모세포종, 간질성 유형의 교모세포종, 또는 증식성 유형의 교모세포종), 치료받는 특정 포유동물(예를 들면, 인간), 개별 환자의 임상 상태, 교모세포종의 원인, 제제 전달 부위, 가능한 부작용, 특정한 항-VEGF 항체, 투여 방법, 투여 일정, 및 개업의에게 공지된 다른 요인이 포함된다. 투여될 유효량의 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)는 그와 같은 고려사항들에 의해 좌우될 것이다.

[0091] 당해기술의 일반의는 특정한 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)와 같은 요인에 따라 필요한 유효량의 약제학적 조성물을 쉽게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들면, 의사는 원하는 치료 효과를 달성하기 위해 필요한 것보다 낮은 수준의 약제학적 조성물에서 이용된 항-VEGF 항체 용량으로 시작하고, 원하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 서서히 증가시킬 수 있다. 주어진 용량 또는 치료 레지멘의 길항제의 유효성은, 예를 들면 표준 효능 측정을 이용하여 환자에서 징후 및 증상을 평가하여 결정될 수 있다.

[0092] 특정 예에서, 환자는 동일한 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)로 적어도 2 회 치료된다. 따라서, 첫 번째 및 두 번째 항-VEGF 항체 노출은 동일한 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)를 이용하며, 일부 예에서, 모든 항-VEGF 항체 노출은 동일한 항-VEGF 항체를 이용한다, 즉, 첫 번째 두 노출, 그리고 바람직하게는 모든 노출에 대한 치료는 한 유형의 항-VEGF 항체, 예를 들면 모두 베바시주맵을 이용한다.

[0093] 일반적 제의로서, 용량 별로 비경구 투여된 항-VEGF 항체의 유효량은 하나 이상의 투여량에 의해 약 20 mg 내지 약 5000 mg의 범위일 것이다. 항체, 예컨대 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)에 대한 예시적인 투여량 요법에는 1, 2, 3, 또는 4주 마다 100 또는 400 mg이 포함되거나 1, 2, 3, 또는 4주 마다 약 1, 3, 5, 10, 15, 또는 20 mg/kg의 용량이 투여된다. 예를 들면, 유효량의 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)는 임의로 정맥내(i.v.) 투여에 의해 2주 마다 10 mg/kg으로 투여될 수 있다. 또 하나의 예에서, 유효량의 항-VEGF 항체는 임의로 정맥내(i.v.) 투여에 의해 3주 마다 15 mg/kg으로 투여될 수 있다. 용량은 단회 용량 또는 다중 용량(예를 들면, 2 또는 3 개 용량)으로, 예컨대 주입(infusion)으로 투여될 수 있다.

- [0094] 일부 예에서, 질환의 유형 및 중증도에 따라, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)의 약 1 ug/kg 내지 100 mg/kg(예를 들면, 0.1-20 mg/kg)이, 예를 들면 하나 이상의 별도의 투여에 의하건 연속 주입에 의하건, 상기 대상체에 대한 투여를 위한 최초 후보 투여량이다. 일 구현예에서, 바람직한 투여량에는, 예를 들면 6 mg/kg, 8 mg/kg, 10 mg/kg, 및 15 mg/kg이 포함된다. 상태에 따라, 며칠 이상에 걸친 반복 투여 또는 주기 동안, 상술된 방법에 의해 측정되거나 당해기술에서 공지된 바와 같이 암이 치료될 때까지 치료가 지속된다. 그러나 다른 투여량 레지멘이 유용할 수 있다. 일 예에서, 항-VEGF 항체는 비제한적으로 6 mg/kg, 8 mg/kg, 10 mg/kg 또는 15 mg/kg을 포함하는 약 6 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 용량 범위에서 매주, 2주 마다, 또는 3주 마다 투여된다. 본 발명의 요법의 진행은 종래의 기술 및 분석에 의해 쉽게 모니터링된다. 다른 구현예에서, 그와 같은 투여 레지멘은 교모세포종에서 화학요법 레지멘과 병용된다. 적합한 투여량에 대한 추가 정보는 아래 실시예에서 제공된다.
- [0095] 요법의 지속시간은 의료적으로 지시되는 한, 또는 원하는 치료 효과(예를 들면, 본 명세서에서 기재된 것)가 달성될 때까지 계속될 수 있다. 특정 구현예에서, 요법은 1 개월, 2 개월, 4 개월, 6 개월, 8 개월, 10 개월, 1 년, 2 년, 3 년, 4 년, 5 년, 또는 상기 대상체의 수명까지의 년도 기간 동안 계속된다.
- [0096] 항-VEGF 항체의 다중 노출이 제공되는 경우, 각각의 노출은 동일하거나 상이한 투여 수단을 이용해서 제공될 수 있다. 일 구현예에서, 각각의 노출은 정맥내(i.v.) 투여에 의한다. 또 하나의 구현예에서, 각각의 노출은 피하(s.c.) 투여에 의해 제공된다. 또 하나의 구현예에서, 노출은 i.v. 및 s.c. 투여 모두에 의해 제공된다.
- [0097] 일 구현예에서, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)는 정맥내 푸시 또는 볼러스가 아닌 느린 정맥내 주입으로 투여된다. 예를 들면, 스테로이드, 예컨대 프레드니솔론 또는 메틸프레드니솔론(예를 들면, 약 80-120 mg i.v., 더 구체적으로 약 100 mg i.v.)이 항-VEGF 항체의 임의 주입 전 약 30 분에 투여된다. 예를 들면, 항-VEGF 항체, 예컨대 베바시주맙은 전용선을 통해 주입될 수 있다. 예를 들면, 항-VEGF 항체, 예컨대 베바시주맙은 처음에는 약 90분에 걸쳐 정맥내로, 후속 주입은 약 60 분 및 그 다음 약 30분에 걸쳐 투여될 수 있다.
- [0098] 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)에 대한 다중-용량 노출의 최초 용량에 있어서, 또는 노출에 하나의 용량만 관여되는 경우 단위 용량에 있어서, 그와 같은 주입은 바람직하게는 약 50 mg/시간의 속도로 개시된다. 이는, 예를 들면 약 30 분 마다 약 50 mg/시간의 증분 내지 최대 약 400 mg/시간의 속도로 증량될 수 있다. 그러나 상기 대상체가 주입-관련된 반응을 경험하고 있는 경우, 주입 속도는 바람직하게는, 예를 들면 현재 속도의 절반으로, 예를 들면 100 mg/시간에서 50 mg/시간으로 감소된다. 예를 들면, 그와 같은 용량의 항-VEGF 항체(예를 들면, 약 1000-mg의 총 용량)의 주입은 약 255 분(4 시간 15 분)에 완료된다. 임의로, 대상체는 주입 시작 전 약 30 내지 60 분 동안 경구로 아세트아미노펜/파라세타몰(예를 들면, 약 1 g) 및 디펜히드라민 HCl(예를 들면, 약 50 mg 또는 유사한 제제의 동등 용량)의 예방적 치료를 투여받는다.
- [0099] 총 노출을 달성하기 위해 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)의 하나 초과 주입(용량)이 제공되는 경우, 이 구현예에서 제2 또는 후속 항-VEGF 항체 주입은 최초 주입보다 높은 속도로, 예를 들면 약 100 mg/시간으로 개시된다. 상기 속도는, 예를 들면 약 30 분 마다 약 100 mg/시간의 증분 속도로, 최대 약 400 mg/시간까지 증량될 수 있다. 주입-관련된 반응을 경험하는 대상체는 바람직하게는 그 속도의 절반으로, 예를 들면 100 mg/시간에서 50 mg/시간으로 감소된 주입 속도를 갖는다. 바람직하게는, 항-VEGF 항체의 그와 같은 제2 또는 후속 용량(예를 들면, 약 1000-mg 총 용량)의 주입은 약 195 분(3 시간 15 분)까지 완료된다.
- [0100] 일 구현예에서, 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)는 약 0.4 내지 4 그램의 용량으로 투여되며, 더 바람직하게는 항체는 약 1 개월의 기간 내에 1 내지 4 용량 빈도로 약 0.4 내지 1.3 그램의 용량으로 투여된다. 더욱 바람직하게는, 용량은 약 500 mg 내지 1.2 그램이며, 다른 구현예에서는 약 750 mg 내지 1.1 그램이다. 그와 같은 측면에서, 항-VEGF 항체는 바람직하게는 2 내지 3 용량으로 투여되고/되거나 약 2 내지 3 주 기간 내에 투여된다.
- [0101] 그러나 전술된 바와 같이, 항-VEGF 항체의 이러한 제안된 양은 상당한 치료적 재량에 따른다. 적절한 용량의 선택 및 일정수립에서의 주요 요인은 상기에 명시된 바와 같이, 수득된 결과이다. 일부 구현예에서, 항-VEGF 항체는 가능한 한 교모세포종의 최초 징후, 진단, 출현, 또는 발생에 가깝게 투여된다.
- [0102] **2. 투여 경로**
- [0103] 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맙)는 비경구, 국소, 피하, 복강내, 폐내, 비강내, 및/또는 병소내 투여를 포함하는, 임의의 적당한 수단에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입에는 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여가 포함된다. 척추강내 투여도 고려된다. 또한, 항-VEGF 항체는 펄스 주입에 의해, 예를 들면, 감소하

는 용량의 항-VEGF 항체로 적당하게 투여될 수 있다. 가장 바람직하게는, 용량은 정맥내(i.v.) 주사/주입에 의해 제공된다.

[0104] 상기에 주지된 바와 같은 전형적 경로에 의한 환자에 대한 항-VEGF 항체의 투여와는 별개로, 본 발명에는 유전자 요법에 의한 투여가 포함된다. 예를 들면, 세포내 항체, 예컨대 항-VEGF 항체를 생성하기 위한 유전자 요법의 이용에 관한 WO 1996/07321을 참조하라.

[0105] *생체내* 및 *생체외*로 환자의 세포 내로 핵산(임의로 벡터에 함유됨)을 얻기 위한 2 개의 주요 접근법이 존재한다. *생체내* 전달을 위해, 핵산은 보통 길항체가 필요한 부위에서 환자 내로 직접적으로 주사된다. *생체외* 치료를 위해, 환자의 세포가 제거되고, 핵산이 이들 단리된 세포 내로 도입되고, 개질된 세포가 직접적으로 환자에게 투여되거나, 예를 들면, 환자 내로 이식되는 다공성 막 내로 캡슐화된다(예를 들면, 미국 특허 번호 4,892,538 및 5,283,187 참고). 생활성 세포 내로 핵산을 도입하기 위해 이용 가능한 다양한 기술이 존재한다. 기술은 핵산이 의도된 숙주의 세포에서 *시험관내* 또는 *생체내* 배양 세포 내로 전달되는지 여부에 따라 변한다. *시험관내* 포유동물 세포 내로의 핵산 전달에 적당한 기술에는 리포솜, 전기천공, 미세주입, 세포 융합, DEAE-텍스트란, 칼슘 포스페이트 침전 방법 등의 이용이 포함된다. 유전자의 생체외 전달을 위해 통상적으로 사용되는 벡터는 레트로바이러스이다.

