



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0021252  
(43) 공개일자 2019년03월05일

- |  |  |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/><b>C12Q 1/6886</b> (2018.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/><b>C12Q 1/6886</b> (2018.05)<br/><b>C12Q 2600/106</b> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 <b>10-2018-7037303</b></p> <p>(22) 출원일자(국제) <b>2017년05월25일</b><br/>심사청구일자 <b>없음</b></p> <p>(85) 번역문제출일자 <b>2018년12월21일</b></p> <p>(86) 국제출원번호 <b>PCT/IB2017/053094</b></p> <p>(87) 국제공개번호 <b>WO 2017/203468</b><br/>국제공개일자 <b>2017년11월30일</b></p> <p>(30) 우선권주장<br/>62/341,333 2016년05월25일 미국(US)<br/>62/344,836 2016년06월02일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/><b>인바이오모션 에스.엘.</b><br/>스페인 08028 바르셀로나 8 에이브이. 디아고날 601</p> <p>(72) 발명자<br/><b>테르세로 후안 카를로스</b><br/>스페인 28028 마드리드 칼레 프란시스코 나바세라 다 31 2° 데차<br/><b>고미스 로저</b><br/>스페인 08029 바르셀로나 칼레 아베니르 35 1-2<br/>(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/><b>김진희, 김태홍</b></p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 78 항

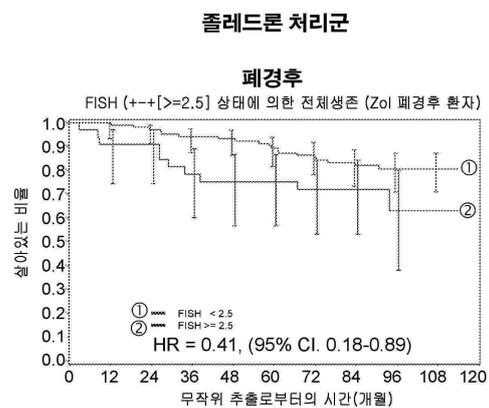
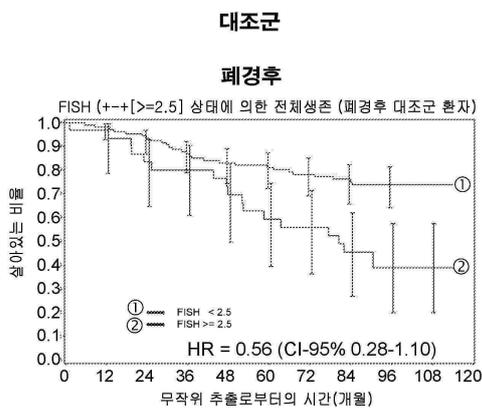
(54) 발명의 명칭 **c-MAF 상태에 기초한 유방암의 치료**

(57) 요약

본 발명은 유방암을 갖는 대상체의 c-MAF 발현 수준 및 폐경 상태에 기초한, 상기 대상체를 위한 맞춤형 요법의 설계에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 맞춤형 요법은 골 분해를 방지 또는 예방하기 위한 제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 골 분해를 방지 또는 예방하기 위한 제제는 졸레드론산이다.

대표도

- 폐경후 환자에서 MAF FISH에 따른 OS에 대한 졸레드론산 처리의 영향



(52) CPC특허분류

C12Q 2600/118 (2013.01)

C12Q 2600/158 (2013.01)

(72) 발명자

**폴먼 로버트 이**

영국 에스10 3엘제트 셰필드 카식 뷰 로드 8

**그레고리 월터 마틴**

영국 엘에스29 9엔디 웨스트 요크셔 일클리 패리쉬  
길 드라이브 2 애슈번 하우스 3

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

유방암을 갖는 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법으로서,

- i) 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및
- ii) i)에서 획득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계

를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있지 않을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉬운 것인, 유방암을 갖는 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 대상체가 폐경후가 아닌 것인 방법.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 대상체가 폐경후인 방법.

#### 청구항 4

유방암을 갖는 폐경후가 아닌 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법으로서,

- i) 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및
- ii) i)에서 획득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며,

발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉽지 않은 것인, 유방암을 갖는 폐경후가 아닌 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법.

#### 청구항 5

유방암을 갖는 폐경후 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법으로서,

- i) 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및
- ii) i)에서 획득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며,

발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉬운 것인, 유방암을 갖는 폐경후 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법.

#### 청구항 6

제1항 내지 제5항 및 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에게 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 실시하는 것인 방법.

#### 청구항 7

제4항에 있어서, 대상체에게 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 실시하지 않는 것인 방법.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 골 재형성(비제한적으로 분해 포함)을 예방 및/또는 치료하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법은, 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억

제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, 칼시토닌, 라툼-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억제제, 및 카텝신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된, 골 재형성을 예방 또는 억제하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하도록 의도된 제제인 방법.

**청구항 9**

제8항에 있어서, RANKL 억제제는 RANKL 특이적 항체, RANKL 특이적 나노바디, 및 오스테오프로테게린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

**청구항 10**

제9항에 있어서, RANKL 특이적 항체는 테노수맙인 방법.

**청구항 11**

제8항에 있어서, 비스포스포네이트는 졸레드론산인 방법.

**청구항 12**

제9항에 있어서, RANKL 특이적 나노바디는 ALX-0141인 방법.

**청구항 13**

제8항에 있어서, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제는 카보잔티닙인 방법.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, c-MAF 유전자 발현 수준의 정량화는 상기 유전자의 메신저 RNA(mRNA) 또는 상기 mRNA의 단편, 상기 유전자의 상보적 DNA(cDNA) 또는 상기 cDNA의 단편을 정량화하거나, 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질의 수준을 정량화하는 것을 포함하는 것인 방법.

**청구항 15**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 정량적 중합효소 연쇄 반응(PCR), 또는 DNA 또는 RNA 어레이, FISH, 또는 뉴클레오타이드 혼성화 기술에 의해 정량화되는 것인 방법.

**청구항 16**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질의 수준은 웨스턴 블롯, ELISA, 면역조직화학법 또는 단백질 어레이에 의해 정량화되는 것인 방법.

**청구항 17**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질의 수준은, 서열 번호 21의 중쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 22의 중쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 23의 중쇄 CDR3을 포함하고/하거나; 서열 번호 18의 경쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 19의 경쇄 CDR2 및/또는 서열 번호 20의 경쇄 CDR3을 포함하는 항체를 사용하여 정량화되는 것인 방법.

**청구항 18**

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득은 c-MAF 유전자 특이적 프로브를 사용하여 결정되는 것인 방법.

**청구항 19**

제18항에 있어서, c-MAF 유전자 특이적 프로브는 Vysis LSI/IGH MAF 이중 색상 이중 융합 프로브인 방법.

**청구항 20**

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 기준값은 전이를 겪지 않은 대상체로부터의 유방암의 중앙 조직 샘플의 값인 방법.

**청구항 21**

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 증폭 또는 획득은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정되는 것인 방법.

**청구항 22**

골 재형성을 예방 또는 억제하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가되거나 증가되지 않은 c-MAF 발현 수준을 갖는 대상체에서 골 전이를 치료하는 방법으로서,

골 분해를 방지 또는 예방하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제는, 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, EGFR 억제제, 칼시토닌, 라뎀-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억제제, 및 카텡신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

**청구항 23**

제22항에 있어서, 대상체가 폐경후가 아닌 것인 방법.

**청구항 24**

제22항에 있어서, 대상체가 폐경후인 방법.

**청구항 25**

골 재형성을 예방 또는 억제하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가된 c-MAF 발현 수준을 갖는 폐경후 대상체에 골 전이를 치료하는 방법으로서,

골 재형성을 방지 또는 예방하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제는 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, EGFR 억제제, 칼시토닌, 라뎀-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억제제, 및 카텡신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

**청구항 26**

제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, RANKL 억제제는 RANKL 특이적 항체, RANKL 특이적 나노바디, 및 오스테오프로테게린의 군으로부터 선택되는 것인 방법.

**청구항 27**

제26항에 있어서, RANKL 특이적 항체는 데노수맙인 방법.

**청구항 28**

제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 비스포스포네이트는 졸레드론산인 방법.

**청구항 29**

제26항에 있어서, RANKL 특이적 나노바디는 ALX-9141인 용도.

**청구항 30**

제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제는 카보잔티닙인 용도.

**청구항 31**

유방암을 앓고 있는 대상체를 코호트로 분류하는 방법으로서,

- a) 상기 대상체의 유방 중앙 샘플에서 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계;
- b) 상기 샘플에서의 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 c-MAF 발현의 소정의 기준 수준과 비교하는 단계; 및
- c) 샘플에서의 상기 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득, 그리고 폐경후 또는 폐경후가 아닌 것으로서의 대상체의 상태에 기초하여 상기 대상체를 코호트로 분류하는 단계를 포함하는, 유방암을 앓고 있는 대상체를 코호트로 분류하는 방법.

**청구항 32**

제31항에 있어서, 대상체에게 그의 c-MAF 발현 수준 및/또는 그의 폐경후 또는 폐경후가 아닌 상태에 기초하여 상이한 치료를 실시하는 것인 방법.

**청구항 33**

제22항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, c-MAF 발현 수준의 정량화는 상기 유전자의 메신저 RNA(mRNA) 또는 상기 mRNA의 단편, 상기 유전자의 상보적 DNA(cDNA) 또는 상기 cDNA의 단편을 정량화하거나, 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질의 수준을 정량화하는 것을 포함하는 것인 방법.

**청구항 34**

제22항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질의 수준은 서열 번호 21의 중쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 22의 중쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 23의 중쇄 CDR3을 포함하고/하거나; 서열 번호 18의 경쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 19의 경쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 20의 경쇄 CDR3을 포함하는 항체를 사용하여 정량화되는 것인 방법.

**청구항 35**

제1항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 증폭은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정되는 것인 방법.

**청구항 36**

제35항에 있어서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH: fluorescence *in situ* hybridization), 발색 원위치 혼성화(CISH: chromogenic *in situ* hybridization) 또는 은 원위치 혼성화(SISH: silver *in situ* hybridization)인 방법.

**청구항 37**

제36항에 있어서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH)인 방법.

**청구항 38**

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9$  또는  $3.0$ 인 방법.

**청구항 39**

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.2$ 인 방법.

**청구항 40**

제1항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.3$ 인 방법.

**청구항 41**

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.4$ 인 방법.

**청구항 42**

제1항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.5$ 인 방법.

**청구항 43**

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가 < 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 또는 3.0인 방법.

**청구항 44**

제1항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 카피 수는 세포당 평균 카피 수로서 결정되는 것인 방법.

**청구항 45**

유방암을 갖는 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법으로서,

i) 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및

ii) 단계 i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계

를 포함하며, 상기 기준값에 대해 상기 유전자의 증가된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 불량한 IDFS를 나타내는 것인, 유방암을 갖는 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법.

**청구항 46**

유방암을 갖는 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법으로서,

기준에 대해 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계를 포함하며,

상기 기준에 대한 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가는 불량한 IDFS를 나타내는 것인, 유방암을 갖는 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법.

**청구항 47**

유방암을 갖는 환자의 골 재발(bone recurrence)을 제외한 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법으로서,

기준에 대해 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계를 포함하며,

상기 기준에 대한 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가는 불량한, 골 재발을 제외한 IDFS를 나타내는 것인, 유방암을 갖는 환자의 골 재발을 제외한 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법.

**청구항 48**

제45항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, c-MAF 발현 수준의 정량화는 상기 유전자의 메신저 RNA(mRNA) 또는 상기 mRNA의 단편, 상기 유전자의 상보적 DNA(cDNA) 또는 상기 cDNA의 단편을 정량화하거나, 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질의 수준을 정량화하는 것을 포함하는 것인 방법.

**청구항 49**

제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질의 수준은 서열 번호 21의 중쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 22의 중쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 23의 중쇄 CDR3을 포함하고/하거나; 서열 번호 18의 경쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 19의 경쇄 CDR2 및/또는 서열 번호 20의 경쇄 CDR3을 포함하는 항체를 사용하여 정량화되는 것인 방법.

**청구항 50**

제45항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 증폭은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정되는 것인 방법.

**청구항 51**

제50항에 있어서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH), 발색 원위치 혼성화(CISH) 또는 은 원위치 혼성화(SISH)인 방법.

**청구항 52**

제51항에 있어서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH)인 방법.

**청구항 53**

제45항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.1$ , 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 또는 3.0인 방법.

**청구항 54**

제45항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.2$ 인 방법.

**청구항 55**

제45항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.3$ 인 방법.

**청구항 56**

제45항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.4$ 인 방법.

**청구항 57**

제45항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수가  $\geq 2.5$ 인 방법.

**청구항 58**

제45항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 카피 수는 세포당 평균 카피 수로서 결정되는 것인 방법.

**청구항 59**

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 유방암은 ER+ 유방암인 방법.

**청구항 60**

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 유방암은 ER- 유방암인 방법.

**청구항 61**

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 유방암은 삼중 음성 유방암인 방법.

**청구항 62**

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 유방암은 기저형 서브타입(basal-like subtype)을 갖는 것인 방법.

**청구항 63**

제1항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 유방암은 HER2+ 유방암인 방법.

**청구항 64**

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 골 재형성을 예방 또는 억제할 수 있는 제제는 골 분해를 예방 또는 억제할 수 있는 제제인 방법.

**청구항 65**

제1항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 유전자좌 16q23 또는 16q22-q24의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정함으로써 결정되는 것인 방법.

**청구항 66**

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 요법은 mTOR 억제제 또는 CDK4/6 억제제인 방법.

**청구항 67**

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 요법은 표준 치료를 넘어 확장된 호르몬 요법인 방법.

**청구항 68**

유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가된 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, mTOR 억제제 또는 CDK4/6 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 69**

유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가된 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 표준 치료를 넘어 확장된 호르몬 요법을 실시하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 70**

유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가되지 않은 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, mTOR 억제제 또는 CDK4/6 억제제를 투여하지 않는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 71**

유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가되지 않은 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 표준 치료를 넘어 확장된 호르몬 요법을 실시하지 않는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 72**

환자의 무병 생존 상태를 예측하는 방법으로서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 측정하는 단계, 및 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 이용하여 환자의 전체 생존을 예측하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 73**

제72항에 있어서, 기준에 대한 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가, 기준에 대한 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 환자보다 짧은 무병 생존을 예측하는 것인 방법.

**청구항 74**

환자의 전체 생존 상태를 예측하는 방법으로서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 측정하는 단계, 및 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 이용하여 환자의 전체 생존을 예측하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 75**

제74항에 있어서, 기준에 대한 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가, 기준에 대한 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 환자보다 짧은 전체 생존을 예측하는 것인 방법.

**청구항 76**

제68항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 폐경후가 아닌 것인 방법.

**청구항 77**

제68항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 폐경전인 방법.

**청구항 78**

제68항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 폐경후인 방법.

**발명의 설명**

**기술분야**

- [0001] 서열 목록에 대한 참조
- [0002] 본원과 함께 출원된 전자적으로 제출된 서열 목록("3190\_015PC02\_SeqListing.txt", 58,739 바이트, 2017년 5월 18일에 생성)의 내용은 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있다.
- [0003] 본 발명의 기술분야
- [0004] 본 발명은 유방암을 갖는 대상체를 위한 맞춤형 요법의 설계에 관한 것으로서, 여기서 맞춤형 요법은 대상체의 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득, 또는 전좌 및 폐경 상태에 기초하여 선택된다. 일부 구현예에서, 맞춤형 요법은 골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제를 포함한다. 일부 구현예에서, 골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제는 졸레드론산이다.