[0106] 현재 바람직한 *생체내* 핵산 전달 기술에는 바이러스 벡터(예컨대 아데노바이러스, 단순 포진 I 바이러스, 또는 아데노-관련된 바이러스) 및 지질-기반 시스템(유전자의 지질-매개된 전달에 유용한 지질은, 예를 들면 DOTMA, DOPE 및 DC-Chol)을 이용한 형질감염이 포함된다. 일부 상황에서, 표적 세포에 특이적인 제제, 예컨대 표적 세포 상의 세포-표면 막 단백질에 특이적인 항체, 표적 세포 상의 수용체에 대한 리간드 등으로 핵산원을 제공하는 것이 바람직하다. 리포솜이 이용되는 경우, 세포내이입에 관련된 세포-표면 막 단백질에 결합하는 단백질, 예를 들면 특정한 세포형에 대한 주성을 갖는 캡시드 단백질 또는 이들의 단편, 순환(cycling)에서 내재화를 거치는 단백질에 대한 항체, 및 세포내 국제화를 표적화하고 세포내 반감기를 증강시키는 단백질이 표적화를 위해 및/또는 흡수를 촉진하기 위해 사용될 수 있다. 수용체-매개된 세포내이입 기술은, 예를 들면 [Wu 등, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432(1987); 및 Wagner 등, *PNAS USA* 87:3410-3414(1990)]에 기재되어 있다. 유전자-마킹 및 유전자-요법 프로토콜은, 예를 들면 [Anderson 등, *Science* 256:808-813(1992) 및 WO 1993/25673]에 기재되어 있다.

[0107] **B. 항-VEGF 항체**

[0108] 본원에 나타난 모든 치료 방법에서, 항-VEGF 항체는 충분한 특이성 및 친화도로 VEGF에 결합하며, 키메라성, 인간화, 인간, 또는 라이브러리-유도된 항체, 또는 이들의 항체 단편일 수 있다.

[0109] **1. 키메라성 및 인간화 항체**

[0110] 특정 구현예에서, 항-VEGF 항체는 키메라성 항체일 수 있다. 특정 키메라성 항체는, 예를 들면 [미국 특허 번호 4,816,567 및 Morrison 등, *PNAS USA*, 81:6851-6855, 1984]에 기재되어 있다. 일 예에서, 키메라성 항체는 비-인간 가변 영역(예를 들면, 마우스, 랫트, 햄스터, 토끼, 또는 비-인간 영장류, 예컨대 원숭이에서 유도된 가변 영역) 및 인간 불변 영역을 포함한다. 추가 예에서, 키메라성 항체는 클래스 또는 서브클래스가 모계 항체의 것에서 변화된 "클래스 스위칭된" 항체이다. 키메라성 항체에는 이들의 항원-결합 단편이 포함된다.

[0111] 특정 구현예에서, 항-VEGF 항체는 인간화 항체일 수 있다. 전형적으로, 비-인간 항체는 모계 비-인간 항체의 특이성 및 친화도를 보유하면서 인간에 대한 면역원성을 감소시키기 위해 인간화된다. 일반적으로, 인간화 항체는 HVR, 예를 들면, CDR(또는 이들의 일부)이 비-인간 항체에서 유도되고, FR(또는 이들의 일부)이 인간 항체 서열에서 유도되는 하나 이상의 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체는 또한 임의로 인간 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 일부 구현예에서, 인간화 항체에서의 일부 FR 잔기는, 예를 들면 항체 특이성 또는 친화도를 복원하거나 향상하기 위해 비-인간 항체(예를 들면, HVR 잔기가 유도되는 항체)로부터의 대응 잔기로 치환된다. 인간화 항체 및 이들의 제조 방법은, 예를 들면 [Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633(2008)]에서 검토되며, 예를 들면 [Riechmann 등, *Nature* 332:323-329(1988); Queen 등, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033(1989); 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; Kashmiri 등, *Methods* 36:25-34(2005)(SDR(a-CDR) 그래프팅을 기재함); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498(1991)("재표면화"를 기재함); Dall'Acqua 등, *Methods* 36:43-60(2005)("FR 서플링"을 기재함); 및 Osbourn 등, *Methods* 36:61-68(2005) 및 Klimka 등, *Br. J. Cancer*, 83:252-260(2000)(FR 서플링에 대한 "유도된 선택" 접근법을 기재함)]에 추가 기재되어 있다.

[0112] **2. 인간 항체**

[0113] 특정 구현예에서, 항-VEGF 항체는 인간 항체일 수 있다. 인간화 항체 및 이들의 제조 방법은, 예를 들면 [Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633(2008)]에서 검토되며, 예를 들면 [Riechmann 등, *Nature* 332:323-329(1988); Queen 등, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033(1989); 미국 특허 번호 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 및 7,087,409; Kashmiri 등, *Methods* 36:25-34(2005)(SDR(a-CDR) 그래프팅을 기재함); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498(1991)("재표면화"를 기재함); Dall'Acqua 등, *Methods* 36:43-60(2005)("FR 서플링"을 기재함); 및 Osbourn 등, *Methods* 36:61-68(2005) 및 Klimka 등, *Br. J. Cancer*, 83:252-260(2000)(FR 서플링에 대한 "유도된 선택" 접근법을 기재함)]에 추가 기재되어 있다.

[0114] 인간화를 위해 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역에는 비제한적으로 하기: "최적-피팅" 방법을 이용해서 선택된 프레임워크 영역(예를 들면, Sims 등, *J. Immunol.* 151:2296(1993) 참고); 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 하위그룹의 인간 항체 공통 서열에서 유도된 프레임워크 영역(예를 들면, Carter 등, *PNAS USA*, 89:4285(1992); 및 Presta 등, *J. Immunol.*, 151:2623(1993) 참고); 인간 성숙(체세포적으로 돌연변이된) 프레임워크 영역 또는 인간 생식계열 프레임워크 영역(예를 들면, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633(2008) 참고); 및 FR 라이브러리 스크리닝에서 유도된 프레임워크 영역(예를 들면, Baca 등, *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684(1997) 및 Rosok 등, *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618(1996) 참고)이 포함된다.

[0115] 인간 항체는 당해기술에 공지된 다양한 기술을 이용해서 생성될 수 있다. 인간 항체는 일반적으로 [van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74(2001) 및 Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459(2008)]에 기재되어 있다. 인간 항체는, 예를 들면 항원 유발접종에 반응하여 인간 가변 영역을 갖는 온전한 인간 항체 또는 온전한 항체를 생성하기 위해 개질된 형질전환 동물에 면역원을 투여하는 단계에 의해 제조될 수 있다. 그와 같은 동물은 전형적으로 내인성 면역글로불린 유전자위를 대체하거나, 염색체외로 존재하거나 동물의 염색체 내로 무작위로 통합된 인간 면역글로불린 유전자위의 전부 또는 일부를 포함한다. 그와 같은 형질전환 마우스에서, 내인성 면역글로불린 유전자위는 일반적으로 불활성화되었다. 형질전환 동물로부터 인간 항체를 수득하는 방법의 검토를 위해, [Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125(2005)]를 참조하라. 또한, 예를 들면, XENOMOUSE™ 기술을 기재하는 미국 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584; HUMAB® 기술을 기재하는 미국 특허 번호 5,770,429; K-M 마우스® 기술을 기재하는 미국 특허 번호 7,041,870, 및 VELOCIMOUSE® 기술을 기재하는 미국 특허 출원 공개 번호 US 2007/0061900를 참조하라. 그와 같은 동물에 의해 산출된 온전한 항체로부터의 인간 가변 영역은, 예를 들면 상이한 인간 불변 영역과 조합하여 추가로 개질될 수 있다.

[0116] 인간 항체는 또한 하이브리도마-기반 방법에 의해 제조될 수 있다. 인간 단클론성 항체의 생성을 위한 인간 골수종 및 마우스-인간 헤테로골수종 세포주가 기재되었다. 예를 들면, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001(1984); Brodeur 등, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63(Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner 등, *J. Immunol.*, 147: 86(1991) 참조. 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 산출된 인간 항체는 또한 [Li 등, *PNAS USA*, 103:3557-3562(2006)]에 기재되어 있다. 추가 방법에는, 예를 들면 [미국 특허 번호 7,189,826(하이브리도마 세포주로부터의 단클론성 인간 IgM 항체 생성을 기재함) 및 Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268(2006)(인간-인간 하이브리도마를 기재함)]에 기재된 것들이 포함된다. 인간 하이브리도마 기술(트리오마(Trioma) 기술)은 또한 [Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937(2005) 및 Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91(2005)]에 기재되어 있다.

[0117] 일부 예에서, 인간 항체는 또한 인간-유도된 파아지 디스플레이 라이브러리에서 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리하여 산출될 수 있다. 이어서 그와 같은 가변 도메인 서열은 원하는 인간 불변 도메인과 조합될 수 있다.

[0118] **3. 라이브러리-유도된 항체**

[0119] 특정 구현예에서, 항-VEGF 항체는 원하는 활성 또는 활성들을 갖는 항체에 대한 조합 라이브러리의 스크리닝에 의해 단리될 수 있거나 단리되었다. 예를 들면, 파아지 디스플레이 라이브러리의 산출 및 원하는 결합 특성을 보유하는 항체에 대해 그와 같은 라이브러리의 스크리닝을 위한 다양한 방법이 당해기술에 공지되어 있다. 그와 같은 방법은, 예를 들면 [Hoogenboom 등, in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37(O'Brien 등, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)]에서 검토되고, 예를 들면 [McCafferty 등, *Nature* 348:552-554; Clackson 등, *Nature* 352: 624-628(1991); Marks 등, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597(1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175(Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu 등, *J. Mol. Biol.*

338(2): 299-310(2004); Lee 등, J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093(2004); Fellouse, PNAS USA 101(34): 12467-12472(2004); 및 Lee 등, J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)]에서 추가로 기재되어 있다.

[0120] 일부 파아지 디스플레이 방법에서, VH 및 VL 유전자 레퍼토리는 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의해 별도로 클로닝되고 파아지 라이브러리에서 무작위로 제조되며, 이어서 [Winter 등, Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455(1994)]에 기재된 바와 같이 항원-결합 파아지에 대해 스크리닝될 수 있다. 파아지는 전형적으로 단일-사슬 Fv(scFv) 단편 또는 Fab 단편으로 항체 단편을 디스플레이한다. 면역화된 원천으로부터의 라이브러리는 하이브리도마의 구축을 필요로 하지 않고 면역원에 대한 고-친화도 항체를 제공한다. 대안적으로, 미접촉 레퍼토리는 [Griffiths 등, EMBO J, 12: 725-734(1993)]에 기재된 바와 같이 임의의 면역화 없이, 광범위한 비-자기 및 또한 자기 항원에 대한 항체의 단일 공급원을 제공하기 위해 클로닝될 수 있다(예를 들면, 인간으로부터). 마지막으로, 미접촉 라이브러리는 또한 [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388(1992)]에 기재된 바와 같이, 줄기세포로부터 재배열되지 않은 V-유전자 세그먼트의 클로닝 및 크게 가변적인 CDR3 영역을 인코딩하고 시험관내 재배열을 수행하기 위해 랜덤 서열을 함유하는 PCR 프라이머를 이용하여 합성적으로 제조될 수 있다. 인간 항체 파아지 라이브러리를 기재하는 특허 공보에는, 예를 들면 미국 특허 번호 5,750,373, 및 미국 특허 공개 번호 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360이 포함된다.

[0121] **4. 항체 생성 및 특성**

[0122] 본 발명의 방법에서 유용한 항-VEGF 항체에는 VEGF에 충분한 친화도 및 특이성으로 결합하고/하거나 VEGF의 생물학적 활성을 감소시키거나 억제할 수 있는 임의의 항체, 또는 이들의 항원 결합 단편이 포함될 수 있다. 항-VEGF 항체는 보통 다른 VEGF 동족체, 예컨대 VEGF-B 또는 VEGF-C에, 또는 다른 성장 인자, 예컨대 PlGF, PDGF, 또는 bFGF에 결합하지 않을 것이다.

[0123] 일부 예에서, VEGF 항체의 생성을 위해 사용될 VEGF 항원은, 예를 들면 VEGF₁₆₅ 분자뿐만 아니라 원하는 에피토프를 함유하는 VEGF의 다른 이소형 또는 이들의 단편일 수 있다. 일 구현예에서, 원하는 에피토프는 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생성된 단클론성 항-VEGF 항체 A4.6.1과 동일한 에피토프(본원에서 정의된 "에피토프 A.4.6.1"로 공지됨)에 결합하는 베바시주맵에 의해 인식되는 것이다. 본 발명의 항-VEGF 항체를 산출하기 위해 유용한 다른 형태의 VEGF는 당해분야의 숙련가에게 분명할 것이다.

[0124] 인간 VEGF는 먼저 하이브리드화 프로브로 소 VEGF cDNA를 이용하여 인간 세포에서 제조된 cDNA 라이브러리를 스크리닝하여 수득되었다. Leung 등(1989) Science, 246:1306. 그렇게 함으로써 확인된 하나의 cDNA는 소 VEGF에 95% 초과 상동성을 갖는 165-아미노산 단백질을 인코딩한다; 상기 165-아미노산 단백질은 전형적으로 인간 VEGF(hVEGF) 또는 VEGF₁₆₅로 불린다. 인간 VEGF의 미토겐성 활성은 포유동물 숙주 세포에서 인간 VEGF cDNA를 발현하여 확인되었다. 인간 VEGF cDNA로 형질감염된 세포에 의해 컨디셔닝된 배지는 모세관 내피 세포의 증식을 촉진시킨 반면, 대조군 세포는 그렇지 않았다. Leung 등(1989) Science, 상기와 동일. 재조합 DNA 기법을 통해 VEGF를 클로닝하고 발현하기 위한 추가 노력이 수행되었다. 예를 들면, [Ferrara, Laboratory Investigation 72:615-618(1995)], 및 여기에서 인용된 참조문헌 참고.

[0125] VEGF는 대안적인 RNA 스플라이싱으로 생성되는 다중 동형이량체 형태(모노머 당 121, 145, 165, 189 및 206 아미노산)로 다양한 조직에서 발현된다. VEGF₁₂₁은 헤파린에 결합하지 않는 가용성 미토겐이다; 더 긴 형태의 VEGF는 점진적으로 더 높은 친화도로 헤파린에 결합한다. VEGF의 헤파린-결합 형태는 플라스민에 의해 카복시 말단에서 절단되어 VEGF의 확산 형태(들)를 방출할 수 있다. 플라스민 절단 후 확인된 카복시 말단 펩타이드의 아미노산 시퀀스는 Arg₁₁₀-Ala₁₁₁이다. 동형이량체로 단리된 아미노 말단 "코어" 단백질, VEGF(1-110)는 중화 단클론성 항체(예컨대 4.6.1 및 3.2E3.1.1로 불리는 항체) 및 가용성 형태의 VEGF 수용체에는 온전한 VEGF₁₆₅ 동형이량체에 비해 유사한 친화도로 결합한다.

[0126] 태반 성장 인자(PlGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D 및 VEGF-E를 포함하는 VEGF에 구조적으로 관련된 몇몇 분자도 최근에 확인되었다. Ferrara and Davis-Smyth(1987) Endocr. Rev., 상기와 동일; Ogawa 등, J. Biological Chem. 273:31273-31281(1998); Meyer 등, EMBO J., 18:363-374(1999). 수용체 티로신 키나제, Flt-4(VEGFR-3)가 VEGF-C 및 VEGF-D에 대한 수용체로 확인되었다. Joukov 등, EMBO. J. 15:1751(1996); Lee 등, PNAS USA 93:1988-1992(1996); Achen 등(1998) PNAS USA 95:548-553. VEGF-C는 림프 혈관신생의 조절에 관여된 것으로 나타났다. Jeltsch 등, Science 276:1423-1425(1997).

- [0127] 두 VEGF 수용체, Flt-1(또한 소위 VEGFR-1) 및 KDR(또한 소위 VEGFR-2)이 확인되었다. Shibuya 등(1990) Oncogene 8:519-527; de Vries 등(1992) Science 255:989-991; Terman 등(1992) Biochem. Biophys. Res. Commun. 187:1579-1586. 뉴로필린-1은 헤파린-결합 VEGF 이소형에 결합할 수 있는 선택적 VEGF 수용체인 것으로 나타났다(Soker 등(1998) Cell 92:735-45).
- [0128] 본 발명의 특정 구현예에서, 항-VEGF 항체에는 비제한적으로 하이브리도마 ATCC HB 10709에 의해 생성된 단클론성 항-VEGF 항체 A4.6.1과 동일한 에피토프에 결합하는 단클론성 항체; [Presta 등(1997) Cancer Res. 57:4593-4599]에 따라 산출된 재조합 인간화 항-VEGF 단클론성 항체가 포함된다. 일 구현예에서, 항-VEGF 항체는 "rhuMab VEGF" 또는 "AVASTIN®"으로도 공지된 베바시주맙(BV 또는 Bev)이다. 이는 그 수용체에 대한 인간 VEGF의 결합을 차단하는 쥐과 항-hVEGF 단클론성 항체 A.4.6.1로부터의 항원-결합 상보성-결정 영역 및 돌연변이된 인간 IgG1 프레임워크 영역을 포함한다. 대부분의 프레임워크 영역을 포함하는 베바시주맙 아미노산 서열의 대략 93%는 인간 IgG1로부터 유도되며, 서열의 약 7%는 쥐과 항체 A4.6.1로부터 유도된다.
- [0129] 베바시주맙(AVASTIN®)은 FDA에 의해 승인된 최초의 항-혈관신생 요법이었으며, 전이성 결직장 암(정맥내 5-FU-기반 화학요법과 조합된 제1 선 치료(line treatment) 및 제2 선 치료), 진행된 비-편평상피, 비-소세포 폐암(NSCLC)(카보플라틴 및 파클리탁셀과 조합된, 절제 불가능한, 국소 진행된, 재발성 또는 전이성 NSCLC의 제1 선 치료) 및 전이성 HER2-음성 유방암(파클리탁셀과 조합된, 이전에 치료받지 않은, 전이성 HER2-음성 유방암)의 치료를 위해 승인된다.
- [0130] 베바시주맙 및 다른 인간화 항-VEGF 항체는 2005. 2. 26.에 발행된 미국 특허 번호 6,884,879에 기재되어 있다. 추가 항체에는 이들 특허 출원의 내용이 본원에 참고로 명시적으로 편입되는 PCT 공개 번호 W02005/012359, PCT 공개 번호 W02005/044853, 및 미국 특허 출원 60/991,302에 기재된 바와 같은 G6 또는 B20 시리즈 항체(예를 들면, G6-31, B20-4.1)가 포함된다.
- [0131] 본 발명에 따른 G6 시리즈 항체는 그 전체 개시내용이 본원에 참고로 명시적으로 편입된 PCT 공개 번호 W02005/012359의 도 7, 24-26, 및 34-35 중 임의의 하나에 따른 G6 항체 또는 G6-유도된 항체 서열로부터 유도되는 항-VEGF 항체이다. 또한 그 전체 개시내용이 본원에 참고로 명시적으로 편입된 PCT 공개 번호 W02005/044853을 참조하라. 일 구현예에서, G6 시리즈 항체는 잔기 F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 및 Q89를 포함하는 인간 VEGF 상의 기능적 에피토프에 결합한다.
- [0132] 본 발명에 따른 B20 시리즈 항체는 그 전체 개시내용이 본원에 참고로 명시적으로 편입된 PCT 공개 번호 W02005/012359의 도 27-29 중 임의의 하나에 따른 B20 항체 또는 B20-유도된 항체 서열에서 유도되는 항-VEGF 항체이다. 또한 이들 특허 출원의 내용이 본원에 참고로 명시적으로 편입되는 PCT 공개 번호 W02005/044853, 및 미국 특허 출원 60/991,302를 참조하라. 일 구현예에서, B20 시리즈 항체는 잔기 F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I91, K101, E103, 및 C104를 포함하는 인간 VEGF 상에서 상기에서 정의된 바와 같이 기능적 에피토프에 결합한다.
- [0133] 다른 구현예에서, 다른 항-VEGF 항체가 단독 항-VEGF 항체로서 또는 상술된 항-VEGF 항체의 사용에 부가하여 상술된 조합 요법에서 사용된다. 그와 같은 항체는, 예를 들면, 미국 특허 번호 7,060,269, 6,582,959, 6,703,020; 6,054,297; W098/45332; WO 96/30046; W094/10202; EP 0666868B1; 미국 특허 출원 공개 번호 2006009360, 20050186208, 20030206899, 20030190317, 20030203409, 및 20050112126; 및 [Popkov 등, Journal of Immunological Methods 288:149-164(2004)]에 기재된다. 이들 다른 항체에는 잔기 F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, I191, K101, E103, 및 C104를 포함하거나, 대안적으로 잔기 F17, Y21, Q22, Y25, D63, I83 및 Q89를 포함하는 인간 VEGF 상에서, 상기에서 정의된 바와 같이 기능적 에피토프에 결합하는 것들이 포함될 수 있다.
- [0134] 일부 구현예에서, 본원에서 기재된 방법 중 임의의 하나에서 유용한 항-VEGF 항체는 하기 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역:
- [0135] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF TSSLHSGVPS
- [0136] RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ GTKVEIKR (서열번호: 1), 및 하기 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 가질 수 있다:
- [0137] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPTY

[0138] AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP HYYGSSHWYF DVWGQGLTVT VSS

[0139] (서열번호: 2).

[0140] 또 다른 구현예에서, 항-VEGF 항체는 접합되지 않은, 예컨대 네이키드(naked) 항-VEGF 항체일 수도 있고, 또는 추가 유효성을 위해, 예컨대 반감기를 향상하기 위해 또 하나의 분자와 접합될 수 있다. 임의의 방법 및 용도에 있어서, 이것이 결합된 접합된 항체 및/또는 항원은 세포에 의해 내재화되어 이것이 결합하는 암 세포(예를 들면, 교모세포종 암 세포)의 사멸에서 콘주게이트의 증가된 치료적 효능을 야기한다. 예를 들면, 세포독성제는 암 세포에서 핵산을 표적으로 하거나 이를 방해할 수 있다. 그와 같은 세포독성제의 예에는 메이탄시노이드, 칼리키아마이신, 리보뉴클레아제 및 DNA 엔도뉴클레아제가 포함된다.

[0141] **IV. 약제학적 제형**

[0142] 본 발명에 따라 사용된, 본원에 기재된 사용 항체의 치료적 제형은 동결건조된 제형 또는 수용액 형태로 원하는 정도의 순도를 갖는 항체를 선택적인 약제학적으로 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제와 혼합하여 보관을 위해 제조된다. 제형에 관한 일반적인 정보에 대해서는, 예를 들면 [Gilman 등(eds.)(1990), *The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 8th Ed., Pergamon Press; A. Gennaro(ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, (1990), Mack Publishing Co., Eastori, Pennsylvania.; Avis 등, (eds.)(1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medication* Dekker, New York; Lieberman 등, (eds.)(1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* Dekker, New York; 및 Lieberman 등, (eds.)(1990), *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems* Dekker, New York, Kenneth A. Walters(ed.)(2002) *Dermatological and Transdermal Formulations*(*Drugs and the Pharmaceutical Sciences*), Vol 119, Marcel Dekker]를 참조하라.