**배경기술**

- [0005] 유방암은 전 세계적으로 2번째로 가장 흔한 유형의 암이며(10.4%; 폐암 다음으로), 5번째로 가장 흔한 암에 의한 사망 원인이다(폐암, 위암, 간암, 및 결장암 다음으로). 여성에서, 유방암은 가장 흔한 암에 의한 사망 원인이다. 2005년에, 유방암으로 인해 전 세계적으로 502,000명의 사망이 발생하였다(암에 의한 사망의 7%; 모든 사망의 거의 1%). 전 세계적인 사례의 수는 1970년대부터 유의하게 증가하였고, 이 현상은 서구에서의 현대적 생활방식에 일부 기인한다.
- [0006] 유방암은 TNM 시스템에 따라 병기로 분류된다(그 전체가 참조로 본원에 포함된 American Joint Committee on Cancer. AJCC Cancer Staging Manual. 6th ed. New York, NY: Springer, 2002 참고). 예후는 병기 분류 결과와 밀접하게 관련되며, 병기 분류는 또한 임상 시험 및 의료 행위 모두에서 환자를 치료에 배정하는데 사용된다. 병기로 분류하기 위한 정보는 다음과 같다:
- [0007] TX: 원발성 종양을 평가할 수 없음. T0: 종양의 증거가 없음. Tis: 상피내 암종(in situ carcinoma), 침습 없음. T1: 종양이 2 cm 이하임. T2: 종양이 2 cm 초과 내지 5 cm 미만임. T3: 종양이 5 cm 초과임. T4: 유방 또는 피부의 벽에서 성장하는 임의의 크기의 종양, 또는 염증성 유방암.
- [0008] NX: 인근 림프절을 평가할 수 없음. N0: 암이 국소 림프절로 퍼지지 않았음. N1: 암이 1 내지 3개의 액와 림프절로 퍼졌거나 1개의 내부 유방 림프절로 퍼졌음. N2: 암이 4 내지 9개의 액와 림프절로 퍼졌거나 다수의 내부 유방 림프절로 퍼졌음. N3: 하기 중 하나가 적용됨:
- [0009] 암이 10개 이상의 액와 림프절로 퍼졌거나, 암이 쇄골하 림프절로 퍼졌거나, 암이 쇄골상 림프절로 퍼졌거나, 암이 액와 림프절에 영향을 미치고 내부 유방 림프절로 퍼졌거나, 암이 4개 이상의 액와 림프절에 영향을 미치고 최소량의 암이 내부 유방 결절 또는 감시 림프절 생검에 있음.
- [0010] MX: 원격 전이(spread, metastasis)의 존재를 평가할 수 없음. M0: 원격 전이가 없음. M1: 쇄골상 림프절을 포함하지 않는 원격 장기로의 전이가 생성됨.
- [0011] 고형 종양 암을 갖는 환자의 대부분이 전이 후에 사망한다는 사실은 종양을 전이시키는 분자 및 세포 기전을 이해하는 것이 중요하다는 것을 의미한다. 최근 간행물은 복잡하지만 거의 알려지지 않은 기전에 의해 어떻게 전이가 유발되는지, 그리고 또한 상이한 전이 세포 유형이 어떻게 특정 장기를 향한 편향성(tropism)을 갖는지 입증하였다. 이러한 조직 특이적 전이 세포는 일련의 후천적 기능을 가져 특정 장기에 대량 증식할 수 있다.
- [0012] 모든 세포는 그들의 표면 상에, 그들의 세포질 내에 그리고 세포 핵 내에 수용체를 갖는다. 호르몬과 같은 특정 화학적 메신저는 상기 수용체에 결합하며, 이는 세포의 변화를 일으킨다. 유방암 세포에 영향을 미칠 수 있는 3개의 중요한 수용체인 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR) 및 HER2/neu가 존재한다. 이들 수용체 중 어느 하나를 갖는 세포를 명명하기 위해, 수용체가 존재할 때 양의 부호가 붙고, 수용체가 존재하지 않는 경우 음의 부호가 붙는다: ER 양성(ER+), ER 음성(ER-), PR 양성(PR+), PR 음성(PR-), HER2 양성(HER2+) 및 HER2 음성(HER2-). 수용체 상태가 모든 유방암에 대해 중요하게 평가되었는데, 수용체 상태는 특정 치료제, 예를 들어 타목시펜 또는 트라스투주맙의 사용 적합성을 결정하기 때문이다.
- [0013] 비감독(unsupervised) 유전자 발현 어레이 프로파일링은 루미날 A(luminal A), 루미날 B, HER2+/ER- 및 기저형 서브타입(basal-like subtype)과 같은 내재적 서브타입의 확인을 통해 유방암의 이질성에 대한 생물학적 증거를 제공하였다.

- [0014] 삼중 음성 암(triple-negative cancer)은 에스트로겐 수용체(ER), 프로게스테론 수용체(PR) 또는 HER2에 대한 유전자를 발현하지 않는 종양으로서 정의된다. 이 서브그룹은 모든 유형의 유방암의 15%를 차지하고 폐경전의 아프리카 및 아프리카계 미국인 여성에서 발생하는 유방암의 더 높은 비율을 차지한다. 삼중 음성 유방암은 에스트로겐 수용체 양성 유방암과는 매우 다른 재발 패턴을 갖는다: 재발 위험은 처음 3-5년 동안 매우 높지만, 이후에는 급격하게 떨어져 에스트로겐 수용체 양성 유방암보다 실질적으로 낮다.
- [0015] 기저형 서브타입은 유전자의 ER 및 HER2 클러스터 모두의 낮은 발현을 특징으로 하므로, 임상 시험에서 전형적으로 ER 음성, PR 음성, 및 HER2 음성이며; 이런 이유로, 이것은 종종 "삼중 음성" 유방암으로 불린다(Breast Cancer Research 2007, 9(Suppl 1):S13). 기저형 암은 고 분자량 사이토케라틴(5/6, 14 및 17), P-카드헤린, 카베올린 1 및 2, 네스틴, αB 결정 및 표피 성장 인자 수용체를 포함하는 정상 유방의 "기저"/근상피 세포에서 일반적으로 발견되는 유전자를 발현한다(Reis-Fiho J. et al., <http://www.uscap.org/site~/98th/pdf/companion03h03.pdf>).
- [0016] 기저형 유방암에 대해 국제적으로 인정되는 정의가 없다는 것을 고려할 때, 삼중 음성 및 기저형 유방암이 동의어인지 여부에 대해 상당한 혼란이 있었다는 것은 놀랍지 않다. 몇몇 그룹이 이 용어들을 상호교환적으로 사용하였지만, 모든 기저형 암이 ER, PR 및 HER2이 결여된 것은 아니고 모든 삼중 음성 암이 기저형 표현형을 나타내는 것은 아니라는 점에 유의해야 한다. 대부분의 삼중 음성 암은 기저형 표현형이다. 마찬가지로, '기저' 마커를 발현하는 대부분의 종양은 삼중 음성이다. 그러나, 기저 마커를 발현하지 않는 상당한 수의 삼중 음성 암이 있고, 호르몬 수용체 또는 HER2를 발현하는 작지만 여전히 상당한 기저형 암의 서브그룹이 있다는 점에 유의해야 한다. Bertucci 등(Int J Cancer. 2008 Jul 1;123(1):236-40)은 이 문제를 직접 다루었으며, 유전자 발현 프로파일링에 의해 분석하였을 때 모든 삼중 음성 종양이 기저형 암으로 분류되는 것은 아니며(즉, 71%만이 기저형 표현형이었음), 발현 어레이에 의해 분류된 모든 기저형 유방 암종이 삼중 음성 표현형을 나타내는 것은 아니라는 것(즉, 77%)을 확인하였다.
- [0017] 가능한 보조 호르몬 요법(타목시펜 또는 아로마타아제 억제제 이용), 화학요법, 및/또는 방사선요법을 이용하여 종양이 국소화될 때, 유방암을 치료하기 위한 핵심은 수술이다. 현재, 수술 후 치료(보조 요법)를 위한 제안은 패턴을 따른다. 전세계의 멀티 센터 연구의 실제 결과를 논의하기 위해 세계 컨퍼런스가 스위스 세인트 갈렌에서 2년마다 열리기 때문에, 이 패턴은 바뀔 수 있다. 마찬가지로, 상기 패턴은 또한 국립보건원(NIH)의 합의 기준에 따라 재검토된다. 이 기준에 기초하여, 림프절에 전이가 없는 환자 중 85-90%가 넘는 환자들이 보조 전신 요법을 받는 후보일 것이다.
- [0018] 현재, Oncotype DX와 같은 PCR 분석 또는 MammaPrint와 같은 마이크로어레이 분석은 특정 유전자의 발현에 기초하여 유방암 재발 위험을 예측할 수 있다. 2007년 2월에, MammaPrint 분석은 미국 식품의약국으로부터 공식 허가를 얻은 최초의 유방암 지표가 되었다.
- [0019] 특허 출원 EP제1961825호-A1은 골, 폐, 간 또는 뇌로의 유방암 전이의 발생을 예측하는 방법을 기술하며, 이는 대조군 샘플에서의 상응하는 발현 수준과 비교하여 종양 조직 샘플에서 하나 이상의 마커(이 중에는 c-MAF가 포함됨)의 발현 수준을 결정하는 단계를 포함한다. 그러나, 이 문헌은 유방암 환자의 생존율을 결정하기 위해 몇 개의 유전자를 동시에 결정하는 것을 요구하며, 골 전이가 없는 생존가능성을 예측하기 위한 유전자 표지(signature)의 능력 사이의 상관관계가 통계학적으로 유의하지 않았다.
- [0020] 특허 공개 미국 공개 제2011/0150979호는 FOXC1의 수준을 검출하는 단계를 포함하는 기저형 유방암의 예후를 예측하는 방법을 기술한다.
- [0021] 특허 공개 미국 공개 제2010/0210738호는 무작위로 상향조절되거나 하향조절되는 일련의 유전자의 발현 수준을 샘플에서 검출하는 단계를 포함하는 삼중 음성 유방암을 갖는 대상체에서 암을 예후하는 방법에 관한 것이다.
- [0022] 특허 공개 미국 공개 제2011/0130296호는 삼중 음성 유방암의 진단 및 예후에 유용한 마커 유전자의 확인에 관한 것이다.
- [0023] 특정 치료로부터 이익을 얻을 유방암 환자의 서브셋을 확인하고, 반대로 특정 치료에 의해 이익을 얻지 못하거나 잠재적으로 피해를 입을 유방암 환자의 서브셋을 확인할 필요가 있다.

**발명의 내용**

- [0024] 일 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득(gain)을 정량화하는 단계, 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하

는 단계를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있지 않을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉬운 것인, 유방암을 갖는 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.

- [0025] 일부 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후이다.
- [0026] 일 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 폐경후가 아닌(비폐경후) 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉽지 않은 것인, 유방암을 갖는 폐경후가 아닌 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0027] 일 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 폐경후 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉬운 것인, 유방암을 갖는 폐경후 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0028] 일부 구현예에서, 대상체에게 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 실시한다. 다른 구현예에서, 대상체에게 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 실시하지 않는다.
- [0029] 특정 구현예에서, 골 재형성을 예방 및/또는 치료하거나, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법은 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, 칼시토닌, 라뎀-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억제제, 및 카텝신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된 골 재형성을 예방 또는 억제하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하도록 의도된 제제이다. 일부 구현예에서, RANKL 억제제는 RANKL 특이적 항체, RANKL 특이적 나노바디, 및 오스테오프로테게린으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, RANKL 특이적 항체는 데노수맙이다. 일부 구현예에서, 비스포스포네이트는 졸레드론산이다. 다른 구현예에서, RANKL 특이적 나노바디는 ALX-0141이다. 특정 구현예에서, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제는 카보잔티닙이다.
- [0030] 일부 구현예에서, c-MAF 유전자 발현 수준의 정량화는 상기 유전자의 메신저 RNA(mRNA) 또는 상기 mRNA의 단편, 상기 유전자의 상보적 DNA(cDNA) 또는 상기 cDNA의 단편을 정량화하거나, 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질의 수준을 정량화하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 정량적 중합효소 연쇄 반응(PCR) 또는 DNA 또는 RNA 어레이 또는 뉴클레오타이드 혼성화 기술에 의해 정량화된다. 구현예에서, 단백질의 수준은 웨스턴 블롯, ELISA, 면역조직화학법 또는 단백질 어레이에 의해 정량화된다. 특정 구현예에서, 단백질의 수준은 서열 번호 21의 중쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 22의 중쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 23의 중쇄 CDR3을 포함하고/하거나; 서열 번호 18의 경쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 19의 경쇄 CDR2 및/또는 서열 번호 20의 경쇄 CDR3을 포함하는 항체를 사용하여 정량화된다. 일부 구현예에서, c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득은 c-MAF 유전자 특이적 프로브를 사용하여 결정된다. 특정 구현예에서, c-MAF 유전자 특이적 프로브는 Vysis LSI/IGH MAF 이중 색상 이중 융합 프로브이다. 다른 구현예에서, 증폭 또는 획득은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정된다.
- [0031] 특정 구현예에서, 기준값은 전이를 겪지 않은 대상체로부터의 유방암의 종양 조직 샘플의 값이다.
- [0032] 일 구현예에서, 본 발명은 골 재형성을 예방 또는 억제하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제를 투여하는 단계를 포함하는 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가되지 않은 c-MAF 발현 수준을 갖는 대상체에서 골 전이를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 골 분해를 방지 또는 예방하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제는 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, EGFR 억제제, 칼시토닌, 라뎀-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억

제제, 및 카텡신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0033] 특정 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후이다.
- [0034] 일 구현예에서, 본 발명은 골 재형성을 예방 또는 억제하거나, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가된 c-MAF 발현 수준을 갖는 폐경후 대상체에서 골 전이를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 골 재형성을 방지 또는 예방할 수 있는 제제는 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, EGFR 억제제, 칼시토닌, 라툼-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억제제, 및 카텡신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0035] 특정 구현예에서, RANKL 억제제는 RANKL 특이적 항체, RANKL 특이적 나노바디, 및 오스테오프로테게린으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가 구현예에서, RANKL 특이적 항체는 데노수맙이다. 다른 구현예에서, 비스포스포네이트는 졸레드론산이다. 추가의 다른 구현예에서, RANKL 특이적 나노바디는 ALX-9141이다. 특정 구현예에서, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제는 카보잔티닙이다.
- [0036] 일 구현예에서, 본 발명은 a) 유방암을 앓고 있는 대상체의 유방 종양 샘플에서 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계; b) 상기 샘플에서의 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 c-MAF 발현의 소정의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 c) 샘플에서의 상기 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득 및 폐경후 또는 폐경후가 아닌 것으로서의 대상체의 상태에 기초하여 상기 대상체를 코호트로 분류하는 단계를 포함하는, 유방암을 앓고 있는 대상체를 코호트로 분류하는 방법에 관한 것이다.
- [0037] 특정 구현예에서, 대상체에게, 그의 c-MAF 발현 수준 및/또는 그의 폐경후 또는 폐경후가 아닌 상태에 기초하여 상이한 치료를 실시한다.
- [0038] 일부 구현예에서, c-MAF 발현 수준의 정량화는 상기 유전자의 메신저 RNA(mRNA) 또는 상기 mRNA의 단편, 상기 유전자의 상보적 DNA(cDNA) 또는 상기 cDNA의 단편을 정량화하거나, 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질의 수준을 정량화하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 단백질의 수준은 서열 번호 21의 중쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 22의 중쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 23의 중쇄 CDR3을 포함하고/하거나; 서열 번호 18의 경쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 19의 경쇄 CDR2 및/또는 서열 번호 20의 경쇄 CDR3을 포함하는 항체를 사용하여 정량화된다. 특정 구현예에서, 증폭은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정된다. 추가 구현예에서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH: fluorescence *in situ* hybridization), 발색 원위치 혼성화(CISH: chromogenic *in situ* hybridization) 또는 은 원위치 혼성화(SISH: silver *in situ* hybridization)이다. 추가 구현예에서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH)이다.
- [0039] 일부 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9$  또는  $3.0$ 이다. 특정 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.2$ 이다. 추가 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.3$ 이다. 추가 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.4$ 이다. 특정 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.5$ 이다. 다른 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $< 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9$  또는  $3.0$ 이다.
- [0040] 일 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 상기 기준값에 대해 상기 유전자의 증가된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 불량한 IDFS를 나타내는 것인, 유방암을 갖는 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0041] 일 구현예에서, 본 발명은 기준에 대해 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계를 포함하며, 상기 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가는 불량한 IDFS를 나타내는 것인, 유방암 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0042] 일 구현예에서, 본 발명은 기준에 대해 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계를 포함하며, 상기 기준에 대한 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가는 골 재발(bone recurrence)을 제외한 불량한 IDFS를 나타내는 것인, 유방암 환자의 골 재발을 제외한 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.