[0143] 허용 가능한 담체, 부형제, 또는 안정제는 이용된 투여량 및 농도에서 수형체에 비독성이며, 버퍼, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실 디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 핵사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 주기로핵산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10 잔기 미만) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로블린; 친수성 폴리머, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당류, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염 형성 짝이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물(예를 들면, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN™, PLURONICS™, 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이 포함된다.

[0144] 예시적인 항-VEGF 항체 제형은 미국 특허 번호 6,884,879에 기재되어 있다. 특정 구현예에서, 항-VEGF 항체는 단회용 바이알에서 25 mg/mL로 제형화된다. 특정 구현예에서, 100 mg의 항-VEGF 항체는 240 mg α, α-트레할로스 디하이드레이트, 23.2 mg 나트륨 포스페이트(1염기성, 1수화물), 4.8 mg 나트륨 포스페이트(2염기성 무수), 1.6 mg 폴리소르베이트 20, 및 주사용수, USP 중에 제형화된다. 특정 구현예에서, 400 mg의 항-VEGF 항체는 960 mg α, α-트레할로스 디하이드레이트, 92.8 mg 나트륨 포스페이트(1염기성, 1수화물), 19.2 mg 나트륨 포스페이트(2염기성 무수), 6.4 mg 폴리소르베이트 20, 및 주사용수, USP 중에 제형화된다.

[0145] 피하 투여를 위해 채택된 동결건조된 제형은, 예를 들면 미국 특허 번호 6,267,958(Andya 등)에서 기재된다. 그와 같은 동결건조된 제형은 높은 단백질 농도로 적합한 희석제로 재구성될 수 있고, 재구성된 제형은 본원에서 치료될 포유동물로 피하 투여될 수 있다.

[0146] 길항제의 결정화된 형태도 고려된다. 예를 들면, 미국 2002/0136719A1을 참조하라.

[0147] 본원에서 제형은 또한 1 초과의 활성 화합물(전술한 바와 같은 제2 약제), 바람직하게는 서로 부정적으로 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 갖는 것들을 포함할 수 있다. 그와 같은 약제의 유형 및 유효량은, 예를 들면 제형에 존재하는 VEGF 길항제(예를 들면, 항-VEGF 항체, 예를 들면, 베바시주맙)의 양 및 유형, 그리고 대상체의 임상 파라미터에 의존한다. 바람직한 그와 같은 제2 약제는 상기에 주지된다.

[0148] 활성 성분은 또한, 예를 들면 콜로이드성 약물 전달 시스템(예를 들면, 리포솜, 알부민 마이크로구형체, 마이크로에멀전, 나노-입자 및 나노캡슐) 또는 매크로에멀전에서 각각, 예를 들면 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타실레이트) 마이크로캡슐의 코아세르베이션 기술 또는 계면 중합에 의해 제조

된 마이크로캡슐에 포획될 수 있다. 그와 같은 기술은 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980)]에 개시된다.

[0149] 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적당한 예에는 길항제를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반-투과성 매트릭스가 포함되며, 이 매트릭스는 형상화된 물질, 예를 들면, 필름, 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예에는 폴리에스테르, 하이드로겔(예를 들면, 폴리(2-하이드록시에틸-메타크릴레이트), 또는 폴리(비닐알코올)), 폴리락타이드(미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산 및 γ 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글라이콜산 공중합체, 예컨대 LUPRON DEPOT™(락트산-글라이콜산 공중합체 및 류프롤라이드 아세테이트로 이루어진 주사형 마이크로구형체), 및 폴리-D-(-)-3-하이드록시부티르산이 포함된다.

[0150] 생체내 투여를 위해 사용될 제형은 멸균되어야 한다. 이것은 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다.

[0151] **V. 키트**

[0152] 본 발명의 또 하나의 측면에서, 교모세포종(예를 들면, 새롭게 진단된 교모세포종 및/또는 전신경성 유형의 교모세포종)으로 진단된 환자의 치료에 유용한 물질을 함유하는 제조 물질이 제공된다. 제조 물질은 용기, 라벨 및 패키지 삽입물을 포함한다. 적합한 용기에는, 예를 들면, 병, 바이알, 주사기 등이 포함된다. 용기는 다양한 물질, 예컨대 유리 또는 플라스틱으로 형성될 수 있다. 용기는 상태 치료를 위해 효과적인 조성물을 보유하며, 멸균 액세스 포트를 가질 수 있다(예를 들면 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 스토포를 갖는 바이알 또는 정맥내 용액 백일 수 있음). 본 조성물에서 적어도 하나의 활성제는 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵)이다. 용기 상 또는 이와 관련된 라벨은 본 조성물이 선택 상태의 치료를 위해 사용됨을 시사한다. 제조 물질은 추가로, 약제학적으로-허용 가능한 버퍼, 예컨대 포스페이트-완충 염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 제2 용기를 추가로 포함할 수 있다. 여기에는 또한 다른 버퍼, 희석제, 필터, 바늘, 및 주사기를 포함하는 상업적 또는 사용자 관점에서 바람직한 다른 물질이 추가로 포함될 수 있다. 또한, 제조 물질은, 예를 들면 환자/대상체에 항-VEGF 항체(예를 들면, 베바시주맵) 조성물 및 화학치료제(예를 들면, TMZ)를 투여하기 위해 조성물의 사용자 설명 단계를 포함하는, 사용하기 위한 설명서를 포함하는 패키지 삽입물을 포함한다. 패키지 삽입물은 임의로 실시예 4에서 확인된 결과의 일부 또는 전부를 포함할 수 있다.

[0153] 항-VEGF 항체는 단독으로 또는 다른 항암 치료 화합물과 조합되어 키트로 포장될 수 있다. 키트에는 대상체에 단위 용량 투여를 보조하는 선택적 성분, 예컨대 분말 형태를 재구성하기 위한 바이알, 주사용 주사기, 맞춤형 IV 전달 시스템, 흡입기 등이 포함될 수 있다. 추가로, 단위 용량 키트는 조성물의 제조 및 투여를 위한 설명서를 함유할 수 있다. 본 키트는 하나의 대상체에 대한 단위 사용 단위 용량 또는 특정 대상체에 대한 다회 사용 용량으로 제조될 수 있다(개별 화합물은 요법이 진행됨에 따라 효력이 변할 수 있거나 일정한 용량임). 본 키트는 여러 대상체에 대한 투여에 적합한 다회 용량을 포함할 수 있다("벌크 포장"). 키트 구성요소는 상자, 블리스터 팩, 병, 튜브 등에 어셈블리될 수 있다.

[0154] 일부 구현예에서, 키트는 2 이하(예를 들면, 2, 1 또는 0)의 이전 항암 레지멘을 투여받은 환자에서의 의도된 사용을 위한 것이다.

[0155] **실시예**

[0156] 하기 실시예는 현재 청구된 본 발명을 제한하기 위해서가 아니라 예시하기 위해 제공된다.

[0157] **실시예 1. AvaGlio 연구**

[0158] AvaGlio 시험으로 새롭게 진단된 교모세포종에 대해 테모졸로마이드 및 방사선요법과 조합된 베바시주맵의 효능 및 안전성을 평가하였다. 상기 연구는 베바시주맵 + 화학요법 대 단독 화학요법의 전향성, 무작위화, 이중맹검, 위약 대조 III 상 평가로 설계되었다. 수술 절제 또는 생검 후 확립된 조직 진단으로 새롭게 진단된 교모세포종을 가진 환자 만이 적격 환자가 되었다. AvaGlio 시험은 화학요법 및 방사선요법에 베바시주맵을 부가함으로써, 제한된 치료 선택권을 가졌고 특히 불량한 예후에 직면했던 상기 환자 그룹에 대한 전체 생존률(OS) 및 무진행 생존(PFS)을 향상하는 것을 목표로 하였다. 일차 목적은 테모졸로마이드(TMZ) 및 방사선요법만으로 또는 테모졸로마이드 및 방사선요법 + 베바시주맵으로 무작위화된 환자의 OS 및 PFS를 비교하기 위한 것이었다.

[0159] *AvaGlio 연구의 개요*

[0160] 상기 시험은 3 개 상(동시, 유지, 및 단일요법) 및 2 개 치료군: TMZ 및 방사선요법(RT)(1군), 및 TMZ 및 RT +

베바시주맵(2군)으로 구성되었다. 환자를 두 군 중 하나에 무작위로 배정하였다(1:1). 도 1을 참조하라.

[0161] 1군(화학요법 및 방사선요법만): 적격 환자는 2주 마다 i.v. 10 mg/kg 위약과 조합된 RT의 첫 번째 날부터 마지막 날까지의 6주 동안 주 5 일 2 Gy RT 및 6주 동안 매일 경구 75 mg/m² TMZ를 투여받았다. 4주 치료 중단 후, 적격 환자는 2주 마다 i.v. 10 mg/kg 위약과 조합된 4주 일정마다 1-5 일에 6 주기의 150-200 mg/m² TMZ를 투여받았다. TMZ는 증량될 수 있는 150 mg/m² 용량으로 시작해서 경구 투여되었다. 이어서 위약 단일요법(3주 마다 15 mg/kg)을 질환 진행 전까지 계속하였다. 질환 진행 시, 환자를 연구자의 재량에 따라 치료하였다.

[0162] 2군(화학요법 및 방사선요법 + 베바시주맵): 적격 환자는 2주 마다 i.v. 10 mg/kg 베바시주맵과 조합된 RT의 첫 번째 날부터 마지막 날까지 6주 동안 주 5 일 2 Gy RT 및 6주 동안 매일 경구 75 mg/m² TMZ를 투여받았다. 4주 치료 중단 후, 적격 환자는 2주 마다 i.v. 10 mg/kg 베바시주맵과 조합된 4주 일정마다 1-5 일에 6 주기의 150-200 mg/m² TMZ를 투여받았다. TMZ는 증량될 수 있는 150 mg/m² 용량으로 시작해서 경구 투여되었다. 이어서 베바시주맵 단일요법(3주 마다 15 mg/kg)을 질환 진행 전까지 계속하였다. 질환 진행 시, 환자를 연구자의 재량에 따라 치료하였다.

[0163] 최초 베바시주맵 주입은 90분에 걸쳐, 후속 주입은 60 분에 이어 30분에 걸쳐 관용된 바에 따라 수행하였다. 베바시주맵은 RT 및 TMZ 치료 마지막 날에, 즉 TMZ 치료 중단 시작 전날 투여되었다.

[0164] PFS분석은 [Macdonald 등(*J. Clin. Oncol.* 8: 1277-80, 1990)]에 기재된 뇌 및 신경 평가 MRI를 이용한 중앙 평가 MacDonald 반응 기준(개정된 WHO 기준)에 기반하였다. 중앙 평가는 기준선에서, 4주 치료 중단 말기에, 이어서 8주 마다 수행되었다.

[0165] 연구 모집단 - 포함 기준

[0166] 18 세 이상, 수술 절제 또는 생검 후 구축된 조직 진단으로 천막상 교모세포종(GBM)이 새롭게 진단된 환자가 포함되었다. 여기에는 조직학적으로 확인된 GBM으로 상향 조절된 저등급 별아교세포종이 이전 진단된 치료-미접촉 화학요법 및 방사선요법 환자가 포함된다. 환자는 2 이하의 WHO 수행 상태를 가져야 했다.

[0167] 연구 모집단 - 제외 기준

[0168] 뇌의 수술 후 MRI 상에서 최근의 출혈 증거 시 후보 환자를 제외시켰다. 그러나 임상적으로 무증상인 혈철소(hemosiderin)의 존재, 수술 관련된 해소되는 출혈성 변화, 및 중앙 내 점상 출혈의 존재를 갖는 환자에게는 연구 내로의 진입이 허용되었다. 임상 시험 내로의 등록을 위한 MGMT 상태에 대한 이전의 중앙 스크리닝; 교모세포종 및 저등급 별아교세포종에 대한 임의의 이전 화학요법(카르무스틴-함유 웨이퍼(Gliadel®) 또는 면역요법(백신 요법 포함) 포함; 뇌에 대한 임의의 이전 방사선요법 또는 방사선 필드에서 잠재적 오버랩을 생성하는 이전의 방사선요법; 고혈압 위기 또는 고혈압 뇌병증의 이전 이력; 무작위화 전 1 개월 이내에 NCI-CTC 기준에 따른 2 등급 이상의 객혈 이력; 출혈 소질 또는 응고장애(치료 항응고제의 부재 하)의 증거; 무작위화 전 28 일 이내의 대수술 시술, 개방 생검, 두개내 생검, 뇌실복강 단락술 또는 유의미한 외상성 부상; 무작위화 전 7 일 이내의 중심부 생검(두개내 생검 제외) 또는 다른 소수술 시술 시에도 환자를 제외시켰다. 베바시주맵/위약 투여 전 2 일 이내에 수행된 경우 중앙 혈관 액세스 디바이스(CVAD)의 배치; 무작위화 전 6 개월 이내의 복부 누공 또는 위장관 천공 이력 무작위화 전 6 개월 이내의 두개내 농양 이력; 심각한 치유되지 않는 상처, 활성 궤양, 또는 미치료 골절 시에도 환자를 제외시켰다. 임신부 또는 수유부에 대해, 연구 치료 시작 전 7일 이내 또는 14 일 이내(연구 치료 시작 전 7 일 이내에 확인 소변 임신 시험 포함)에 혈청 임신 시험이 평가되었다. 또한 크게-효과적인, 호르몬 또는 비-호르몬 피임 수단(즉 자궁내 피임 디바이스)을 이용하지 않는 가임 여성(마지막 월경 후 2년 미만이고 수술적으로 불임이 아닌 것으로 정의됨) 및 남성; 무작위화 전 6개월 이하 이내의 뇌졸중 또는 일시적 허혈 발작(TIA) 이력, 무작위화 전 6개월 이하 이내의 수술적 보수를 필요로 하는 대동맥 동맥류 또는 최근 말초 동맥 혈전증을 포함하는 부적절하게 조절되지 않는 고혈압(지속되는 수축기 >150 mmHg 및/또는 확장기 >100 mmHg) 또는 유의미한 혈관 질환을 갖는 환자도 제외시켰다. 또한 무작위화 전 6 개월 이하 이내의 심근경색증 또는 불안정 협심증, 뉴욕 심장 협회(NYHA) II 등급 이상의 울혈성 심부전(CHF), 또는 임의의 연구 약물 또는 부형제에 대한 알려진 과민증을 가졌던 환자도 제외시켰다.

[0169] 실시예 2. Nanostring 유전자 발현 데이터를 이용한 FFPE-고정 샘플의 분류

[0170] 유전자 발현 하위유형으로의 임상 샘플 계층화는 표준 샘플 제조, 예를 들면 포르말린-고정, 파라핀-임베딩(FFPE) 기술을 이용한 고정이 표준 방법, 예를 들면 마이크로어레이를 이용한 분석에 대해 이용 가능한 RNA의

품질 및 양을 감소시킨다는 점에 의해 복잡해진다. 최근에, 단일-분자 분석 기술, 예를 들면 Nanostring nCounter(Geiss 등, *Biotechnol.* 26(3): 317-325, 2008)가 FFPE-고정 물질에서 유전자 발현을 분석하기 위해 이용 가능해졌다.

- [0171] 환자-유도된 샘플을 마이크로어레이 상에서 분석된 신선-냉동 샘플로부터 본래 정의된 유전자 발현 하위유형으로 배정하기 위해, 4-단계 접근법을 적용하였다. 구체적으로, 출원인은:
- [0172] 1. [Lai et al]에 의해 분류된 98 개 샘플에 대해 공개된 마이크로어레이 데이터를 재정규화하고 35 개 분류자 유전자에 대한 유전자 발현 중심을 계산하였다(참조 데이터).
- [0173] 2. 상기 중심을 동일한 Affymetrix 마이크로어레이 플랫폼(참조 데이터와 동일한 참조 분포로 정규화됨) 상에서 분석된 47 개 교묘세포종 샘플의 새로운 세트를 분류하기 위해 적용하였다(훈련 샘플).
- [0174] 3. Nanostring nCounter 시스템 상에서 동일한 47 개 훈련 샘플 내 분류자 유전자의 발현을 프로파일링하였다.
- [0175] 4. Affymetrix 마이크로어레이 데이터에 기반한 47 개 훈련 샘플에 배정된 하위유형 라벨을 이용하여 Nanostring 플랫폼에 대한 중심을 재보정하였다.
- [0176] 출원인은 본 기술 플랫폼 상에서만 분석된 신규한 샘플을 직접적으로 분류하기 위해 적용될 수 있는, 각각의 하위유형에 대한 하나씩의, Nanostring 플랫폼을 위한 3 개의 중심을 수득하였다.
- [0177] *Affymetrix 마이크로어레이 데이터에 대한 유전자 발현 중심의 수득*
- [0178] 출원인은 Genentech의 연구 데이터베이스로부터 hgu133plus2 Affymetrix 마이크로어레이 상에서 Lai 등(*Clin. Oncol.* 29(34): 4482-4490, 2011)에 의해 분석되고 분류된 98 개 샘플에 대한 미가공 발현 데이터를 수득하고, 데이터를 정규화하고(어레이에 걸쳐 비교 가능하게 만들고) 참조 분포를 저장하였다(Harbron 등, *Bioinformatics.* 23(18): 2493-2494, 2007).
- [0179] 아래에서 표 1에 나타낸 바와 같이, 본 출원인은 35 개 마이크로어레이 분류자 프로브(그 중 30 개는 서면 작성 시 주석을 단 유전자와 관련됨)로 데이터를 하위설정하고, 각각의 샘플을 Lai 등에 의해 배정된 하위유형 라벨과 연관시켰다.
- [0180] **표 1. Lai 등에 의해 공개된 정규화된 Affymetrix 발현 데이터로부터 결정된, Phillips 등에 의해 정의된 발현 하위유형에 대한 중심**

	Mes	PN	Prolif
205266_at	8.51	7.17	7.42
235417_at	10.25	8.48	8.85
223333_s_at	8.87	7.53	7.38
205547_s_at	11.57	9.20	10.03
202628_s_at	10.63	8.47	8.94
201058_s_at	9.52	7.66	8.35
211966_at	9.83	8.23	8.57
226658_at	10.48	9.12	9.60
211981_at	10.94	9.30	9.84
229438_at	7.87	7.13	7.17
201666_at	13.61	11.86	12.78
209396_s_at	13.51	11.18	12.49
215870_s_at	9.82	8.02	9.85
211564_s_at	9.32	7.09	9.06
218880_at	8.69	7.29	7.27
228033_at	7.12	6.78	8.13
222848_at	8.10	8.32	9.37
207165_at	8.43	8.46	9.20
229490_s_at	7.43	7.32	7.40
218585_s_at	8.25	8.73	9.25
209981_at	7.66	8.21	7.55
207723_s_at	6.04	8.35	6.40
227984_at	8.50	10.26	8.87
219537_x_at	8.23	9.95	8.36
218796_at	7.76	8.67	7.34
243779_at	5.69	6.98	5.34
214952_at	6.96	7.61	6.50
206850_at	7.71	8.42	7.67
204953_at	7.10	8.48	6.50
214279_s_at	9.28	10.60	9.86
226913_s_at	9.63	11.50	10.51
232833_at	5.74	7.14	6.33
214762_at	8.63	9.51	8.70
203146_s_at	8.90	9.99	9.10
219196_at	7.94	9.31	9.40

[0181]

[0182]

3 개의 하위유형-특이적 중심을 수득하기 위해, 평균을 계산하여 주어진 하위유형에 배정된 모든 샘플에 대해 개별적으로 각 유전자의 발현을 평균 내었다(표 1). 또한, 전체 데이터세트에 걸쳐 관찰된 각각의 분류자 프로브에 대한 평균 및 표준 편차를 저장하였다. 상기 참조 데이터세트는 Lai 등에 의해 분류된 바와 같은, 38 개 간질성(Mes), 30 개 전신경성(PN), 및 30 개 증식성(Prolif) 샘플을 포함하였다(표 2).

[0183]

표 2. 참조 데이터세트에서 이용 가능한 하위유형 별 샘플의 갯수

	샘플 갯수
Mes	38
PN	30
Prolif	30

[0184]

[0185]

Affymetrix 마이크로어레이 및 Nanostring nCounter 상에서 교차-분석된 교모세포종 샘플 분류

[0186]

다음으로, 47 개 신규 교모세포종 샘플(훈련 샘플)에 대한 Genentech의 연구 데이터베이스로부터 미가공 마이크로어레이 데이터를 수득하였고, 이는 또한 Nanostring nCounter 시스템 상에서 분석되었다. 각각의 마이크로어레이를 상기 가공된 것들과 동일한 참조 분포로 정규화하여 연구 간 비교가 가능하도록 하였다.

[0187]

훈련 샘플을 Phillips 등(*Cancer Cell*, 9(3): 157-173, 2006)에 의해 정의된 하위유형과 연관시키기 위해, 발현 데이터를 동일한 35 개 분류자 프로브(30 개의 주석을 단 단백질-코딩 유전자에 대응함)로 하위설정하고, 각각의 프로브 발현을 참조 데이터세트에서 동일한 프로브에 대해 관찰된 평균 및 표준 편차와 매치되도록 스케일 조정하였다.

[0188] 각각의 샘플에 있어서, 상기 정의된 3 개의 발현 중심 각각에 대한 Pearson 상관관계 계수를 결정하고, 이를 가장 높은 비-음성 상관관계 계수를 갖는 하위유형으로 배정하였다. 임의의 중심에 대해서도 양성 상관관계를 갖지 않는 샘플은 배정하지 않고 두었다.

[0189] 47 개 샘플 중, 26 개가 Mes로, 14 개가 PN으로, 그리고 7 개가 Prolif로 분류되었다(표 3).

[0190] **표 3. 훈련 데이터셋에서 이용 가능한 하위유형 별 샘플의 갯수**

	샘플 갯수
Mes	26
PN	14
Prolif	7

[0191]

[0192] *Nanostring nCounter* 플랫폼에 대한 하위유형-특이적 중심의 수득

[0193] 동일한 47 개 훈련 샘플을 또한 단백질-코딩 유전자위에 현재 매칭되는 모든 최초의 35 개 마이크로어레이 프로브를 나타내는 하기 30 개 분류자 유전자를 표적화하는 프로브를 특징으로 하는 Nanostring nCounter 상에서 분석하였다: ANGPTL4, ATP6V1G2, CENPK, CHI3LI, COL4A1, COL4A2, CSDC2, DLL3, DTL, E2F7, FOSL2, GABBR1, GALNT13, HMMR, KLRC3, LIF, MYL9, NCAM1, NDRG2, PDLIM4, PDPN, PLA2G5, RASL10A, SCG3, SERPINE1, SNAP91, SOX8, SPOCD1, TAGLN 및 TIMP1.