- [0043] 일부 구현예에서, 골 재형성을 예방 또는 억제할 수 있는 제제는 골 분해를 예방 또는 억제할 수 있는 제제이다.
- [0044] 일부 구현예에서, c-MAF 발현 수준의 정량화는 상기 유전자의 메신저 RNA(mRNA) 또는 상기 mRNA의 단편, 상기 유전자의 상보적 DNA(cDNA) 또는 상기 cDNA의 단편을 정량화하거나, 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질의 수준을 정량화하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 단백질의 수준은 서열 번호 21의 중쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 22의 중쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 23의 중쇄 CDR3을 포함하고/하거나; 서열 번호 18의 경쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 19의 경쇄 CDR2 및/또는 서열 번호 20의 경쇄 CDR3을 포함하는 항체를 사용하여 정량화된다. 다른 구현예에서, 증폭은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정된다. 추가 구현예에서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH), 발색 원위치 혼성화(CISH) 또는 은 원위치 혼성화(SISH)이다. 추가 구현예에서, 원위치 혼성화는 형광 원위치 혼성화(FISH)이다.
- [0045] 일부 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9$  또는  $3.0$ 이다. 특정 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.2$ 이다. 다른 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.3$ 이다. 추가 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.4$ 이다. 추가 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는  $\geq 2.5$ 이다. 일부 구현예에서, 카피 수는 세포당 평균 카피 수로서 결정된다.
- [0046] 일부 구현예에서, 유방암은 ER+ 유방암이다. 특정 구현예에서, 유방암은 ER- 유방암이다. 다른 구현예에서, 유방암은 삼중 음성 유방암이다. 상이한 구현예에서, 유방암은 기저형 서브타입이다. 일부 구현예에서, 유방암은 HER2+ 유방암이다.
- [0047] 일부 구현예에서, c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 유전자좌 16q23 또는 16q22-q24의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정함으로써 결정된다.
- [0048] 일부 구현예에서, 치료는 mTOR 억제제 또는 CDK4/6 억제제이다. 다른 구현예에서, 치료는 표준 치료를 넘어 확장된 호르몬 요법이다.
- [0049] 일부 구현예에서, 본 발명은 mTOR 억제제 또는 CDK4/6 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가된 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체의 치료 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표준 치료를 넘어 확장된 호르몬 요법을 실시하는 단계를 포함하는, 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가된 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체의 치료 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 mTOR 억제제 또는 CDK4/6 억제제를 투여하지 않는 단계를 포함하는, 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가되지 않은 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체의 치료 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 표준 치료를 넘어 확장된 호르몬 요법을 실시하지 않는 단계를 포함하는, 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가되지 않은 c-MAF 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는 대상체의 치료 방법에 관한 것이다.
- [0050] 일 구현예에서, 본 발명은 기준 샘플 수준과 비교하여 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 측정하는 단계, 및 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 이용하여 환자의 전체 생존을 예측하는 단계를 포함하는 환자의 무병 생존 상태를 예측하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 기준 샘플 수준과 비교하여 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가는 기준 샘플 수준과 비교하여 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 환자보다 짧은 무병 생존을 예측한다.
- [0051] 일 구현예에서, 본 발명은 기준 샘플 수준과 비교하여 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 측정하는 단계, 및 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 이용하여 환자의 전체 생존을 예측하는 단계를 포함하는 환자의 전체 생존 상태를 예측하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 기준 샘플 수준과 비교하여 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가는 기준 샘플 수준과 비교하여 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 환자보다 짧은 전체 생존을 예측한다.
- [0052] 구현예에서, 환자의 폐경 상태는 또한 환자의 생존 상태를 예측하는데 사용된다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 특정 구현예에서, 대상체는 폐경전이다. 특정 구현예에서, 대상체는 폐경후이다.

**도면의 간단한 설명**

[0053]

- 도 1. 분석 파라미터의 개요.
- 도 2. AZURE 연구 설계.
- 도 3. AZURE 샘플의 H&E 분석. 평가가능한 샘플과 평가불가능한 샘플이 표시되어 있다.
- 도 4A 및 도 4B. MAF 양성률.
- 도 5. MAF 컷오프 최적화된 FISH 데이터. 컷포인트 그래프 상의 날카로운 급등(spike)은 MAF FISH 값이 실제로 임계 사건임을 나타낸다. 또한, 미리 정의된 컷오프는 최적화된 컷오프에 근접한다.
- 도 6. MAF FISH 값에 기초한 골 재발의 위험.
- 도 7. 2.3의 골 최적화된 컷오프를 사용한 MAF FISH 값에 의한 골 재발까지의 시간.
- 도 8. FISH에 의한 퍼센트 IDFS. 2.2의 최적 컷오프가 사용되었다.
- 도 9. FISH에 의한 전체 생존. 2.2의 최적 컷오프가 사용되었다.
- 도 10. AZURE 대조군 환자 단독에서 FISH에 의한 골 재발까지의 시간. 2.3의 골 최적화된 컷오프가 사용되었다.
- 도 11. AZURE 대조군 환자 단독에서 FISH에 의한 IDFS. 2.2의 최적화된 컷오프가 사용되었다.
- 도 12. AZURE 대조군 환자 단독에서 FISH에 의한 IDFS(골 재발 제외)까지의 시간. 2.2의 최적화된 컷오프가 사용되었다.
- 도 13A 및 B. 대조군 및 졸레드론산 처리군에서의 환자에서 골 전이까지의 시간. 첫 사건으로서 골 전이(A) 및 추적관찰 동안 임의의 시간에 골 전이(B)의 누적 발생률. 분석은 치료하려는 의도였다. HR-위험 비율.
- 도 14. AZURE 대조군 환자 및 졸레드론산 처리 환자에서 첫 사건으로서 골 전이까지의 시간의 평가. 2.3의 골 최적화된 컷오프가 사용되었다.
- 도 15 A 및 B. 대조군 및 졸레드론산 처리 환자 사이의 무병 생존(DFS) 및 침습성 무병 생존(IDFS). (A) 무병 생존 및(B) 침습성 무병 생존의 카플란-마이어 곡선. 분석은 치료하려는 의도였다. HR-위험 비율.
- 도 16. 대조군 및 졸레드론산 처리 환자 사이의 원격 재발까지의 시간.
- 도 17. 치료에 따른 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간). 경쟁 사건으로서 사망이 골 전이까지의 시간(임의의 시간)에서 사용된다.
- 도 18. MAF 카피 수(2.5의 미리 지정된 MAF 컷오프에 따름)에 따른 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간).
- 도 19A 및 B. AZURE 시험의 폐경 상태에 의한 IDFS. 폐경 상태에 의한 침습성 무병 생존의 카플란-마이어 곡선. (A) 폐경전, 폐경전후, 및 미지의 폐경 상태 및 (B) 폐경 이래 5년 초과. 폐경 상태에 의한 이질성의 시험  $\chi^2_1$  4.71; p=0.03.
- 도 20. 폐경후 환자에서 MAF 카피 수(2.5의 미리 지정된 컷오프에 따른 데이터)에 따른 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간).
- 도 21. 폐경후가 아닌 환자에서 MAF 카피 수(2.5의 미리 지정된 컷오프에 따른 데이터)에 따른 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간).
- 도 22. 폐경후 여성의 골 전이를 제외한, 졸레드론산 처리군 및 대조군의 IDFS.
- 도 23. 폐경후가 아닌 여성의 골 전이를 제외한, 졸레드론산 처리군 및 대조군의 IDFS.
- 도 24. 처리군에 의한 전체 생존(OS). MAF FISH 양성 환자를 졸레드론산으로 처리하는 것은 OS에 유의하게 영향을 미쳤다.
- 도 25. Azure 대조군에서 무병 생존(DFS)에 대한 MAF FISH의 예후 값.
- 도 26. Azure 대조군에서 전체 생존(OS)에 대한 MAF FISH의 예후 값.
- 도 27. 무병 생존(DFS) 결과에 대한 졸레드론산 처리의 효과에 대한 MAF FISH의 예측 값.

- 도 28. 폐경후 환자에서 무병 생존(DFS) 결과에 대한 졸레드론산 처리의 효과에 대한 MAF FISH의 예측 값.
- 도 29. 폐경후가 아닌 환자에서 무병 생존(DFS) 결과에 대한 졸레드론산 처리의 효과에 대한 MAF FISH의 예측 값.
- 도 30. OS 결과에 대한 졸레드론산 처리의 효과에 대한 MAF FISH의 예측 값.
- 도 31. 폐경후 환자에서 OS 결과에 대한 졸레드론산 처리의 효과에 대한 MAF FISH의 예측 값.
- 도 32. 폐경후가 아닌 환자에서 OS 결과에 대한 졸레드론산 처리의 효과에 대한 MAF FISH의 예측 값.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0054] <일반 용어 및 표현의 정의>
- [0055] 본원에서 사용된 "및/또는"은 다른 것을 갖거나 없는 2개의 특정한 특징 또는 구성 요소 각각의 구체적인 개시로 간주된다. 예를 들어 'A 및/또는 B'는 마치 각각이 개별적으로 본원에 제시된 것처럼, (i) A, (ii) B 및 (iii) A 및 B 각각의 구체적인 개시로 간주된다.
- [0056] c-MAF 유전자(MAF 또는 MGC71685로도 공지된 v-maf 근간막 섬유육종 종양유전자 동족체(조류))는 동종이량체 또는 이종이량체처럼 작용하는 류신 지퍼를 함유하는 전사 인자이다. DNA 결합 부위에 따라, 코딩된 단백질은 전사 활성화자 또는 억제자일 수 있다. c-MAF를 코딩하는 DNA 서열은 등록 번호 NG\_016440(서열 번호 1)(코딩) 하에 NCBI 데이터베이스에 기재되어 있다. c-MAF의 게놈 서열은 서열 번호13에 제시되어 있다. 본 발명의 방법은 코딩 서열 또는 게놈 DNA 서열을 이용할 수 있다. 2개의 메신저 RNA는 상기 DNA 서열로부터 전사되고, 이들 각각은 2개의 c-MAF 단백질 아형인 α 아형 및 β 아형 중 하나를 생성할 것이다. 상기 아형 각각에 대한 상보적 DNA 서열은 각각 등록 번호 NM\_005360.4(서열 번호 2) 및 NM\_001031804.2(서열 번호 3) 하에 NCBI 데이터베이스에 기재되어 있다. ER+ 유방암의 예후를 예측하기 위한 c-MAF 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제13/878,114호에서 발견될 수 있다. 삼중 음성 및 ER+ 유방암의 예후를 예측하기 위한 c-MAF 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제14/391,085호에 기재되어 있다. 갑상선암의 예후를 예측하기 위한 c-MAF 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 가출원 제61/801,769호에 기재되어 있다. 신장 세포 암종의 예후를 예측하기 위한 c-MAF 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 가출원 제14/776,390호에 기재되어 있다. 유방암을 갖는 개체의 예후를 결정하기 위한 MAF 및 c-MAF 유전자 유전자좌를 포함하는 관심 유전자 및 상기 유전자 유전자좌에 대한 프로브의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제14/776,412호에 기재되어 있다. 폐암의 예후를 예측하기 위한 c-MAF 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제14/405,724호에서 발견된다. 전립선암의 예후를 예측하기 위한 c-MAF 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제14/050,262호 및 제14/435,128호에서 발견된다. HER2+ 암의 예후를 예측하기 위한 c-MAF 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제15/027,946호에서 발견된다. 암의 예후를 예측하기 위한 c-MAF의 하류 유전자의 용도는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제15/014,916호 및 제14/776,453호에서 발견된다.
- [0057] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "기저형(basal-like)", "기저형 서브타입," "기저형 서브타입의 유방암" 등은, 본원에 사용된 바와 같이, 2개의 음성 수용체 ER 및 HER2 및 CK5/6, CK14, CK17 및 EGFR로 이루어진 군 중 적어도 하나의 양성 수용체를 특징으로 하는 유방암의 특정 서브타입을 지칭한다. 따라서, 삼중 음성 유방암(ER, HER-2, PgR)을 언급하고 지칭하는 본 발명의 모든 문장은 또한 ER 및 HER2가 음성이고 CK5/6, CK14, CK17 및 EGFR 중 적어도 하나가 양성인 기저형 유방암을 언급하거나 지칭할 수 있다. 대안적으로, "기저형"은 또한 하기 10개의 유전자의 상향조절 및/또는 하향조절에 기초한 유전자 발현 프로파일을 특징으로 하는 유방암을 지칭한다: (1) 포크헤드 박스 CI(FOXC 1);(2) 흑색종 억제 활성화(MIA); (3) NDC80 동족체, 키네토코어 복합 성분(kinetochores complex component; KNTC2); (4) 중심체 단백질 55kDa(CEP55); (5) 아닐린, 액틴 결합 단백질(ANLN); (6) 모성 배아 류신 지퍼 키나아제(MELK); (7) G 단백질-결합 수용체 160(GPR160); (8) 막관통 단백질 45B(TMEM45B); (9) 에스트로겐 수용체 1(ESR1);(10) 포크헤드 박스 A1(FOXA1). 유방암 종양을 기저형 서브타입으로 분류하는데 사용된 유전자 발현 프로파일은 에스트로겐 수용체, 프로게스테론 수용체 또는 Her2를 포함하지 않기 때문에, 삼중 음성 및 비삼중 음성 유방암 모두는 기저형 서브타입으로 분류될 수 있다.
- [0058] 본원에 사용된 바와 같이, "삼중 음성 유방암"은 ER 및 PR 모두의 검출가능한 발현의 부족(바람직하게는 ER 및 PR의 발현의 측정이 문헌[M. Elizabeth H et al., Journal of Clinical Oncology, 28(16): 2784-2795, 2010]에 개시된 방법에 의해 수행될 때)을 특징으로 하는 유방암을 지칭하며, 종양 세포는 일반적으로 세포 표면 상

에 위치하는 수용체인 표피 성장 인자 수용체 유형 2(HER2 또는 ErbB2)에 대해 증폭되지 않는다. 종양 세포는 표준 면역조직화학 기술을 사용하여 5% 미만의 종양 세포 핵이 염색되는 경우 ER 및 PR의 발현에 대해 음성인 것으로 간주된다. 본원에 사용된 바와 같이, 종양 세포는 다중클론 항-HER2 일차 항체를 사용한 반정량적 면역조직화학 분석인 HercepTest™ 키트(Code K5204, Dako North America, Inc., Carpinteria, CA)로 시험되었을 때 0 또는 1+, 또는 2+의 시험 결과 스코어를 생성하는 경우 또는 HER2 FISH 음성인 경우, HER2 과발현에 대해 음성인 것으로 간주된다.

- [0059] 본원에 사용된 바와 같이, "ER+ 유방암"은 종양 세포가 에스트로겐 수용체(ER)를 발현하는 유방암으로 이해된다. 이것은 상기 종양을 에스트로겐에 민감하게 만드는데, 이는 에스트로겐이 양성 유방 종양을 성장시킨다는 것을 의미한다. 대조적으로, "ER-유방암"은 종양 세포가 에스트로겐 수용체(ER)를 발현하지 않는 유방암으로 이해된다. ER+ 유방암 중에는 루미날 A 및 B 서브타입이 포함된다.
- [0060] 본원에 사용된 바와 같이, "HER2+"는 표피 성장 인자 수용체 유형 2(HER2 또는 ErbB2)의 검출가능한 발현 및/또는 일반적으로 세포 표면 상에 위치하는 수용체인 HER2 유전자에 대한 증폭을 갖는 종양 세포를 특징으로 하는 유방암을 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이, 종양 세포는 다중클론 항-HER2 일차 항체를 사용한 반정량적 면역조직화학 분석인 HercepTest™ 키트(Code K5204, Dako North America, Inc., Carpinteria, CA)로 시험되었을 때 0 또는 1+, 또는 2+의 시험 결과 스코어를 생성하는 경우 또는 HER2 FISH 음성인 경우, HER2 과발현에 대해 음성인 것으로 간주된다.
- [0061] 본 발명의 맥락에서, "폐경후" 대상체는 폐경을 겪었고 월경이 없는 연속적인 6개월을 경험한 여성인 것으로 이해된다. 문헌[Coleman et al Lancet Oncol 2014; 15: 997-1006]을 참고한다. 특정 구현예에서, 여성은 여포 자극 호르몬(FSH)의 측정을 통해 그녀의 폐경후 상태를 확인할 수 있다.
- [0062] 본 발명의 맥락에서, "폐경후가 아닌(비폐경후)" 대상체는 폐경을 겪지 않았고 월경이 없는 연속적인 6개월을 경험하지 않은 임의의 대상체이다. "폐경후가 아닌" 대상체는 폐경전, 폐경전후, 및 미지의 폐경 상태 여성을 포함한다.
- [0063] 본 발명의 맥락에서, "전이"는 암이 시작된 장기에서 상이한 장기로 암이 증식하는 것으로서 이해된다. 전이는 일반적으로 혈액 또는 림프계를 통해 일어난다. 암세포가 퍼져 새로운 종양을 형성할 때, 상기 새로운 종양은 이차 또는 전이성 종양으로 불린다. 이차 종양을 형성하는 암세포는 원래의 종양의 암세포와 유사하다. 예를 들어, 유방암이 골에 퍼지면(전이되면), 이차 종양은 악성 유방암 세포로 형성된다. 골에서의 질환은 전이 유방암이지 골암은 아니다. 본 발명의 방법의 특정 구현예에서, 전이는 골로 퍼진(전이된) 유방암이다.
- [0064] 본 발명의 맥락에서, "재발(recurrence)"은 암이 검출되지 않은 시간 후 유방암이 되돌아오는 것을 지칭한다. 유방암은 유방 또는 유방을 둘러싼 조직에서 국소적으로 재발할 수 있다. 유방암은 또한 인근 림프절 또는 주변 지역에 있지 않은 림프절에서 재발할 수 있다. 유방암이 다른 조직으로 퍼져 재발하거나 혈류를 통해 이동하여 골 또는 다른 장기에서 재발하는 경우, 그것은 전이로도 불린다. 본원에 사용된 바와 같이, 재발은 또한 재발의 위험을 포함한다.
- [0065] 본 발명의 맥락에서, "재발(relapse)"은 증상이 감소되었지만, 대상체가 암이 없는 것이 아니고, 이후 암이 되돌아오는 상황을 지칭한다. 유방암은 유방 또는 유방을 둘러싼 조직에서 국소적으로 재발할 수 있다. 유방암은 또한 인근 림프절 또는 주변 지역에 있지 않은 림프절에서 재발할 수 있다. 유방암이 다른 조직으로 퍼져 재발하거나 혈류를 통해 이동하여 골 또는 다른 장기에서 재발하는 경우, 그것은 전이로도 불린다. 본원에 사용된 바와 같이, 재발은 또한 재발의 위험을 포함한다.
- [0066] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "무병 생존"은 환자가 암의 임의의 징후 또는 증상 없이 생존하는 암의 1차 치료 후 시간의 길이를 지칭한다. 일부 구현예에서, 무병 생존은 DFS, 무재발 생존, 또는 RFS로 지칭된다.
- [0067] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "전체 생존" 또는 "OS"는 질환으로 진단된 환자가 여전히 살아있는 암의 진단일 또는 암 치료의 시작일로부터의 시간의 길이를 지칭한다.
- [0068] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "대상체" 또는 "환자"는 포유동물로서 분류된 모든 동물을 지칭하며, 비제한적으로 가축 및 농장 동물, 영장류 및 인간, 예를 들어, 인간, 비인간 영장류, 소, 말, 돼지, 양, 염소, 개, 고양이, 또는 설치류를 포함한다. 바람직하게는, 대상체는 임의의 연령 또는 인종의 인간 남성 또는 여성이다.
- [0069] 임상 결과를 지칭하기 위해 본원에 사용된 용어 "불량한" 또는 "양호한"은 대상체가 유리한 또는 불리한 결과를 나타낼 것이라는 것을 의미한다. 당업자에 의해 이해될 바와 같이, 이러한 확률의 평가는, 정확한 것이 바람직

하지만, 진단되는 대상체의 100%에 대해 정확하지 않을 수 있다. 그러나, 용어는 통계학적으로 유의한 비율의 대상체가 주어진 결과에 대한 성향을 갖는 것으로 확인될 수 있음을 요구한다. 비율이 통계학적으로 유의한지 여부는 다양한 널리 공지된 통계적 평가 도구, 예컨대, 신뢰 구간의 결정, p-값 결정, 스튜던트 t-검정, 만-휘트니 검정 등을 사용하여 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 세부사항은 문헌[Dowdy and Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983]에서 발견된다. 바람직한 신뢰 구간은 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 적어도 약 95%이다. p-값은 바람직하게는, 0.05, 0.01, 0.005, 또는 0.0001 이하이다. 보다 바람직하게는, 집단의 대상체의 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90%가 본 발명의 방법에 의해 적절하게 확인될 수 있다.

[0070] 본 발명에서 "종양 샘플"은 원발성 유방암 종양으로부터 비롯된 샘플(예컨대, 종양 조직, 순환성 종양 세포, 순환성 종양 DNA)로서 이해된다. 상기 샘플은 관련된 의료 기술의 숙련된 자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 종래의 방법, 예를 들어 생검에 의해 취득될 수 있다. 생검 샘플을 취득하는 방법은 종양을 큰 조각으로 분할하는 것, 또는 미세절개, 또는 당업계에 공지된 다른 세포 분리 방법을 포함한다. 종양 세포는 또한 작은 게이지 바늘을 이용한 흡인(aspiration)을 통한 세포학에 의해 취득될 수 있다. 샘플 보존 및 취급을 단순화하기 위해, 샘플은 포르말린에서 고정되고 파라핀에 담겨지거나, 먼저 동결된 다음 급속 동결을 허용하는 고도 극저온 매질에 침지시킴으로써 OCT 화합물과 같은 조직 동결 매질에 담겨질 수 있다.

[0071] 본 발명의 맥락에서, "c-MAF 단백질의 기능적으로 동등한 변이체"는 (i) 하나 이상의 아미노산 잔기가 보존되거나 비보존된 아미노산 잔기(바람직하게는 보존된 아미노산 잔기)에 의해 치환된 c-MAF 단백질(서열 번호 4 또는 서열 번호 5)의 변이체로서, 이러한 치환된 아미노산 잔기는 유전적 코드에 의해 코딩된 아미노산 잔기이거나 아닐 수 있는 변이체, 또는 (ii) 하나 이상의 아미노산의 삽입 또는 결실을 포함하고 c-MAF 단백질과 동일한 기능을 갖는, 즉, DNA 결합 전사 인자로서 작용하는 변이체로서 이해된다. c-MAF 단백질의 변이체는 국제 특허 출원 WO제2005/046731호(그 전체가 참조로 본원에 포함됨)에 나타난 바와 같이 시험관내 세포 증식을 촉진하는 c-MAF의 능력에 기초한 방법, WO제2008098351호(그 전체가 참조로 본원에 포함됨)에 기재된 바와 같이 c-MAF를 발현하는 세포에서 사이클린 D2 프로모터의 제어 하에 또는 c-MAF 반응성 영역(MARE 또는 c-MAF 반응성 요소)을 함유하는 프로모터의 제어 하에 리포터 유전자의 전사 능력을 차단하는 소위 억제제의 능력에 기초한 방법, 또는 US제2009048117호A(그 전체가 참조로 본원에 포함됨)에 기재된 바와 같이 NFATc2 및 c-MAF를 발현하는 세포에서 PMA/이오노마이신을 사용한 자극에 반응하여 IL-4 프로모터의 제어 하에 리포터 유전자 발현을 차단하는 소위 억제제의 능력에 기초한 방법을 사용하여 확인될 수 있다.

[0072] 본 발명에 따른 변이체는 바람직하게는 c-MAF 단백질 아형(서열 번호 4 또는 서열 번호 5) 중 어느 것의 아미노산 서열과 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 약 99%의 서열 유사성을 갖는다. 변이체와 이전에 정의된 특정 c-MAF 단백질 서열 간의 유사성의 정도는 당업자에 의해 널리 공지된 알고리즘 및 컴퓨터 프로세스를 사용하여 결정된다. 2개의 아미노산 서열 사이의 유사성은 바람직하게는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 결정된다[BLAST Manual, Altschul, S., *et al.*, NCBI NLM NIH Bethesda, Md. 20894, Altschul, S., *et al.*, *J. Mol. Biol.* 215: 403-410(1990)].

[0073] 본원에 사용된 바와 같이, "골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제"는 골아세포 증식을 자극하거나 파골세포 증식을 억제하거나 또는 골 구조를 고정시킴으로써 골 분해를 예방, 억제, 치료, 감소, 또는 정지시킬 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. 골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제는 골 분해를 방지 또는 예방하기 위한 제제를 포함하고 골 합성을 방지 또는 예방하기 위한 제제를 포함한다.

[0074] 본원에 사용된 바와 같이, "c-MAF 억제제"는 상기 유전자의 발현 산물의 생산을 방지함으로써(c-MAF 유전자 전사를 방해하고/하거나 c-MAF 유전자 발현으로부터 나오는 mRNA의 번역을 차단함으로써) 및 c-MAF 단백질 활성을 직접 억제함으로써, c-MAF 유전자 발현을 완전히 또는 부분적으로 억제할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. c-MAF 유전자 발현 억제제는 국제 특허 출원 WO제2005/046731호(그 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨)에 나타난 바와 같이 시험관내 세포 증식을 촉진하는 c-MAF의 능력을 차단하는 소위 억제제의 능력에 기초한 방법, WO제2008098351호(그 전체 내용은 참조로 본원에 포함됨)에 기재된 바와 같이 c-MAF를 발현하는 세포에서 사이클린 D2 프로모터의 제어 하에 또는 c-MAF 반응 영역(MARE 또는 c-MAF 반응성 요소)을 함유하는 프로모터의 제어 하에 리포터 유전자의 전사 능력을 차단하는 소위 억제제의 능력에 기초한 방법 또는 US제2009048117호A(그 전체가 참조로 본원에 포함됨)에 기재된 바와 같이 NFATc2 및 c-MAF를 발현하는 세포에서 PMA/이오노마이신을 사용한 자극에 반응하여 IL-4 프로모터의 제어 하에 리포터 유전자 발현을 차단하는 소위 억제제의 능력에 기초한

방법을 사용하여 확인될 수 있다

- [0075] 본원에 사용된 바와 같이, 라파마이신의 포유동물 표적(mTOR) 또는 "mTor"은 EC 2.7.11.1에 상응하는 단백질을 지칭한다. mTor 효소는 세린/트레오닌 단백질 키나아제이며, 세포 증식, 세포 이동성, 세포 성장, 세포 생존, 및 전사를 조절한다.
- [0076] 본원에 사용된 바와 같이, "mTor 억제제"는 상기 유전자의 발현 산물의 생성을 방지함으로써(mTor 유전자 전사를 중단시키고/시키거나 mTor 유전자 발현으로부터 나오는 mRNA의 번역을 차단함으로써) 및 mTor 단백질 활성을 직접 억제함으로써 mTor 유전자 발현을 완전히 또는 부분적으로 억제할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. 이 중 이상의 표적을 갖고 이들 중에서 mTor 단백질 활성을 갖는 억제제가 포함된다.
- [0077] 본원에 사용된 바와 같이, "Src"는 EC 2.7.10.2에 상응하는 단백질을 지칭한다. Src는 비수용체 티로신 키나아제 및 원종양유전자이다. Src는 세포 성장 및 배아 발달에서 역할을 할 수 있다.
- [0078] 본원에 사용된 바와 같이, "Src 억제제"는 상기 유전자의 발현 산물의 생성을 방지함으로써(Src 유전자 전사를 중단시키고/시키거나 Src 유전자 발현으로부터 나오는 mRNA의 번역을 차단함으로써) 및 Src 단백질 활성을 직접 억제함으로써 Src 유전자 발현을 완전히 또는 부분적으로 억제할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다.
- [0079] 본원에 사용된 바와 같이, "프로스타글란딘-엔도퍼옥사이드 합성효소 2", "사이클로옥시게나아제-2" 또는 "COX-2"는 EC 1.14.99.1에 상응하는 단백질을 지칭한다. COX-2는 아라키돈산을 프로스타글란딘 엔도퍼옥사이드 H2로 전환하는 것을 담당한다.
- [0080] 본원에 사용된 바와 같이, "COX-2 억제제"는 상기 유전자의 발현 산물의 생성을 방지함으로써(COX-2 유전자 전사를 중단시키고/시키거나 COX-2 유전자 발현으로부터 나오는 mRNA의 번역을 차단함으로써) 및 COX-2 단백질 활성을 직접 억제함으로써 COX-2 유전자 발현을 완전히 또는 부분적으로 억제할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다.
- [0081] 본원에 사용된 바와 같이 "결과" 또는 "임상 결과"는 질환의 및/또는 질환 진행의 결과 과정을 지칭하고, 예를 들어, 재발, 재발까지의 시간, 전이, 전이까지의 시간, 전이의 수, 전이 부위의 수 및/또는 질환으로 인한 사망을 특징으로 할 수 있다. 예를 들어, 양호한 임상 결과는 고정된 기간 내에 치유, 재발의 예방, 전이의 예방 및/또는 생존(재발 없음)을 포함하고, 불량한 임상 결과는 고정된 기간 내에 질환 진행, 전이 및/또는 사망을 포함한다.
- [0082] 본원에 사용된 바와 같이, "침습성 무병 생존" 또는 "IDFS"는 암에서 원래의 원발성 종양 또는 다른 조직과 같이 동일한 유방 실질(parenchyma)을 침습하는 암의 임의의 징후 또는 증상 없이 생존하는 암의 1차 치료 후의 시간의 길이를 지칭한다. 일부 구현예에서, IDFS는 동측 침습성 유방 종양 재발, 국소 또는 부위 침습성 유방암 재발, 전이 또는 원격 재발, 유방암, 반대쪽 침습성 유방암, 및 2차 원발성 침습성 암(기저 세포 또는 편평 피부암을 제외한 비유방)을 포함한다. 문헌[Coleman et al Lancet Oncol 2014; 15: 997-1006]을 참고한다.
- [0083] 본 발명에서, "유방암을 갖는 대상체에서 전이의 진단"은 그의 징후를 연구함으로써, 즉, 본 발명의 맥락에서 대조군 샘플에 대해 유방암 종양 조직에서 증가된 c-MAF 유전자 발현 수준(즉, 과발현)에 의해 질환(전이)을 확인하는 것으로서 이해된다.
- [0084] 본 발명에서 "유방암을 갖는 대상체에서 전이를 발병하는 경향의 예후"는 상기 대상체가 갖는 유방암이 미래에 전이될지 여부를 징후에 기초하여 아는 것으로서 이해된다. 본 발명의 맥락에서, 징후는 종양 조직에서 c-MAF 유전자 과발현이다.
- [0085] 본 발명의 맥락에서, 대상체가 겪는 유방암이 신체의 다른 장기, 특정 구현예에서 골로 전이된 경우 "대상체는 전이에 대해 양성 진단을 갖는다"는 것이 이해된다. 용어는 재발에 대해 유사하게 사용된다.
- [0086] 당업자는 원발성 종양이 전이, 재발 또는 다시 일어나는 경향의 예측이 확인될 모든 대상체(즉, 대상체의 100%)에 대해 정확한 것으로 의도되지 않는 것을 이해할 것이다. 그럼에도 불구하고, 용어는 대상체의 통계학적으로 유의한 부분(예를 들어, 코호트 연구에서 코호트)을 확인할 수 있는 것을 요구한다. 부분이 통계학적으로 유의한지 여부는 다양한 널리 공지된 통계학적 평가 도구, 예를 들어, 신뢰 구간의 결정, p 값의 결정, 스튜던트 T 검정, 만-휘트니 검정 등을 사용하여 당업자에 의해 간단한 방식으로 결정될 수 있다. 세부사항은 문헌[Dowdy and Wearden, Statistics for Research, John Wiley and Sons, New York 1983]에 제공되어 있다. 바람직한 신뢰 구간은 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 또는 적어도 99%이다. p 값은 바람직하게는 0.1, 0.05, 0.01, 0.005 또는 0.0001이다. 보다 바람직하게는, 집단의 대상체의 적어도 약 60%, 적어도 약