[0194] nCounter 분석된 소프트웨어에서 수득된 미가공 Nanostring 카운트를 log2로 변환시키고 모든 분석된 프로브에 걸쳐 발현 평균 및 표준 편차를 조정하여 동일한 참조 값으로 샘플에 걸쳐 정규화하였다. 3 개 하위유형에 대한 Nanostring-특이적 중심을 정의하기 위해, 각각의 3 개 하위유형에 대한 각각의 분류자 유전자에 대해 평균 발현을 다시 계산하였다(표 4).

[0195] **표 4. Phillips 발현 하위유형에 대한 Nanostring-특이적 중심**

유전자 명칭	Mes	PN	Prolif
ANGPTL4	0.13	-0.66	-0.82
ATP6V1G2	-0.20	1.41	0.35
CENPK	-0.32	0.31	1.21
CHI3LI	0.30	-1.08	-0.16
COL4A1	-0.87	-1.77	-0.91
COL4A2	-1.09	-1.96	-0.94
CSDC2	-0.48	0.34	-0.60
DLL3	-0.30	0.56	0.37
DTL	-0.39	0.51	0.99
E2F7	-0.48	-0.18	0.04
FOSL2	-0.51	-1.77	-1.44
GABBR1	-0.67	0.62	-0.58
GALNT13	0.12	0.90	-0.72
HMMR	-0.11	0.10	0.27
KLRC3	-0.19	1.15	0.53
LIF	0.08	-1.39	-0.77
MYL9	-0.15	-.148	-1.41
NCAM1	-0.04	1.08	0.14
NDRG2	0.21	0.87	0.20
PDLIM4	-0.27	-0.58	-0.48
PDPN	0.56	-0.65	0.21
PLA2G5	0.24	-0.33	0.32
RASL10A	-0.28	0.98	0.01
SCG3	-0.61	.065	-0.31
SERPINE1	0.24	-0.91	-0.28
SNAP91	-0.11	1.26	-0.04
SOX8	-0.44	0.78	0.33
SPOCD1	0.16	-1.17	-0.25
TAGLN	0.11	-1.29	-0.59
TIMP1	0.49	-0.96	-0.20

[0196]

[0197] 상기에서와 같이, 샘플을 가장 높은 Pearson 상관관계를 나타내는 하위유형으로 배정하였다. Nanostring-기반 하위유형 배정의 정확성을 벤치마킹하기 위해, 최초의 마이크로어레이-기반 클래스 라벨의 리콜값을 비교하였다. 샘플의 38/47(80.1%)에 대해 일치하는 배정을 관찰하였다(표 5).

[0198] 표 5. 훈련 데이터세트에 대한 Nanostring-기반 하위유형 배정의 리콜값

	Mes	PN	Prolif
Mes	20	1	0
PN	4	12	1
Prolif	2	1	6

[0199]

[0200] 위(false) 배정의 갯수를 감소시키기 위해, 하위유형 배정에 대해 더 엄격한, 예를 들면 샘플을 분류하기 위해 가장 작은 양의 Pearson 상관관계를 필요로 하는 필터를 배정할 수 있었다.

[0201] 실시예 3. AvaGlio 시험으로부터의 샘플의 Nanostring-기반 분류

[0202] 다음으로, 바이오마커가 Phillips(*Cancer Cell*, 9(3): 157-173, 2006)에 의해 정의된 유전자 발현 하위유형으로 평가될 수 있는 AvaGlio 시험으로부터의 349 개 샘플을 분류하였다. 각각의 치료군 내의 349 개의 바이오마커가 평가 가능한 환자의 선택된 기준선 특성을 표 6에 나타낸다.

[0203] 표 6. 바이오마커가 평가 가능한 환자의 선택된 기준선 특성

환자%		바이오마커가 평가 가능한 환자	
		RT/TMZ/PLB (n=178)	RT/TMZ/BEV (n=171)
중위 연령, 나이(범위)		58 (21-79)	59 (28-84)
성별	남성	64	60
	여성	36	40
WHO PS	0	50	47
	1-2	47	49
RPA 클래스 - CRF	III	12	14
	IV	63	59
	V	22	24
MGMT 상태	메틸화됨	26	23
	메틸화되지 않음	49	56
수술 상태	생검	6	6
	부분 절제	52	44
	완전 절제	39	46
KPS	50-80	32	32
	90-100	65	64
MMSE 스코어	<27	22	22
	≥27	75	73
코르티코스테로이드	있음	47	40
	없음	49	54

[0204]

[0205] 샘플을 하위유형-특이적 중심을 유도하기 위해 사용된 동일한 Nanostring 프로브 세트 분석하고, 동일한 유전자에 대한 발현 스코어를 동일한 기술 및 프로브 서열을 이용해서 수득하였다. 349 개 샘플 중에서, 우수한 예후와 연관된 것으로 공지된, 이소시트레이트 탈수소효소 1(IDH1) 유전자에 돌연변이(들)를 수반하는 환자로부터의 10 개 샘플은 상기 분석에서 제외하였다. 339 개의 나머지 IDH1 야생형 샘플 중에서, 미가공 Nanostring 카운트를 log2로 변환하였고, 모든 샘플에 걸친 평균 발현 및 표준 편차를 상기 실시예 2의 훈련 세트에 적용된 동일한 참조 값으로 조정하였다.

[0206] 분류를 위해, 30 개 분류자 프로브에 대한 발현 값만을 고려하였고, 각각의 샘플에 대해 3 개의 Nanostring-특이적 중심 각각에 대한 Pearson 상관관계 계수를 결정하였다. 샘플을 가장 높은 양의 상관관계 계수를 갖는 하위유형으로 배정하였다. 42 개(12.3%) 샘플은 임의의 중심에도 임의의 양의 상관관계를 나타내지 않았고, "미분류"로 표지되었다(표 7).

[0207] 표 7. AvaGlio 시험 샘플에 대한 하위유형 배정

	AvaGlio 샘플 갯수
간질성	141
전신경성 (PN)	99
증식성	57
미분류	42

[0208]

[0209] 상술된 30 개 분류자 유전자에 기반한 Phillips 하위유형 분류 및 95 개 분류자 유전자에 기반한 TCGA 하위유형 분류(Verhaak 등, *Cancer Cell*. 17(1): 98-110, 2010) 간 비교를 아래 표 8에 나타낸다.

[0210] 표 8. Phillips 및 TCGA 분류에 기반한 하위유형 배정의 비교

		Phillips			
TCGA		전신경성	간질성	증식성	미분류
	전신경성	70	1	13	8
	간질성	6	109	3	14
	전형적	12	24	33	10
	미분류	0	3	1	10
	신경성	11	4	7	0

[0211]

[0212] Phillips 등에 의해 정의된, PN 하위유형의 교모세포종을 갖는 것으로 분류된 99 명의 환자 중에서, 치료군에 의해 구분된 선택된 기준선 특성을 아래 표 9에 나타낸다.

[0213] 표 9. PN 하위유형 환자의 선택된 기준선 특성

		전신경성(IDH1 야생형 종양)	
환자%		RT/TMZ/PLB	RT/TMZ/BEV
		(n=56)	(n=43)
중위 연령, 나이(범위)		58.5 (21-78)	59 (36-84)
성별	남성	68	54
	여성	32	42
WHO PS	0	52	30
	1-2	48	66
RPA 클래스 - CRF	III	12	7
	IV	64	60

[0214]

	V	23	28
MGMT 상태	메틸화됨	27	37
	메틸화되지 않음	54	40
수술 상태	생검	7	9
	부분 절제	57	56
	완전 절제	36	30
KPS	50-80	36	42
	90-100	64	54
MMSE 스코어	<27	25	26
	≥27	75	65
코르티코스테로이드	있음	54	49
	없음	46	46

[0215]

[0216] 3 개 유전자 발현 하위유형으로의 AvaGlio 샘플 분류가 얼마나 강력한지를 조사하기 위해, 또한 동일한 30 개 분류자 유전자를 이용해서 미감독 분석(대표객체(medoid) 주변 분할(Kaufman & Rousseeuw, *Clustering by Means of Medoids*. Reports of the Faculty of Mathematics and Informatics, Delft University of Technology, 1987)을 수행하고, 샘플을 3 개 클러스터로 정렬하였다(k=3). 중요하게는, 클러스터의 성질은 사전-명시되지 않았지만, 알고리즘에 의해 자동 결정되었다. 이들의 발현이 최종 클러스터 배치와 매치되지 않았음을 시사하는 음의 Silhouette 폭을 갖는 샘플은 "미분류"로 표시하였다.

[0217] 출원인은 감독 및 미감독 분석 간 매우 높은 일치율을 관찰하였다, 예를 들면 자동 결정된 샘플 클러스터는 중심 점-유도된 하위유형과 상당히 오버랩되었다(표 10).

[0218] 표 10. AvaGlio 샘플의 감독 및 미감독 계층화

		감독된 하위유형			
		Mes	PN	Prolif	미분류
PAM	Mes	137	0	2	25
	PN	1	91	4	11
	Prolif	1	7	43	2
	미분류	2	1	8	4

[0219]

[0220] 실시예 4. 전신경성(PN) 유형 교모세포종을 갖는 환자는 AvaGlio 시험에서 베바시주맵 치료 후 무진행 생존(PFS) 및 전체 생존률(OS)의 연장을 나타내었음

[0221] III상 AvaGlio 시험에서, 치료군에서 항-VEGF 항체 요법의 부가는 위약군에 비해 약 4.4 개월 중앙값 무진행 생존(PFS)을 전반적으로 증가시켰지만, 중앙값 전체 생존률(OS)은 군 간에 유의미하게 상이하지 않았다. 따라서 교모세포종의 중앙 유전자 발현 하위유형에 의한 Phillips 분류를 이용해서 정의된 임의의 환자가 RT 및 화학요법을 이용한 치료에 대한 항-VEGF 요법의 부가로부터 OS 이점을 유도하는지 결정하였다.

[0222] Phillips 분류를 이용해서 정의된 교모세포종의 하위유형에 따른 PFS 및 OS 데이터 모두의 계층화 시, PN 유형의 교모세포종을 갖는 환자에 대한 위약군 대비 AvaGlio 시험의 치료군에서 PFS 및 OS 증가를 관찰하였다(n = 99 환자, AvaGlio 연구에서 모든 환자의 대략 28.3%를 나타냄).

[0223] 표준 관리 하에서 가장 나쁜 OS 예후를 갖는 PN 환자의 PFS에 대해, 위약군 대비 치료군에서 0.58의 위험비(HR)(95% 신뢰도 구간(CI) = 0.37-0.9; p = 0.015)를 가지고, 약 4.3 개월의 중앙값 PFS 연장을 관찰하였다(도 2a 참고). PN 환자의 OS에 대해, 위약군 대비 치료군에서 0.63의 위험비(HR)(95% CI = 0.4-0.99; p = 0.043)를 가지고, 약 4.9 개월의 중앙값 OS의 연장을 관찰하였다(도 2b 참고).