70%, 적어도 약 80% 또는 적어도 약 90%가 본 발명의 방법에 의해 적합하게 확인될 수 있다.

- [0087] 본원에 사용된 바와 같이, "불량한 예후"는 대상체가 설정된 기간 내에 생존하지 않고/않거나 재발, 또는 원격 전이를 갖거나 가질 위험 상태에 있을 것으로 예상, 예컨대 예측되는 것을 나타낸다. 용어 "높은"은 상대적인 용어이고, 본원의 맥락에서, 임상 결과(재발, 원격 전이 등)와 관련하여 "높은" 발현 그룹의 위험을 지칭한다. "높은" 위험은 불균일한 암 환자 집단에 대한 평균 위험보다 더 높은 위험으로서 간주될 수 있다. 문헌[Paik et al.(2004)]의 연구에서, 재발의 전반적인 "높은" 위험은 15%보다 높은 것으로 간주되었다. 위험은 또한 기간의 함수에 따라 다를 것이다. 기간은, 예를 들어, 암의 초기 진단 또는 예후가 이뤄진 후 5년, 10년, 15년 또는 심지어 20년일 수 있다.
- [0088] 본원에 사용된 바와 같이, "기준값"은 환자 또는 환자로부터 수집된 샘플의 실험실 조사에 의해 획득된 값/데이터에 대한 기준으로 사용되는 실험실 값을 지칭한다. 기준값 또는 기준 수준은 절대 값; 상대 값; 상한 및/또는 하한을 갖는 값; 값의 범위; 평균 값(average value, mean value); 중앙 값, 또는 특정 대조 또는 기저 값과 비교된 값일 수 있다. 기준값은 개별 샘플 값, 예를 들어, 시험되는 대상체로부터의 샘플로부터 초기 시점에 획득된 값에 기초할 수 있다. 기준값은 많은 샘플, 예컨대 연령이 일치된 그룹의 대상체의 집단으로부터의 많은 샘플에 기초하거나, 또는 시험될 샘플을 포함하거나 제외된 샘플의 풀에 기초할 수 있다.
- [0089] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치료"는 본원에 기재된 바와 같은 임상 병태에 대한 민감성을 종결시키거나, 예방하거나, 개선하거나 감소시키는 것을 목표로 하는 임의의 유형의 요법을 지칭한다. 일 구현예에서, 용어 치료는 본원에 정의된 바와 같은 장애 또는 병태의 예방적 치료(즉, 임상 병태에 대한 민감성을 감소시키는 요법)에 관한 것이다. 따라서, "치료," "치료하는," 및 이들의 동의어는 인간을 포함한 포유동물에서 병리학적 병태 또는 장애의 임의의 치료를 포함하는 원하는 약리학적 또는 생리학적 효과를 획득하는 것을 지칭한다. 효과는 장애 또는 이의 증상을 완전히 또는 부분적으로 예방하는 관점에서 예방적일 수 있고/있거나 장애 및/또는 장애에 기인하는 역효과에 대한 부분적 또는 완전한 치유의 관점에서 치료적일 수 있다. 즉, "치료"는 (1) 대상체에서 장애가 발병하거나 재발하는 것을 예방하는 것, (2) 장애를 억제하는 것, 예컨대 그의 발병을 정지시키는 것, (3) 장애 또는 적어도 그와 관련된 증상을 정지시키거나 종결시켜 숙주가 장애 또는 그의 증상을 더 이상 겪지 않는 것, 예를 들어 손실되거나 사라지거나 결함이 있는 기능을 회복시키거나 수선함으로써, 예컨대 장애 또는 그의 증상의 퇴행을 일으키는 것, 또는 (4) 개선이 광의의 의미로 염증, 통증, 또는 면역 결핍과 같은 파라미터의 크기의 감소를 지칭하는데 사용되는 경우, 장애, 또는 그 외 관련된 증상을 경감시키거나, 완화하거나, 또는 개선하는 것을 포함한다.
- [0090] 본원에 사용된 바와 같이, "샘플" 또는 "생물학적 샘플"은 대상체로부터 단리된 생물학적 물질을 의미한다. 생물학적 샘플은 c-MAF 유전자의 발현 수준을 결정하는데 적합한 임의의 생물학적 물질을 함유할 수 있다. 샘플은 임의의 적합한 생물학적 조직 또는 체액, 예를 들어, 종양 조직, 혈액, 혈장, 혈청, 소변 또는 뇌 척수액(CSF)으로부터 단리될 수 있다.
- [0091] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 유전자의 "발현 수준"은 본원에 사용된 바와 같이 대상체의 샘플에서 유전자에 의해 생산된 유전자 산물의 측정가능한 양을 지칭하며, 유전자 산물은 전사 산물 또는 번역 산물일 수 있다. 따라서, 발현 수준은 mRNA 또는 cDNA와 같은 핵산 유전자 산물 또는 폴리펩타이드 유전자 산물에 관한 것일 수 있다. 발현 수준은 대상체의 샘플 및/또는 기준 샘플 또는 샘플들로부터 유래되고, 예를 들어 드노보(de novo) 검출되거나 이전 결정에 상응할 수 있다. 발현 수준은, 예를 들어, 당업자에게 공지된 바와 같이 마이크로어레이 방법, PCR 방법(qPCR), 및/또는 항체 기반 방법을 사용하여 결정되거나 측정될 수 있다.
- [0092] "증가된 발현 수준"은 기준 샘플 또는 대조군 샘플보다 큰 c-MAF 유전자의 수준을 지칭할 때의 발현 수준으로 이해된다. 이러한 증가된 수준은 유전자 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자좌 증폭, 카피 증가 또는 전좌에 의해 다른 기전을 제외하지 않고 야기될 수 있다. 특히, 샘플은 환자로부터 단리된 샘플에서의 발현 수준이 기준 또는 대조군과 비교하여 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.1배, 2.2배, 2.3배, 2.4배, 2.5배, 3배, 4배, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 100배 이상인 경우 높은 c-MAF 발현 수준을 갖는 것으로 간주될 수 있다. 구현예에서, "증가된 발현 수준"은 "높은" 발현 수준이다. "증가되지 않은" 또는 "비증가된" 발현 수준은 "증가된" 발현 수준의 정의에 포함되지 않는 임의의 값이며, 기준 또는 대조군 수준과 동일한 값 또는 기준 또는 대조군 수준과 비교하여 감소된 발현 수준을 포함한다.
- [0093] "감소된 발현 수준"은 기준 샘플 또는 대조군 샘플보다 낮은 c-MAF 유전자의 수준을 지칭할 때의 발현 수준으로 이해된다. 이 감소된 수준은 유전자 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자좌 결실에 의해 다른 기전을 제외하지 않고 야기될 수 있다. 특히, 샘플은 환자로부터 단리된 샘플에서의 발현 수준이 기준 또는 대조군과 비교

하여 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.1배, 2.2배, 2.3배, 2.4배, 2.5배, 3배, 4배, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 100배 미만인 경우 감소된 c-MAF 발현 수준을 갖는 것으로 간주될 수 있다. 구현예에서, "감소된 발현 수준"은 "낮은" 발현 수준이다.

[0094] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "유전자 카피 수"는 세포 내의 핵산 분자의 카피 수를 지칭한다. 유전자 카피 수는 세포의 게놈(염색체) DNA에서의 유전자 카피 수를 포함한다. 정상 세포(비종양 세포)에서, 유전자 카피 수는 일반적으로 두 카피(염색체 쌍의 각 구성원에서 하나의 카피)이다. 유전자 카피 수는 때때로 세포 집단의 샘플로부터 취한 유전자 카피 수의 절반을 포함한다.

[0095] 본 발명에서, "증가된 유전자 카피 수"는 c-MAF 유전자 카피 수가 기준 샘플 또는 대조군 샘플이 갖는 카피 수보다 큰 경우로서 이해된다. 이러한 증가된 유전자 카피 수는 유전자 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자좌 증폭, 카피 획득 또는 전좌에 의해 다른 기전을 제외하지 않고 야기될 수 있다. 특히, 카피 수가 c-MAF 유전자의 2 카피 초과, 예를 들어, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 카피 이상인 경우 샘플은 증가된 c-MAF 카피 수를 갖는 것으로 간주될 수 있다. 구현예에서, "증가된 유전자 카피 수"는 계수된 세포당 카피의 평균에 기초하여 결정된다. 구현예에서, 계수된 세포당 평균 카피 수가 c-MAF 유전자의 2 카피 초과, 예를 들어, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 카피 이상인 경우 샘플은 증가된 c-MAF 카피 수를 갖는 것으로 간주될 수 있다.

[0096] 본 발명에서, "감소된 유전자 카피 수"는 c-MAF 유전자 카피 수가 기준 샘플 또는 대조군 샘플이 갖는 카피 수보다 낮은 경우로서 이해된다. 이러한 감소된 유전자 카피 수는 유전자 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자좌 결실에 의해 다른 기전을 제외하지 않고 야기될 수 있다. 특히, 카피 수가 c-MAF 유전자의 2 카피 미만인 경우 샘플은 감소된 c-MAF 카피 수를 갖는 것으로 간주될 수 있다.

[0097] 본 발명에서, "증가되지 않은 유전자 카피 수"는 c-MAF 유전자 카피 수 또는 평균 c-MAF 유전자 카피 수가 기준 샘플 또는 증가에 대해 양성인 샘플이 갖는 카피 수보다 적은 경우로서 이해된다. 증가되지 않은 유전자 카피 수는 유전자 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자좌 증폭, 카피 획득 또는 전좌의 증가 없이 다른 기전을 제외하지 않고 야기될 수 있다. 특히, 카피 수가 c-MAF 유전자의 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 카피 미만인 경우 샘플은 증가되지 않은 c-MAF 카피 수 또는 c-MAF 평균 카피 수를 갖는 것으로 간주될 수 있다.

[0098] 본원에서 이해되는 바와 같은 용어 "유전자의 증폭"은 유전자 또는 유전자 단편의 다양한 카피가 개별 세포 또는 세포주에서 형성되는 과정을 지칭한다. 유전자의 카피는 반드시 동일한 염색체에 위치하는 것은 아니다. 복제된 영역은 종종 "앰플리콘"으로 불린다. 일반적으로, 생산된 mRNA의 양, 즉, 유전자 발현 수준은 또한 특정 유전자의 카피 수에 비례하여 증가한다.

[0099] 용어 "획득(gain)"은 기준으로부터의 임의의 염색체 카피 수 증가를 지칭하며, 즉, 이배체 유기체에서, 세포에서의 3 카피의 유전자는 획득일 것이다. 일부 구현예에서, "획득"은 용어 "카피 획득"을 포함하며, "카피 수"와 동의어로 사용된다.

[0100] 본원에 사용된 바와 같이, "프로브"는 관심있는 특정 핵산 서열에 상보적인 올리고뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 일부 구현예에서, 프로브는 전좌를 겪는 것으로 알려진 염색체의 영역에 특이적일 수 있다. 일부 구현예에서, 프로브는 특정 표지 또는 태그를 갖는다. 일부 구현예에서, 태그는 형광단이다. 일부 구현예에서, 프로브는 표지화가 핵산 및 단백질에 대한 백금의 안정한 배위 결합에 기초하는 DNA 원위치 혼성화 프로브이다. 일부 구현예에서, 프로브는 그 전체가 참조로 포함된 미국 특허 제9,127,302호 및 제9,134,237호에 기재되어 있거나 문헌[Swennenhuis et al. "Construction of repeat-free fluorescence in situ hybridization probes" *Nucleic Acids Research* 40(3):e20 (2012)]에 기재되어 있다.

[0101] 본원에 사용된 바와 같이, "태그" 또는 "표지"는 프로브와 직접 또는 간접적으로 결합하여, 프로브 또는 프로브된 위치를 시각화하거나, 표시하거나, 포획하는 임의의 물리적 분자를 지칭한다.

[0102] 본원에 사용된 바와 같이, "전좌(translocation)"는 동일하지 않거나 동일한 양의 염색체 물질이 염색체 사이에서 교환되는 것을 지칭한다. 일부 경우, 전좌는 동일한 염색체 상에서 일어난다. 일부 경우, 전좌는 상이한 염색체 사이에서 일어난다. 전좌는 유방암 및 백혈병을 포함하는 많은 유형의 암에서 높은 빈도로 일어난다. 전좌는 일차 상호간 전좌 또는 보다 복잡한 이차 전좌일 수 있다. 많은 암에서 개시 사건을 구성하는 것으로 여겨지는 면역글로불린 중쇄(IgH) 유전자좌를 수반하는 여러 일차 전좌가 있다(Eychene, A., Rocques, N., 및 Puoponnot, C., A new MAFia in cancer. 2008. *Nature Reviews: Cancer*. 8: 683-693.).

- [0103] 본원에 사용된 바와 같이, "다배수체" 또는 "다배수성"은 세포가 2개를 초과하는 관심있는 유전자를 함유한다는 것을 나타낸다. 일부 경우, 관심있는 유전자는 MAF이다. 일부 구현예에서, 다배수성은 관심있는 유전자의 발현의 축적과 연관된다. 일부 구현예에서, 다배수성은 게놈 불안정성과 연관된다. 일부 구현예에서, 게놈 불안정성은 염색체 전좌를 야기할 수 있다.
- [0104] 본원에 사용된 바와 같이, "전체 게놈 시퀀싱"은 유기체의 전체 게놈이 한 번에 시퀀싱되는 과정이다. 예컨대, 문헌[Ng., P.C. and Kirkness, E.F., Whole Genome Sequencing. 2010. *Methods in Molecular Biology*. 628: 215-226]을 참고한다.
- [0105] 본원에 사용된 바와 같이, "엑솜 시퀀싱"은 유기체의 DNA의 전체 코딩 영역이 시퀀싱되는 과정이다. 엑솜 시퀀싱에서, mRNA가 시퀀싱된다. 게놈의 비번역 영역은 엑솜 시퀀싱에 포함되지 않는다. 예컨대, 문헌[Choi, M. et al., Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. 2009. *PNAS*. 106(45): 19096-19101]을 참고한다.
- [0106] 본원에 사용된 바와 같이, "결합 구성원"은 서로 결합하는 한 쌍의 분자 중 하나의 구성원을 기술한다. 결합 쌍의 구성원은 자연적으로 유래되거나 전체적으로 또는 부분적으로 합성적으로 생산될 수 있다. 분자의 쌍 중 하나의 구성원은 그 표면 또는 공동(cavity)에 분자의 쌍의 다른 구성원의 특정 공간적 및 극성 조직에 결합하고 따라서 상보적인 영역을 갖는다. 결합 쌍의 유형의 예는 항원-항체, 수용체-리간드 및 효소-기질이다. 일부 구현예에서, 결합 구성원은 항체이다. 일부 구현예에서, 결합 구성원은 c-MAF 항원에 결합하는 항체이다.
- [0107] 본원에 사용된 바와 같이, "CDR 영역" 또는 "CDR"은 문헌[Kabat et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington]에 정의된 바와 같이 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄의 초가변 영역을 나타내는 것으로 의도된다. 항체는 전형적으로 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3으로 불리는 3개의 중쇄 CDR, 및 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3으로 불리는 3개의 경쇄 CDR을 함유한다. 용어 CDR은 항원 또는 항체가 인식하는 에피토프에 대한 항체의 친화성에 의한 결합을 담당하는 아미노산 잔기의 대부분을 함유하는 이들 영역 중 하나 또는 이들 영역 중 수개, 또는 심지어 전체를 나타내기 위해 본원에 사용된다. 6개의 CDR 서열 중에서, 중쇄의 세 번째 CDR(HCDR3)은 본질적으로 생식계열(germline) 면역글로불린 중쇄 유전자 유전자좌의 V, D 및 J 유전자 구획의 V(D)J 재배열로서 당업계에 공지된 기전으로 인해 가장 큰 크기 가변성, 즉, 더 큰 다양성을 갖는다. HCDR3은 2개의 아미노산만큼 짧거나 26개의 아미노산만큼 길 수도 있거나, 이들 2개의 끝 사이의 임의의 길이를 가질 수 있다. CDR 길이는 또한 특정 기본 프레임워크에 의해 수용될 수 있는 길이에 따라 달라질 수 있다. 기능적으로, HCDR3은 항체의 특이성의 결정에서 중요한 역할을 할 수 있다(Segal et al.,(1974) *Proc Natl Acad Sci USA*. 71(11): 4298-302; Amit et al.,(1986) *Science* 233(4765): 747-53; Chothia et al.,(1987) *J. Mol. Biol.* 196(4): 901-17; Chothia et al.,(1989) *Nature* 342(6252): 877-83; Caton et al.,(1990) *J. Immunol.* 144(5): 1965-8; Sharon(1990a) *PNAS USA*. 87(12): 4814-7, Sharon(1990b) *J. Immunol.* 144: 4863-4869, Kabat et al.,(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington).
- [0108] 본원에 사용된 바와 같이, "항체", "항체 분자", 또는 "항체"는 자연적으로, 또는 부분적으로, 또는 전체적으로 합성적으로 생산되든지 간에 면역글로불린을 기술한다. 용어는 또한 항체 항원-결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩타이드 또는 단백질을 포함한다. 본 발명은 천연 형태의 항체에 관한 것이 아니며, 다시 말하면 이들은 천연 환경에 있지 않지만 이들은 천연 공급원으로부터 정제에 의해 단리되거나 수득될 수 있거나, 또는 유전적 재조합에 의해, 또는 화학적 합성에 의해 수득될 수 있고, 이후 비천연 아미노산을 함유할 수 있음이 본원에서 이해되어야 한다. 항체 항원-결합 부위를 포함하는 항체 단편은, 비제한적으로, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fab'-SH, scFv, Fv, dAb 및 Fd와 같은 분자를 포함한다. 하나 이상의 항체 항원-결합 부위를 포함하는 다양한 다른 항체 분자가 조각되었고, 이는 예를 들어 Fab2, Fab3, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 카멜바디, 나노바디 및 미니바디를 포함한다. 항체 분자 및 이들의 제조 및 사용 방법은 문헌[Hollinger & Hudson(2005) *Nature Biot.* 23(9): 1126-1136]에 기재되어 있다.
- [0109] 본원에 사용된 바와 같이, "항체 분자"는 항원에 대한 필요한 특이성 및/또는 결합을 갖는 항체 항원-결합 부위를 갖는 임의의 결합 구성원 또는 물질을 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 따라서, 이 용어는 천연이든 또는 전체적으로 또는 부분적으로 합성이든 간에, 항체 항원-결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩타이드를 포함하는 기능적 항체 단편 및 유도체를 포함한다. 따라서 또 다른 폴리펩타이드(예컨대, 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 클래스 또는 하위클래스에 속하는)에 융합된 항체 항원-결합 부위 또는 등가물을 포함하는

키메라 분자가 포함된다. 키메라 항체의 클로닝 및 발현은 예를 들어 그 전체가 본원에 포함된 EP제0120694호 A(Boss et al) 및 EP제0125023호A(Cabilly et al)에 기재되어 있다.

- [0110] 본원에 사용된 바와 같이, 예를 들어, 본 발명의 결합 구성원의 "기능적 단편 또는 변이체"는 전체 결합 구성원의 적어도 일부 기능(예컨대, Maf와 같은 항원에 특이적으로 결합하는 능력)을 보유하는 결합 구성원의 단편 또는 변이체를 의미한다.
- [0111] "종양 조직 샘플"은 비제한적으로 순환성 종양 세포 및 순환성 종양 DNA를 포함하는, 유방암 종양으로부터 비롯되는 조직 샘플로서 이해된다. 상기 샘플은 종래의 방법, 예를 들어 관련된 의료 기술에서 숙련된 자에 의해 널리 공지된 방법을 사용하여 생검에 의해 취득될 수 있다.
- [0112] "용골성 골 전이"는 골 재흡수(골 밀도의 점진적인 손실)가 종양 세포에 의한 파골세포 활성의 자극으로부터 비롯된 전이의 근처에서 발생하는 전이의 유형을 지칭하며, 종종 통증, 병리학적 골절, 고칼슘혈증, 척수 압박 및 신경 압박으로부터 비롯된 다른 증후군을 특징으로 한다.
- [0113] 유방 종양을 갖는 환자에서 본 발명의 맞춤형 요법을 설계하기 위한 방법
- [0114] 본 발명은 특정 제제 및/또는 요법을 이용한 치료로부터 이익을 얻을 유방암을 앓고 있는 대상체를 확인하는 것에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 본 발명은 특정 제제 및 요법을 이용한 치료로부터 이익을 얻지 않을 유방암을 앓고 있는 대상체를 확인하는 것에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 대상체는 c-MAF의 높은 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 및/또는 전좌를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 c-MAF의 낮은 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 및/또는 전좌를 갖는다. 특정 구현예에서, 암은 삼중 음성 유방암이다. 다른 구현예에서, 암은 ER+ 유방암이다. 추가 구현예에서, 암은 ER- 유방암이다. 추가 구현예에서, 암은 HER2+ 유방암이다. 일부 구현예에서, 암은 기저형 유방암이다. 일 구현예에서, 대상체는 폐경후이다. 일 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 각각 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 출원 제14/391,085호, 미국 가출원 제61/801,769호, 미국 가출원 제14/776,390호, 미국 출원 제14/776,412호, 미국 출원 제14/405,724호, 미국 출원 제14/050,262호, 미국 출원 제14/435,128호, 미국 출원 제15/027,946호, 미국 출원 제15/014,916호, 및 미국 출원 제14/776,453호에 기재된 바와 같이, c-MAF의 수준은 전이 또는 재발을 진단하거나, 또는 종양이 전이 또는 재발을 겪는 경향을 예측하는데 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명에 기재된 바와 같이, 유방암 세포에서의 c-MAF 유전자 과발현이 전이 또는 재발의 존재와 관련된다는 것을 고려할 때, c-MAF 유전자 발현 수준은 상기 암을 겪는 대상체에게 가장 적합한 요법의 측면에서 결정할 수 있게 해준다. 일 구현예에서, 본 발명은 단일 마커로서 c-MAF 유전자 발현 수준만을 정량화하는 것을 포함하며, 즉, 방법은 임의의 추가 마커의 발현 수준을 결정하는 것을 포함하지 않는다.
- [0115] 따라서, 일 구현예에서 본 발명은 a) 유방암을 갖는 대상체의 종양 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및 b) 취득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 대조군 샘플에서의 상기 유전자의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득과 비교하는 단계를 포함하며, 요법은 대상체에서의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득에 기초하여 결정되는 것인, 유방암 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 대상체는 높은 c-MAF 유전자 발현 수준을 갖는다. 다른 구현예에서, 대상체는 낮은 c-MAF 유전자 발현 수준을 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제를 포함하는 골 재형성을 방지하고/하거나 예방하는 제제를 투여받는다. 구현예에서, 대상체는 암을 치료하는 제제를 투여받는다. 추가 구현예에서, 대상체는 c-MAF 억제제를 투여받는다. 특정 구현예에서, 골 재형성을 방지하고/하거나 예방하는 제제 또는 c-MAF 억제제는 그 전체가 참조로 본원에 포함된 미국 공개 제2014/0057796호 및 제2015/0293100호 및 미국 출원 제15/027,946호에 개시된 임의의 제제이다.
- [0116] 일 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및 ii) i)에서 취득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있지 않을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉬운 것인, 유방암을 갖는 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후이다. 일 구현예에서, 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하는 것을 목표로 하는 제제를 투여받는다. 구현예에서, 대상체는 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 제제를 투여받는다. 추가 구현예에서, 대상체는 c-MAF 억제제를 투여받는다.
- [0117] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 폐경후가 아닌 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준,

카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계, 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고/하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉽지 않은 것인, 유방암을 갖는 폐경후가 아닌 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고/하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 제제를 투여받지 않는다.

[0118] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 폐경후 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고/하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉬운 것인, 유방암을 갖는 폐경후 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 대상체에게 골 재형성을 예방 및/또는 치료하는 것을 목표로 하는 제제 및/또는 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 요법을 실시한다.

[0119] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 폐경후 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 상기 기준값에 대해 증가되어 있지 않을 경우, 상기 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고/하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 요법을 받아들이기 쉽지 않은 것인, 유방암을 갖는 폐경후 대상체를 위한 맞춤형 요법을 설계하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 대상체는 골 재형성을 예방 및/또는 치료하고/하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 것을 목표로 하는 제제를 투여받지 않는다.

[0120] 일 구현예에서, 본 발명은 골 재형성을 예방 또는 억제할 수 있거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제를 투여하는 단계를 포함하는 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 감소된 c-MAF 수준을 갖는 대상체에서의 골 전이의 치료 방법에 관한 것으로서, 골 재형성을 방지 또는 예방하거나 또는 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제는 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, EGFR 억제제, 칼시토닌, 라툼-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억제제, 및 카텡신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후이다.

[0121] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 골 재형성을 예방 또는 억제할 수 있는 제제 및/또는 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하는 제제를 투여하는 단계를 포함하는, 유방암을 갖고 대조군 샘플에 대해 전이성 종양 샘플에서 증가된 c-MAF 수준을 갖는 폐경후 대상체에서의 골 전이의 치료 방법에 관한 것으로서, 골 재형성을 방지 또는 예방하고/하거나 무병 생존 또는 전체 생존을 개선할 수 있는 제제는 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH, PTHLH 억제제(중화 항체 및 펩타이드 포함), PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로겐 수용체 조절제, EGFR 억제제, 칼시토닌, 라툼-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, COX-2 억제제, mTor 억제제, 및 카텡신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0122] 특정 구현예에서, 대상체는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제를 포함하는 골 재형성을 방지하고/하거나 예방하는 제제를 투여받는다. 구현예에서, 대상체는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제를 투여받는다.

[0123] 샘플에서의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 측정하고 대조군 샘플과 비교하면, 대상체의 폐경 상태와 조합된 상기 유전자의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 대상체가 전이 또는 재발을 예방(대상체가 아직 전이를 겪지 않은 경우) 및/또는 치료(대상체가 이미 전이를 경험한 경우)하는 것을 목표로 하는 요법 및/또는 골 재형성을 방지 또는 예방하고자 하는 요법 또는 제제를 받아들이기 쉬운지 여부가 나타난다.

[0124] 일부 구현예에서, FISH  $\geq 2.1$ , 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 또는 3.0을 사용하여 측정된 세포당 MAF의 카피 수 또는 MAF의 평균 카피 수는 높은 값으로 간주된다. 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.2$ 이다. 특정 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.3$ 이다. 다른 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.4$ 이다. 추가 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.5$ 이다. 다른 구현예에서, FISH를 사용하여 측정된 c-MAF의 카피 수는 c-MAF 유전자의  $< 2.1$ , 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 카피이다.

[0125] 특정 구현예에서, 대상체는 전이를 갖거나 전이를 겪는 예후를 갖는다. 일부 구현예에서, 전이는 골 전이이다.

추가 구현예에서, 골 전이는 용골성 전이이다.