[0224] 또한, 공지된 임상 예후 공변량(예를 들면, 연령, 코르티코스테로이드, 절제 범위, 성별, Karnofsky 수행 스코어(KPS), 0-6-메틸구아닌-DNA 메틸전달효소(MGMT) 프로모터의 메틸화 상태, 미나-정신 상태 시험 스코어(MMSE), 재귀 분할 분석(RPA) 클래스, 및 WHO 수행 스코어)을 설명하기 위해 OS 상에서 RT 및 화학요법과 조합된 항-VEGF 요법(예를 들면, 항-VEGF 항체 요법, 예를 들면, 베바시주맵 요법) 효과의 다변량 분석을 수행하였다. Phillips에 의해 정의된, PN 및 비-PN 하위유형 교모세포종 중앙을 갖는 환자에 대한 OS에 피팅된 다변량 Cox 비례 위험(PH) 모델을 이용하여 상기 분석을 수행하였다. 다변량 Cox PH는 항-VEGF 요법이 비-PN 하위유형 교모세포종을 갖는 환자에 대해서가 아니라 PN 하위유형 교모세포종을 갖는 환자에 대해 유의미한 OS 이점을 야기함을 시사한다(도 3). 구체적으로, PN 하위유형 교모세포종을 갖는 환자에 대해, 치료군에서의 중앙값 OS는 HR 0.42(95% CI = 0.24-0.72; p = 0.002)를 가지며 위약군에서의 12.2 개월에 비해 17.1 개월이었다(도 4a). 비-PN 하위유형 교모세포종을 갖는 환자에 있어서, HR은 1.03(95% CI = 0.76-1.39; p = 0.863)이었다(도 4b).

[0225] TCGA(Verhaak 등, *Cancer Cell*. 17(1): 98-110, 2010)에 의해 분류된 PN 및 비-PN 하위유형 교모세포종을 갖는 환자에 대한 OS 상에서 항-VEGF 요법(예를 들면, 항-VEGF 항체 요법, 예를 들면, 베바시주맵 요법) 효과의 다변량 분석도 PN 하위유형 교모세포종을 갖는 환자에 대해 유의미한 OS 이점을 시사하였다(도 5a 및 5b).

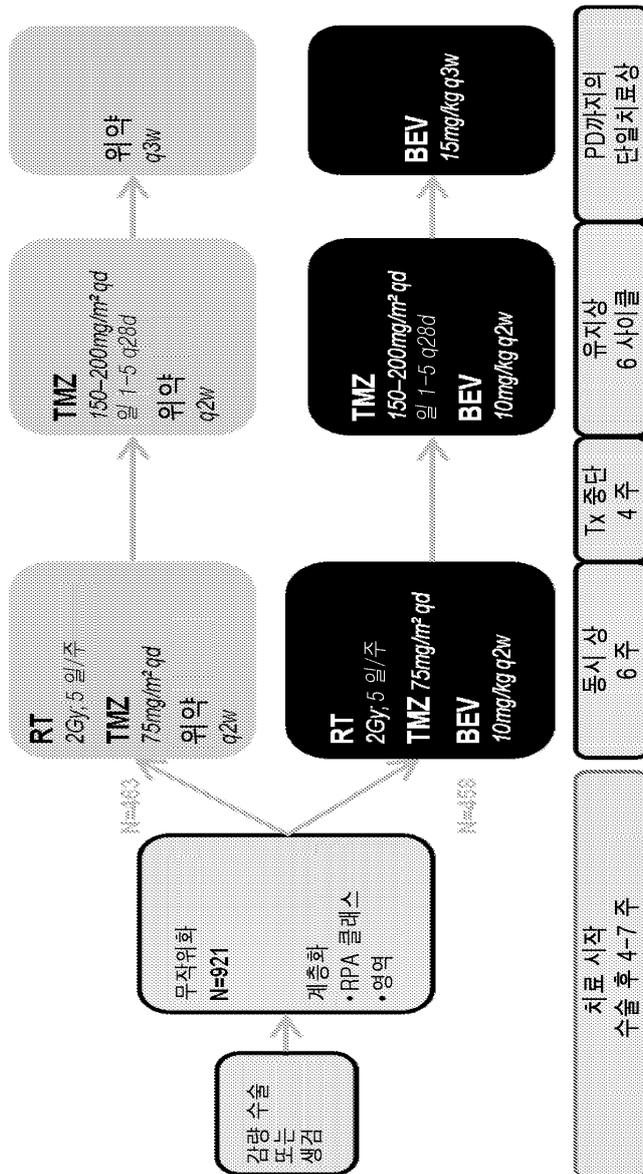
[0226] 이들 데이터는 항-VEGF 항체 요법(예를 들면, 베바시주맵 요법)이 PN 유형의 교모세포종을 갖는 환자에 대한 유의미한 PFS 및 OS 향상(즉, PFS 및 OS 시간의 연장)과 연관됨을 나타낸다.

[0227] 전술된 발명은 일부 상세히 예시로서 그리고 이해의 명쾌함을 목적을 위한 예로서 기재되었지만, 설명 및 예는 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본원에서 언급된 모든 특허, 특허 출원, 과학적 참조

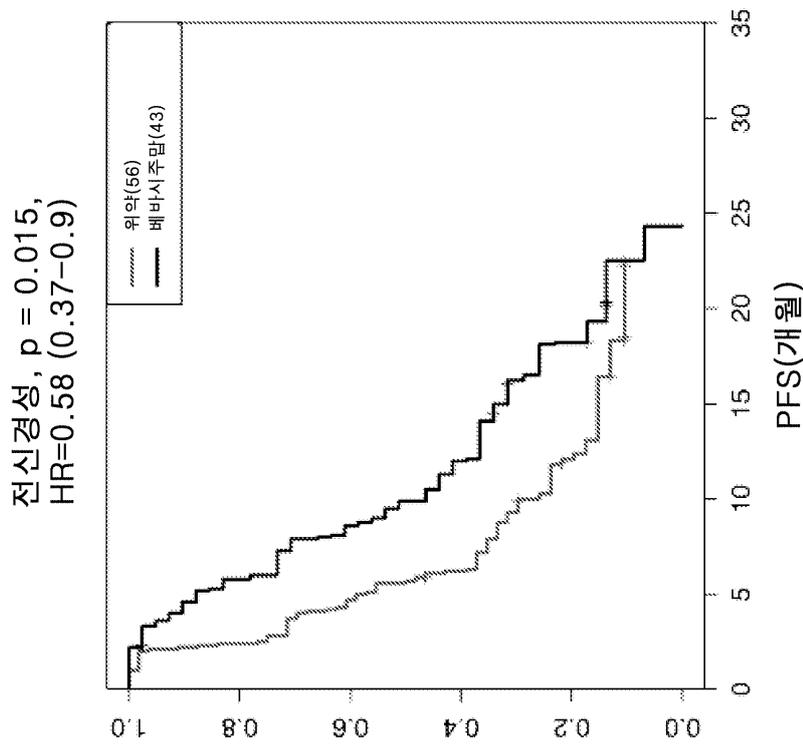
문헌, 및 유전자은행 수납 번호의 개시내용은 각각의 특허, 특허 출원, 과학적 참조문헌, 및 유전자은행 수납 번호가 구체적으로 및 개별적으로 참고로 편입된 것과 같이 모든 목적에 대해 그 전체가 참고로 명시적으로 편입된다. 그와 같은 특허 출원에는 구체적으로 각각 본원이 이점을 청구하는, 2013. 8. 30. 및 2014. 5. 29.에 출원된 미국 특허 가출원 번호 61/872,165 및 62/004,687이 포함된다.