- [0126] 일부 구현예에서, 방법은 제1 단계에서 유방암을 앓고 있는 대상체에서의 종양 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 증폭을 정량화하는 것을 포함한다.
- [0127] 일부 구현예에서, 샘플은 대상체의 원발성 종양 조직 샘플이다. 제2 단계에서, 대상체의 종양 샘플에서 수득된 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 대조군 샘플에서 상기 유전자의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득과 비교된다. c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 결정은 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값과 관련되어야 한다. 분석될 종양의 유형에 따라, 대조군 샘플의 정확한 특성을 달라질 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 기준 샘플은 전이되거나 재발되지 않은 유방암을 갖는 대상체의 종양 조직 샘플이거나 전이되거나 재발되지 않은 유방암을 갖는 대상체의 생검 샘플에서의 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 중앙값에 상응하는 유방암을 갖는 대상체의 종양 조직 샘플이다.
- [0128] 일 구현예에서, 본 발명의 방법은 제2 단계에서 대상체로부터의 종양 샘플(비제한적으로 원발성 종양 생검, 순환성 종양 세포 및 순환성 종양 DNA)에서 수득된 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 대조군 샘플에서의 상기 유전자의 발현 수준과 비교하는 단계를 포함한다.
- [0129] c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 결정은 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값과 상관되어야 한다. 분석될 종양의 유형에 따라, 대조군 샘플의 정확한 특성은 다를 수 있다. 따라서, 진단이 평가되는 경우에, 기준 샘플은 전이되지 않은 유방암을 갖는 대상체로부터의 종양 조직 샘플이거나 전이되지 않은 유방암을 갖는 대상체로부터의 생검 샘플에서의 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자 발현 수준의 중앙값에 상응하는 유방암을 갖는 대상체로부터의 종양 조직 샘플이다.
- [0130] 상기 기준 샘플은 전형적으로 대상체 집단으로부터의 샘플의 동일한 양을 조합함으로써 수득된다. 일반적으로, 전형적인 기준 샘플은 문서에 의해 입증적으로 잘 입증되고 전이의 부재가 잘 규명된 대상체로부터 수득될 것이다. 이러한 샘플에서, 바이오마커(c-MAF 유전자)의 정상 농도(기준 농도)는, 예를 들어 기준 집단에 대한 평균 농도를 제공함으로써 결정될 수 있다. 마커의 기준 농도를 결정할 때 다양한 고려사항이 고려된다. 이러한 고려사항 중에는 환자의 연령, 체중, 성별, 일반적인 신체 조건 등이 있다. 예를 들어, 전술한 고려사항에 따라, 예를 들어 다양한 연령 카테고리에 따라 분류된 적어도 약 2, 적어도 약 10, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 적어도 약 50, 적어도 약 75, 적어도 약 100, 적어도 약 250, 적어도 약 500, 내지 1000명 초과 대상체의 그룹의 동일한 양이 기준 그룹으로 취해진다. 기준 수준이 유래되는 샘플 수집물은 바람직하게는 환자 연구 목적으로서 동일한 유형의 암(예컨대, 유방암)을 겪고 있는 대상체에 의해 형성될 것이다. 유사하게, 환자의 코호트 내의 기준값은 수신 작동 곡선(ROC)을 사용하고 민감성 및 특이성 쌍 모두에 대한 곡선화 면적을 측정하여 어떤 쌍이 최상의 값을 제공하고 상응하는 기준값이 무엇인지 결정함으로써 확립될 수 있다. ROC는 표준 통계 개념이다. 설명은 문헌[Stuart G. Baker "The Central Role of Receiver Operating Characteristic (ROC) curves in Evaluating Tests for the Early Detection of Cancer" *Journal of The National Cancer Institute* (2003) Vol 95, No. 7, 511-515]에서 발견될 수 있다.
- [0131] 이 중앙값 또는 기준값이 확립되면, 환자로부터의 종양 조직에서 발현된 이 마커의 수준이 이 중앙값과 비교될 수 있고, 따라서, 예를 들어, "증가된" 발현 수준에 할당될 수 있다. 대상체 사이의 가변성(예를 들어, 연령, 인종 등을 언급하는 측면)으로 인해, c-MAF 발현의 절대적인 기준값을 확립하는 것은 매우 어렵다(사실상 불가능하지는 않지만). 따라서, 특정 구현예에서, c-MAF 발현의 "증가된" 또는 "감소된" 발현에 대한 기준값은 질환이 전술한 임의의 방법에 의해 잘 입증된 대상체로부터 단리된 하나 또는 수개의 샘플에서 분석을 수행하는 것을 포함하는 통상적인 수단에 의해 c-MAF 발현 수준의 백분위수를 계산함으로써 결정된다. 그리고 나서, c-MAF의 "감소된" 수준은 바람직하게는, 예를 들어, 정상 집단에서 60번째 백분위수 이하, 정상 집단에서 70번째 백분위수 이하, 정상 집단에서 80번째 백분위수 이하, 정상 집단에서 90번째 백분위수 이하, 및 정상 집단에서 95번째 백분위수 이하의 발현 수준을 포함하는, 정상 집단에서 c-MAF 발현 수준이 50번째 백분위수 미만인 샘플에 할당될 수 있다. 그리고 나서, "증가된" c-MAF 유전자 발현 수준은 바람직하게는, 예를 들어, 정상 집단에서 60번째 백분위수 이상, 정상 집단에서 70번째 백분위수 이상, 정상 집단에서 80번째 백분위수 이상, 정상 집단에서 90번째 백분위수 이상, 및 정상 집단에서 95번째 백분위수 이상의 발현 수준을 포함하는, 정상 집단에서 c-MAF 유전자 발현 수준이 50번째 백분위수 이상인 샘플에 할당될 수 있다.
- [0132] 특정 구현예에서, c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득의 정도는 상기 유전자를 함유하는 염색체 영역의 증폭 또는 획득을 결정함으로써 결정될 수 있다. 바람직하게는, 증폭 또는 획득이 c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득의 존재를 나타내는 염색체 영역은 c-MAF 유전자를 포함하는 유전자좌 16q22-q24이다. 유전자좌 16q22-q24는 염색체 16

에, 상기 염색체의 긴 팔에 그리고 밴드 22 및 밴드 24 사이의 범위에 위치한다. 이 영역은 NCBI 데이터베이스에서 콘탁(contig) NT\_010498.15 및 NT\_010542.15와 상응한다. 또 다른 바람직한 구현예에서, c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득의 정도는 상기 유전자에 특이적인 프로브를 사용하여 결정될 수 있다.

- [0133] 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 16q23 유전자좌에 있는 영역에서 일어난다. 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp(동원체부터 텔로미어까지)의 염색체 영역 중 임의의 부분에서 일어난다. 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 DNA 반복 요소를 제외한 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp의 게놈 영역에서 일어난다. 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 상기 영역에 특이적인 프로브를 사용하여 측정된다.
- [0134] 일 구현예에서, c-MAF 유전자는 c-MAF 유전자 카피 수가 기준 샘플 또는 대조군 샘플이 갖는 카피 수보다 높을 때 기준 유전자 카피 수와 비교하여 증폭된다. 일 예에서, c-MAF 유전자는 c-MAF 유전자의 게놈 카피 수 또는 평균 게놈 카피 수가 대조군 샘플에 대해 시험 샘플에서 적어도 약 2(즉, 6 카피), 3(즉, 8 카피), 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 50배 증가하면, "증폭된다"고 한다. 또 다른 예에서, c-MAF 유전자는 세포당 c-MAF 유전자의 게놈 카피 수 또는 평균 게놈 카피 수가 적어도 약 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 등이면, "증폭된다"고 한다.
- [0135] 일부 구현예에서, 카피 수가 측정될 때, 대조군 샘플은 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 종양 샘플 또는 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 생검 샘플에서 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자 카피 수의 중앙값에 상응하는 유방암을 갖는 대상체의 종양 샘플이다. 상기 기준 샘플은 전형적으로 대상체 집단으로부터의 샘플의 동일한 양을 조합함으로써 획득된다. c-MAF 유전자 카피 수가 대조군 샘플에서의 상기 유전자의 카피 수와 비교하여 증가되어 있을 경우, 대상체는 전이에 대해 양성 진단을 갖거나 전이를 발달시키는 더 큰 경향을 갖는다. 또 다른 구현예에서, 기준 유전자 카피 수는 골 전이를 겪지 않은 대상체로부터의 유방암 샘플에서의 유전자 카피 수이다.
- [0136] 또 다른 구현예에서, 증폭 또는 획득은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정된다.
- [0137] 또 다른 구현예에서 그리고 본 발명에 기재된 바와 같이, 유방암에서 증폭된 c-MAF 유전자를 포함하는 chr16q22-24가 cMAF 유전자를 포함하는 chr16q22-24의 전이 또는 재발의 존재와 관련된다는 것을 고려할 때, 증폭 또는 획득은 상기 암을 겪는 대상체에게 가장 적합한 요법의 측면에서 결정할 수 있게 해준다.
- [0138] c-MAF 유전자의 증폭의 결정은 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 종양 조직 샘플에서 측정된 c-MAF 유전자의 증폭 수준에 상응하는 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값 또는 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 생검 샘플에서 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자의 증폭의 중앙값에 상응하는 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값과 상관될 필요가 있다. 상기 기준 샘플은 전형적으로 대상체 집단으로부터의 샘플의 동일한 양을 조합함으로써 획득된다.
- [0139] 일반적으로, 전형적인 기준 샘플은 임상적으로 잘 입증되고 전이의 부재가 잘 규명된 대상체로부터 획득될 것이다. 기준 수준이 유래된 샘플 수집물은 바람직하게는 환자 연구 목적으로서 동일한 유형의 암을 겪고 있는 대상체로 구성될 것이다. 이 중앙값이 확립되면, 환자의 종양 조직에서의 c-MAF의 증폭 수준이 이 중앙값과 비교될 수 있고, 따라서, 증폭이 존재하면, 대상체는 전이의 양성 진단을 갖거나 전이를 발달시키는 더 큰 경향을 갖는다.
- [0140] 또 다른 양태에서, 본 발명은 c-MAF 유전자가 상기 대상체의 샘플에서 전좌되는지 여부를 결정하는 단계를 포함하는, 유방암을 앓고 있는 환자를 위한 맞춤형 요법을 설계하는 방법에 관한 것이다.
- [0141] 일부 구현예에서, 전좌된 유전자는 16q23 유전자좌에 있는 영역으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 전좌된 유전자는 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp(동원체부터 텔로미어까지)의 염색체 영역의 임의의 부분으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 전좌된 유전자는 DNA 반복 요소를 제외한 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp의 게놈 영역으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 전좌는 그 영역에 특이적인 프로브를 사용하여 측정된다.
- [0142] 특정 구현예에서, c-MAF 유전자의 전좌는 상기 유전자를 함유하는 염색체 영역의 전좌를 결정함으로써 결정될 수 있다. 일 구현예에서, 전좌는 t(14,16) 전좌이다. 또 다른 구현예에서, 전좌된 염색체 영역은 유전자좌 16q22-q24로부터 유래된다. 유전자좌 16q22-q24는 염색체 16에, 상기 염색체의 긴 팔에 및 밴드 22 및 밴드 24 사이의 범위에 위치한다. 이 영역은 NCBI 데이터베이스에서 콘탁(contig) NT\_010498.15 및 NT\_010542.15에 상

응한다. 일 구현예에서, c-MAF 유전자는 유전자좌 14q32에서 염색체 14로 전좌되어, 전좌 t(14,16)(q32,q23)을 야기한다. 이 전좌는 MAF 유전자를 IgH 유전자좌에서 강한 인헨서 옆에 위치시키며, 이는 일부 경우에 MAF의 과 발현을 야기한다(Eychene, A., Rocques, N., and Puoponnot, C., A new *MAF*ia in cancer. 2008. *Nature Reviews: Cancer*. 8: 683-693).

- [0143] 일 구현예에서, c-MAF 유전자의 전좌는 상기 전좌에 특이적인 프로브를 사용하여 결정될 수 있다.
- [0144] 본 발명의 일 구현예는, 제1 단계에서 c-MAF 유전자가 대상체의 샘플에서 전좌되는지 여부가 결정되는 방법을 포함한다. 일 구현예에서, 샘플은 종양 조직 샘플이다.
- [0145] 특정 구현예에서, 유방암을 갖는 대상체에서 골 전이를 발달시키는 경향의 예후를 위한 본 발명의 방법은 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 카피 수를 결정하는 단계로서 c-MAF 유전자는 전좌되는 것인 단계 및 상기 카피 수를 대조군 또는 기준 샘플의 카피 수와 비교하는 단계를 포함하며, c-MAF 카피 수가 대조군 샘플의 c-MAF 카피 수와 비교하여 더 크면, 대상체는 골 전이를 발달시키는 더 큰 경향을 갖는다.
- [0146] 일부 구현예에서, c-MAF 유전자의 증폭, 획득 및 카피 수는 c-MAF 유전자의 전좌가 결정된 후 결정된다. 일부 구현예에서, 프로브는 세포가 c-MAF 유전자에 대해 다배수체인지 여부를 결정하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 다배수성의 결정은 관심있는 유전자로부터 2개를 초과하는 신호가 존재하는지 여부를 결정함으로써 이루어진다. 일부 구현예에서, 다배수성은 관심있는 유전자에 특이적인 프로브로부터 신호를 측정하고 이를 동원체 프로브 또는 다른 프로브와 비교함으로써 결정된다.
- [0147] c-MAF를 사용하여 IDFS를 포함하는 생존을 예측하는 방법
- [0148] 본 발명은 유방암을 앓고 있는 대상체의 IDFS를 예측하는 것에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 대상체는 c-MAF의 높은 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는다. 다른 구현예에서, 대상체는 c-MAF의 낮은 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 갖는다. 일부 구현예에서, 암은 삼중 음성 유방암이다. 다른 구현예에서, 암은 ER+ 유방암이다. 추가 구현예에서, 암은 ER- 유방암이다. 특정 구현예에서, 암은 기저형 유방암이다. 추가 구현예에서, 암은 HER2+ 유방암이다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경후이다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다.
- [0149] 일부 구현예에서, 본 발명은 i) 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 정량화하는 단계 및 ii) i)에서 수득된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 기준값과 비교하는 단계를 포함하며, 상기 기준값에 대해 상기 유전자의 증가된 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 불량한 IDFS 예후를 나타내는 것인, 유방암을 갖는 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0150] 일 구현예에서, 본 발명은 기준에 대해 상기 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계를 포함하며, 상기 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 불량한 IDFS 예후를 나타내는 것인, 유방암을 갖는 환자의 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0151] 추가 구현예에서, 본 발명은 기준에 대해 유방암을 갖는 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 결정하는 단계를 포함하며, 상기 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가는 불량한, 골 재발을 제외한 IDFS 예후를 나타내는 것인, 유방암을 갖는 환자의 골 재발을 제외한 IDFS를 예측하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0152] 일부 구현예에서, FISH  $\geq 2.1$ , 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 또는 3.0을 사용하여 측정된 세포당 MAF의 카피 수 또는 MAF의 평균 카피 수는 높은 값으로 간주된다. 특정 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.2$ 이다. 다른 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.3$ 이다. 추가 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.4$ 이다. 추가 구현예에서, MAF FISH 값은  $\geq 2.5$ 이다.
- [0153] 일부 구현예에서, 대상체의 c-MAF 상태는 대상체의 전체 생존 또는 무병 생존의 지속시간을 예측한다. 특정 구현예에서, 본원의 임의의 구현예에서의 c-MAF 상태는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자좌 증폭, 카피 증가 또는 전좌 또는 이의 부족, 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자좌 결실을 포함한다. 특정 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체는 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체보다 짧은 무병 생존을 갖는다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 무병 생존은 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존보다 적어도 약

1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 이상 더 낮다. 특정 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체는 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체보다 짧은 전체 생존을 갖는다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 전체 생존은 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존보다 적어도 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 이상 더 낮다. 구현예에서, 대상체는 폐경후이다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경전이다.

[0154] 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산 처리 후, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 무병 생존보다 더 길다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 무병 생존보다 졸레드론산 처리 후 적어도 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 이상이다. 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 전체 생존은 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 전체 생존보다, 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후 더 길다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 전체 생존은 졸레드론산 처리 후 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 전체 생존보다 졸레드론산 치료 후 적어도 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 이상이다. 구현예에서, 대상체는 폐경후이다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경전이다.

[0155] 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 무병 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산 처리 후, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존보다 짧다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 무병 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존보다 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 치료 후 적어도 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 이상 더 낮다. 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 전체 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 전체 생존보다 짧다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 전체 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 치료 후 적어도 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 이상 낮다. 구현예에서, 대상체는 폐경후이다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경전이다.

[0156] 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 폐경후가 아닌 대상체의 무병 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존보다 짧다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 폐경후가 아닌 대상체의 무병 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 무병 생존보다 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산을 처리 후 적어도 약 1개월, 2개월, 3개월, 4

개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 또는 이상 더 낮다.