도면

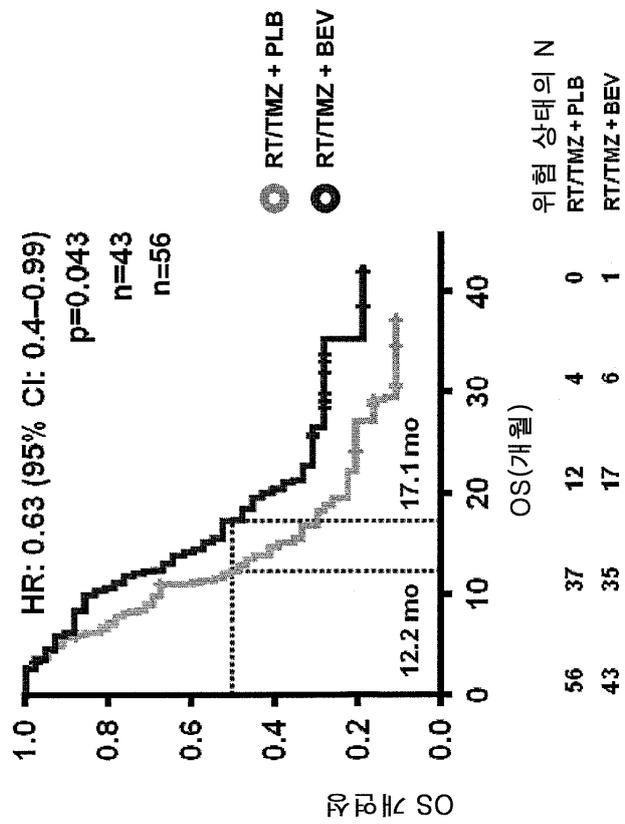
도면1



도면2a

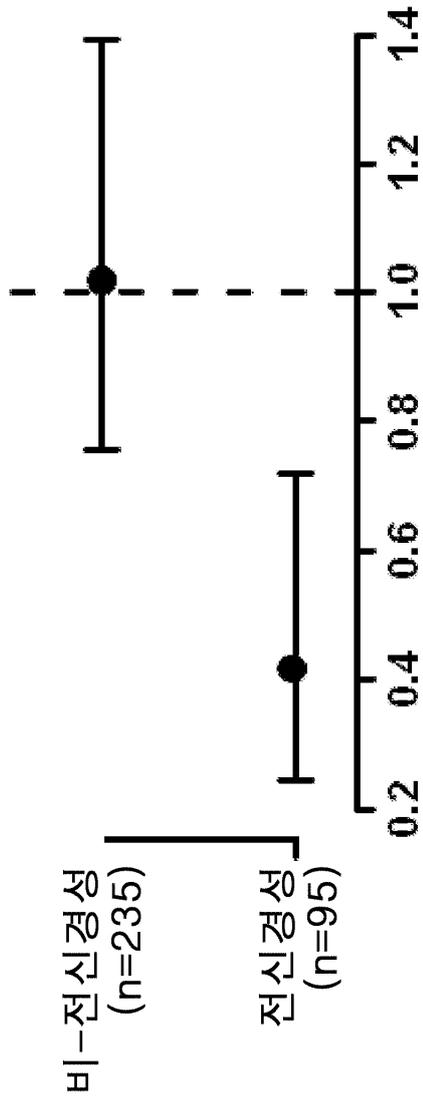


도면2b

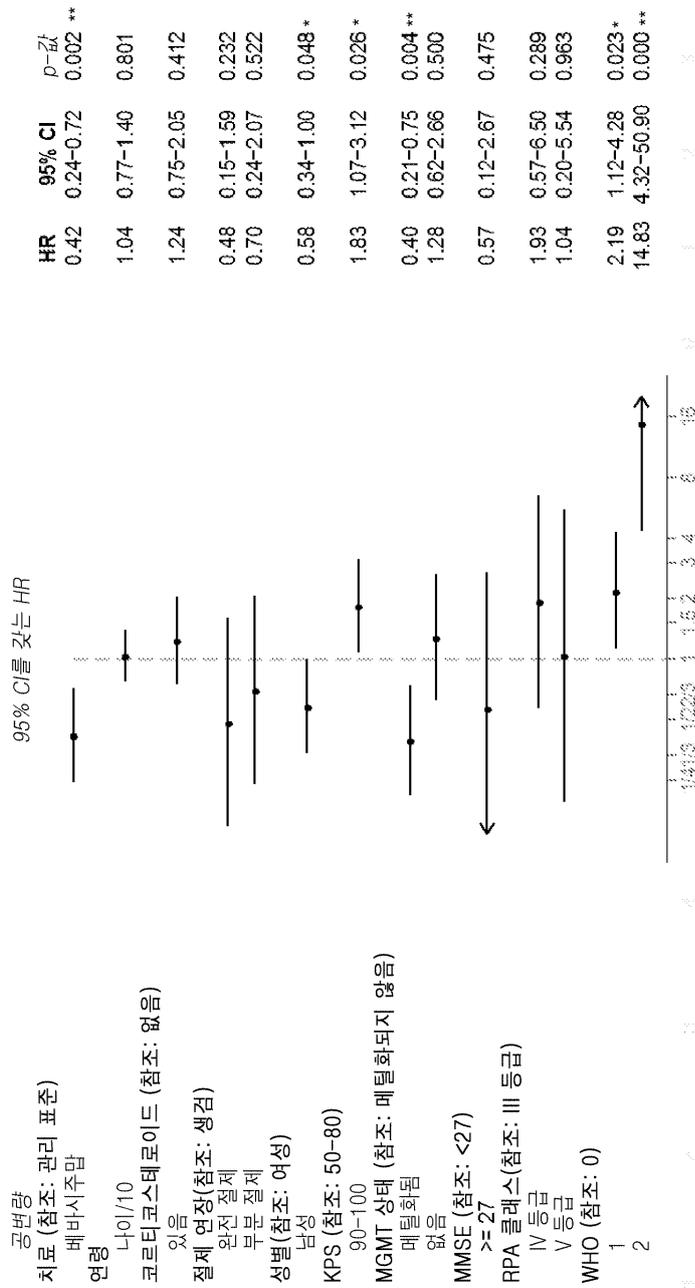


도면3

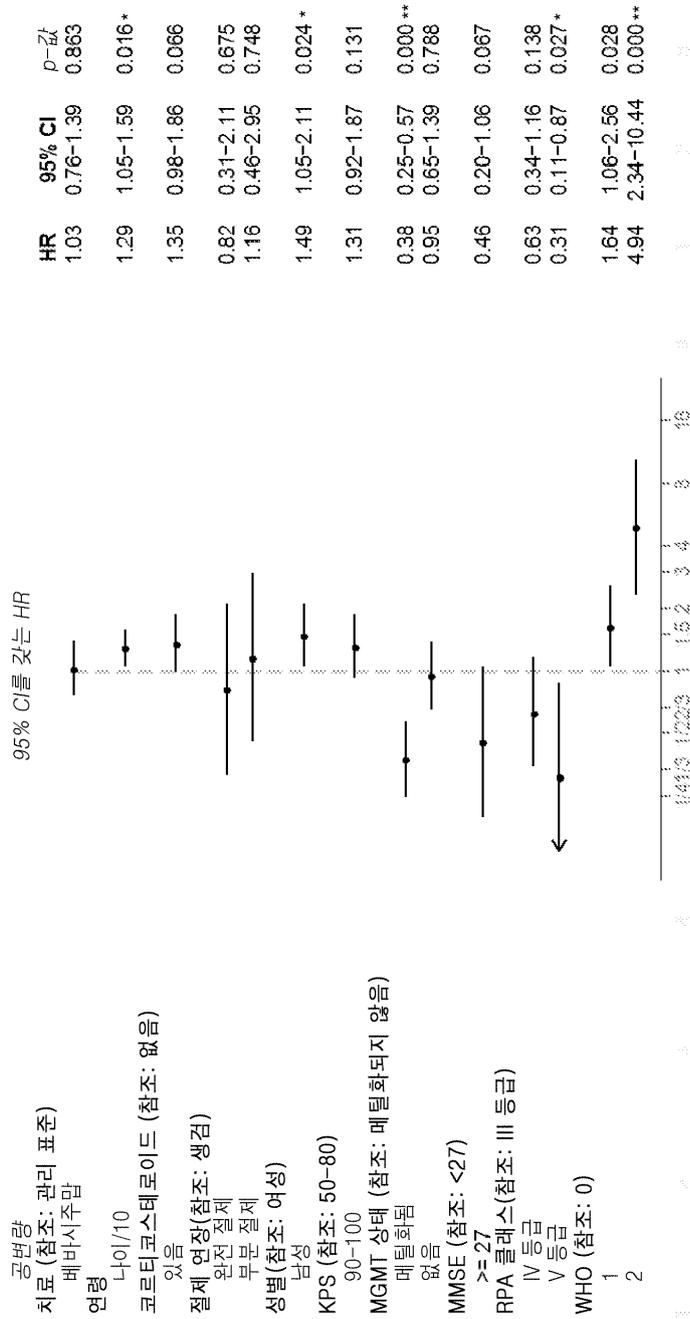
예 후 인자에 대해 조정된 다변량 분석



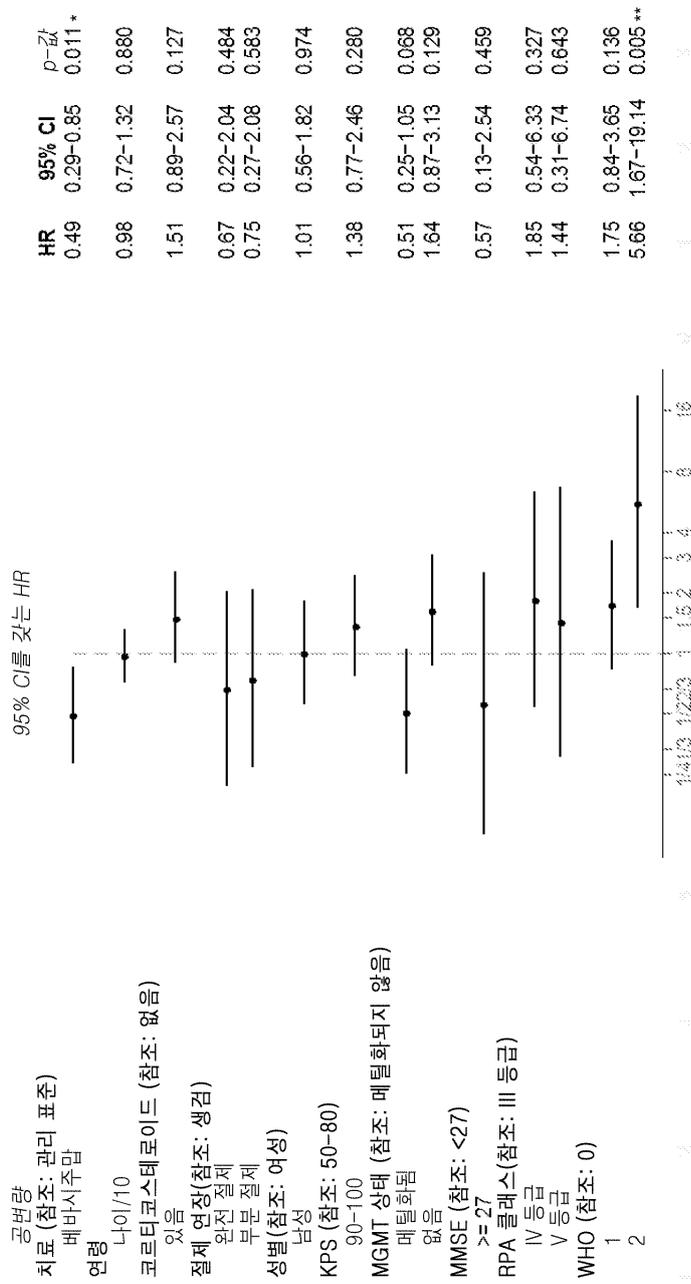
도면4a



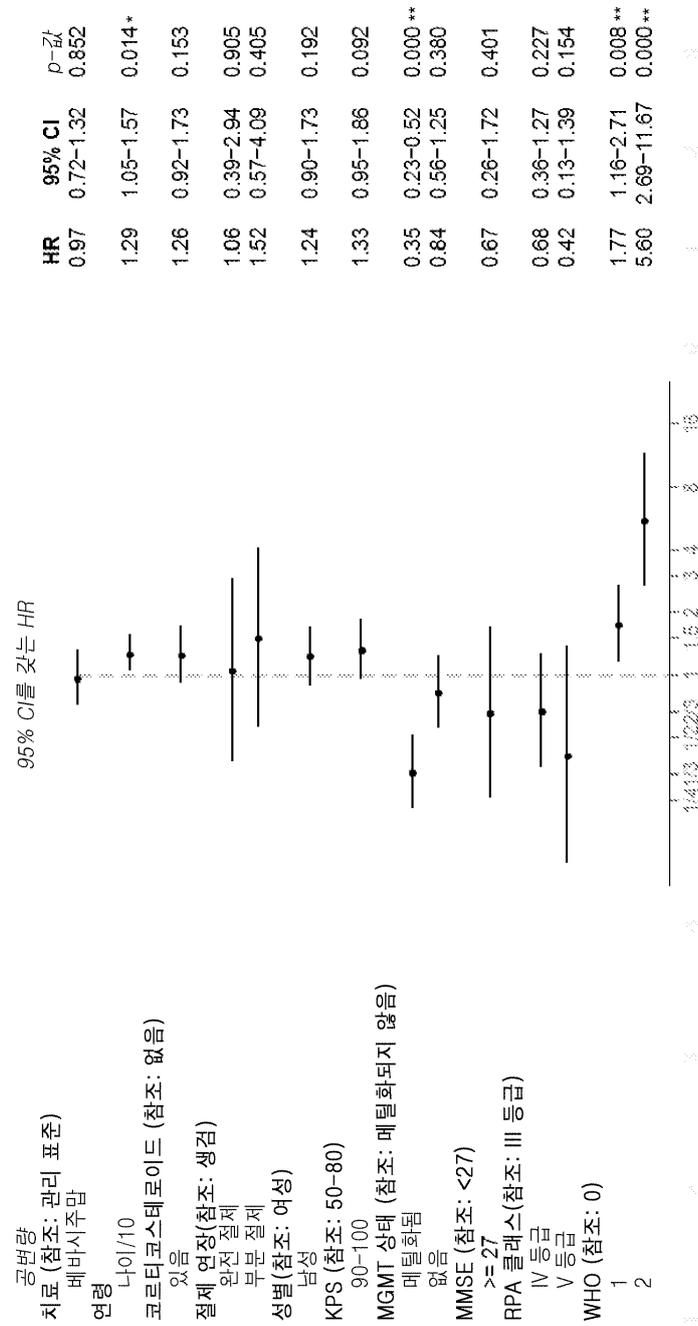
도면4b



도면5a



도면5b



서면부분

- <110> Genentech, Inc.
- F. Hoffmann-La Roche AG
- <120> COMBINATION THERAPY FOR THE TREATMENT OF GLIOBLASTOMA
- <130> 50474-056W03
- <150> US 62/004,687
- <151> 2014-05-29
- <150> US 61/872,165

<151> 2013-08-30
 <160> 2
 <170> Kopatent In 2.0
 <210> 1
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 1

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Thr Val Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 2
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20

25

30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe

50

55

60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120