- [0157] 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 전체 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체보다 짧다. 구현예에서, 기준에 대해 이들의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는 대상체의 전체 생존은 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 처리 후, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 대상체의 전체 생존보다 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제, 즉, 졸레드론산의 치료 후 적어도 약 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월, 7개월, 8개월, 9개월, 10개월, 11개월, 12개월, 1년, 18개월, 3년, 4년, 5년, 6년, 7년, 8년, 9년, 10년 이상 더 낮다. 구현예에서, 대상체는 폐경후이다. 다른 구현예에서, 대상체는 폐경후가 아니다. 일부 구현예에서, 대상체는 폐경전이다.
- [0158] 구현예에서, 대상체의 OS 또는 DFS에 대한 MAF의 예측력은 대상체의 폐경 상태에 기초한다. 일부 구현예에서, MAF는 더 짧은 DFS 또는 최악의 OS의 위험 상태에 있는 폐경후, 미지 및 폐경전후 대상체에서 예측적이다. 다른 구현예에서, 폐경전 대상체에서, MAF 양성 대상체는 덜 위험한 대상체이고, 더 긴 DFS 및 더 양호한 OS를 가질 가능성이 높다.
- [0159] 구현예에서, 대상체의 MAF 상태는 대상체가 받아야 하는 치료를 예측한다. 구현예에서, 본원의 임의의 구현예에서의 c-MAF 상태는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자와 증폭, 카피 획득 또는 전좌 또는 이의 부족, 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자와 결실을 포함한다. 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는(및 따라서 나쁜 DFS 또는 OS 결과의 높은 위험에 있는) 폐경후 환자에게, 본원에 개시된 임의의 치료를 실시할 수 있다. 일부 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가를 갖는(및 따라서 나쁜 DFS 또는 OS 결과의 높은 위험에 있는) 폐경후 환자는 표준 치료로서 호르몬 치료의 사용에 의해 처방된 5년을 넘어 이들의 호르몬 치료를 확장시킴으로써 치료될 수 있다. 특정 구현예에서, 호르몬 치료는 타목시펜 및/또는 아로마타아제 억제제이다. 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 환자에게는 본원에 개시된 치료를 실시하지 않아야 한다.
- [0160] 특정 구현예에서, 대상체는 전이를 갖거나 전이를 겪는 예후를 갖는다. 일부 구현예에서, 전이는 골 전이이다. 추가 구현예에서, 골 전이는 용골성 전이이다.
- [0161] 일부 구현예에서, 샘플은 대상체의 원발성 종양 조직 샘플이다. 제2 단계에서, 대상체의 종양 샘플에서 수득된 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득은 대조군 샘플에서의 상기 유전자의 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득과 비교된다. c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 결정은 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값과 관련되어야 한다. 분석될 종양의 유형에 따라, 대조군 샘플의 정확한 특성은 달라질 수 있다. 따라서, 일부 구현예에서, 기준 샘플은 전이되거나 재발되지 않은 유방암을 갖는 대상체의 종양 조직 샘플이거나, 또는 전이되거나 재발되지 않은 유방암을 갖는 대상체의 생검 샘플에서 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 중앙값에 상응하는 유방암을 갖는 대상체의 종양 조직 샘플이다.
- [0162] 일 구현예에서, 본 발명의 방법은 제2 단계에서 대상체로부터의 종양 샘플(비제한적으로 원발성 종양 생검, 순환성 종양 세포 및 순환성 종양 DNA를 포함)에서 수득된 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득을 대조군 샘플에서의 상기 유전자의 발현 수준과 비교하는 단계를 포함한다.
- [0163] 유방암을 갖는 대상체로부터의 종양 조직 샘플, 순환성 종양 세포 또는 순환성 종양 DNA에서의 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득이 측정되고 대조군 샘플과 비교하자마자, 상기 유전자의 발현 수준이 대조군 샘플에서의 그의 발현 수준과 비교하여 증가되어 있을 경우, 상기 대상체가 전이에 대한 양성 진단을 갖거나 전이를 발달시키는 더 큰 경향을 갖는다고 결론내릴 수 있다.
- [0164] c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 결정은 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값과 상관되어야 한다. 분석될 종양의 유형에 따라, 대조군 샘플의 정확한 특성은 달라질 수 있다. 따라서, 진단이 평가되는 경우, 기준 샘플은 전이되지 않은 유방암을 갖는 대상체로부터의 종양 조직 샘플이거나, 또는 전이되지 않은 유방암을 갖는 대상체의 생검 샘플에서 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자 발현 수준의 중앙값에 상응하는 유방암을 갖는 대상체로부터의 종양 조직 샘플이다.
- [0165] 상기 기준 샘플은 전형적으로 대상체 집단으로부터의 샘플의 동일한 양을 조합함으로써 수득된다. 일반적으로, 전형적인 기준 샘플은 문서에 의해 임상적으로 잘 입증되고 전이의 부재가 잘 규명된 대상체로부터 수득될 것이

다. 이러한 샘플에서, 바이오마커(c-MAF 유전자)의 정상 농도(기준 농도)는, 예를 들어 기준 집단에 대한 평균 농도를 제공함으로써 결정될 수 있다. 마커의 기준 농도를 결정할 때 다양한 고려사항이 고려된다. 이러한 고려사항 중에는 환자의 연령, 체중, 성별, 일반적인 신체 조건 등이 있다. 예를 들어, 전술한 고려사항에 따라, 예를 들어 다양한 연령 카테고리에 따라 분류된 적어도 약 2, 적어도 약 10, 적어도 약 20, 적어도 약 25, 적어도 약 50, 적어도 약 75, 적어도 약 100, 적어도 약 250, 적어도 약 500, 내지 1000명 초과 대상체의 그룹의 동일한 양이 기준 그룹으로 취해진다. 기준 수준이 유래되는 샘플 수집물은 바람직하게는 환자 연구 목적으로서 동일한 유형의 암(예컨대, 유방암)을 겪고 있는 대상체에 의해 형성될 것이다. 유사하게, 환자의 코호트 내의 기준값은 수신 작동 곡선(ROC)을 사용하고 민감성 및 특이성 쌍 모두에 대한 곡선화 면적을 측정하여 어떤 쌍이 최상의 값을 제공하고 상응하는 기준값이 무엇인지 결정함으로써 확립될 수 있다. ROC는 표준 통계 개념이다. 설명은 문헌[Stuart G. Baker "The Central Role of Receiver Operating Characteristic (ROC) curves in Evaluating Tests for the Early Detection of Cancer" *Journal of The National Cancer Institute* (2003) Vol 95, No. 7, 511-515]에서 발견될 수 있다.

[0166] 이 중앙값 또는 기준값이 확립되면, 환자로부터의 종양 조직에서 발견된 이 마커의 수준이 이 중앙값과 비교될 수 있고, 따라서, 예를 들어, "증가된" 발현 수준에 할당될 수 있다. 대상체 사이의 가변성(예를 들어, 연령, 인종 등을 언급하는 측면)으로 인해, c-MAF 발현의 절대적인 기준값을 확립하는 것은 매우 어렵다(사실상 불가능하지는 않지만). 따라서, 특정 구현예에서, c-MAF 발현의 "증가된" 또는 "감소된" 발현에 대한 기준값은 질환이 전술한 임의의 방법에 의해 잘 입증된 대상체로부터 단리된 하나 또는 수개의 샘플에서 분석을 수행하는 것을 포함하는 통상적인 수단에 의해 c-MAF 발현 수준의 백분위수를 계산함으로써 결정된다. 그리고 나서, c-MAF의 "감소된" 수준은 바람직하게는, 예를 들어, 정상 집단에서 60번째 백분위수 이하, 정상 집단에서 70번째 백분위수 이하, 정상 집단에서 80번째 백분위수 이하, 정상 집단에서 90번째 백분위수 이하, 및 정상 집단에서 95번째 백분위수 이하의 발현 수준을 포함하는, 정상 집단에서 c-MAF 발현 수준이 50번째 백분위수 미만인 샘플에 할당될 수 있다. 그리고 나서, "증가된" c-MAF 유전자 발현 수준은 바람직하게는, 예를 들어, 정상 집단에서 60번째 백분위수 이상, 정상 집단에서 70번째 백분위수 이상, 정상 집단에서 80번째 백분위수 이상, 정상 집단에서 90번째 백분위수 이상, 및 정상 집단에서 95번째 백분위수 이상의 발현 수준을 포함하는, 정상 집단에서 c-MAF 유전자 발현 수준이 50번째 백분위수 이상인 샘플에 할당될 수 있다.

[0167] 특정 구현예에서, c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득의 정도는 상기 유전자를 함유하는 염색체 영역의 증폭 또는 획득을 결정함으로써 결정될 수 있다. 바람직하게는, 증폭 또는 획득이 c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득의 존재를 나타내는 염색체 영역은 c-MAF 유전자를 포함하는 유전자좌 16q22-q24이다. 유전자좌 16q22-q24는 염색체 16에, 상기 염색체의 긴 팔에 그리고 밴드 22 및 밴드 24 사이의 범위에 위치한다. 이 영역은 NCBI 데이터베이스에서 콘탁(contig) NT\_010498.15 및 NT\_010542.15와 상응한다. 일 구현예에서, c-MAF 유전자의 증폭 또는 획득의 정도는 상기 유전자에 특이적인 프로브를 사용하여 결정될 수 있다.

[0168] 카피 수가 측정될 때, 대조군 샘플은 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 종양 샘플 또는 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 생검 샘플에서 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자 카피 수의 중앙값에 상응하는 유방암을 갖는 대상체의 종양 샘플이다. 상기 기준 샘플은 전형적으로 대상체 집단으로부터의 샘플의 동일한 양을 조합함으로써 취득된다. c-MAF 유전자 카피 수가 대조군 샘플에서의 상기 유전자의 카피 수와 비교하여 증가되어 있을 경우, 대상체는 전이에 대해 양성 진단을 갖거나 전이를 발달시키는 더 큰 경향을 갖는다. 구현예에서, 카피 수는 세포당 평균 카피 수로서 결정된다.

[0169] 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 16q23 유전자좌에 있는 영역에서 일어난다. 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp(동원체부터 텔로미어까지)의 염색체 영역 중 임의의 부분에서 일어난다. 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 DNA 반복 요소를 제외한 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp의 게놈 영역에서 일어난다. 일부 구현예에서, 증폭 또는 획득은 상기 영역에 특이적인 프로브를 사용하여 측정된다.

[0170] 일 구현예에서, c-MAF 유전자는 c-MAF 유전자 카피 수가 기준 샘플 또는 대조군 샘플이 갖는 카피 수보다 높을 때 기준 유전자 카피 수와 비교하여 증폭된다. 일 예에서, c-MAF 유전자는 c-MAF 유전자의 게놈 카피 수 또는 평균 게놈 카피 수가 대조군 샘플에 대해 시험 샘플에서 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 50배 증가하면, "증폭된다"고 한다. 또 다른 예에서, c-MAF 유전자는 세포당 c-MAF 유전자의 게놈 카피 수 또는 평균 게놈 카피 수가 적어도 약 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 등이

면, "증폭된다"고 한다.

- [0171] 또 다른 구현예에서, 기준 유전자 카피 수는 골 전이를 겪지 않은 대상체로부터의 유방암의 샘플에서의 유전자 카피 수이다.
- [0172] 또 다른 구현예에서, 증폭 또는 획득은 원위치 혼성화 또는 PCR에 의해 결정된다.
- [0173] 또 다른 구현예에서 그리고 본 발명에 기재된 바와 같이, 유방암에서 증폭된 c-MAF 유전자를 포함하는 chr16q22-24가 cMAF 유전자를 포함하는 chr16q22-24의 전이 또는 재발의 존재와 관련된다는 것을 고려할 때, 증폭 또는 획득은 상기 암을 겪는 대상체에게 가장 적합한 요법의 측면에서 결정할 수 있게 해준다.
- [0174] c-MAF 유전자의 증폭의 결정은 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 종양 조직 샘플에서 측정된 c-MAF 유전자의 증폭 수준에 상응하는 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값 또는 전이를 겪지 않은 유방암을 갖는 대상체의 생검 샘플에서 종양 조직 수집물에서 측정된 c-MAF 유전자의 증폭의 중앙값에 상응하는 대조군 샘플 또는 기준 샘플의 값과 상관될 필요가 있다. 상기 기준 샘플은 전형적으로 대상체 집단으로부터의 샘플의 동일한 양을 조합함으로써 획득된다.
- [0175] 일반적으로, 전형적인 기준 샘플은 임상적으로 잘 입증되고 전이의 부재가 잘 규명된 대상체로부터 획득될 것이다. 기준 수준이 유래된 샘플 수집물은 바람직하게는 환자 연구 목적으로서 동일한 유형의 암을 겪고 있는 대상체로 구성될 것이다. 이 중앙값이 확립되면, 환자의 종양 조직에서의 c-MAF의 증폭 수준이 이 중앙값과 비교될 수 있고, 따라서, 증폭이 존재하면, 대상체는 전이의 양성 진단을 갖거나 전이를 발달시키는 더 큰 경향을 갖는다.
- [0176] 또 다른 양태에서, 본 발명은 c-MAF 유전자가 상기 대상체의 샘플에서 전좌되는지 여부를 결정하는 것에 관한 것이다.
- [0177] 일부 구현예에서, 전좌된 유전자는 16q23 유전자좌에 있는 영역으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 전좌된 유전자는 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp(동원체부터 텔로미어까지)의 염색체 영역의 임의의 부분으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 전좌된 유전자는 DNA 반복 요소를 제외한 염색체 16 - 79,392,959 bp 내지 79,663,806 bp의 게놈 영역으로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 전좌는 그 영역에 특이적인 프로브를 사용하여 측정된다.
- [0178] 특정 구현예에서, c-MAF 유전자의 전좌는 상기 유전자를 함유하는 염색체 영역의 전좌를 결정함으로써 결정될 수 있다. 일 구현예에서, 전좌는 t(14,16) 전좌이다. 또 다른 구현예에서, 전좌된 염색체 영역은 유전자좌 16q22-q24로부터 유래된다. 유전자좌 16q22-q24는 염색체 16에, 상기 염색체의 긴 팔에 및 밴드 22 및 밴드 24 사이의 범위에 위치한다. 이 영역은 NCBI 데이터베이스에서 콘탁(contig) NT\_010498.15 및 NT\_010542.15에 상응한다. 일 구현예에서, c-MAF 유전자는 유전자좌 14q32에서 염색체 14로 전좌되어, 전좌 t(14,16)(q32,q23)을 야기한다. 이 전좌는 MAF 유전자를 IgH 유전자좌에서 강한 인핸서 옆에 위치시키며, 이는 일부 경우에 MAF의 과발현을 야기한다(Eychene, A., Rocques, N., and Puoponnot, C., A new *MAF*ia in cancer. 2008. *Nature Reviews: Cancer*. 8: 683-693.)
- [0179] 일 구현예에서, c-MAF 유전자의 전좌는 상기 전좌에 특이적인 프로브를 사용하여 결정될 수 있다.
- [0180] 본 발명의 일 구현예는 제1 단계에서 c-MAF 유전자가 대상체의 샘플에서 전좌되는지 여부가 결정되는 방법을 포함한다. 일 구현예에서, 샘플은 종양 조직 샘플이다.
- [0181] 특정 구현예에서, 유방암을 갖는 대상체에서 골 전이를 발달시키는 경향의 예후를 위한 본 발명의 방법은 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF 유전자 카피 수를 결정하는 단계로서, c-MAF 유전자는 전좌되는 단계 및 상기 카피 수를 대조군 또는 기준 샘플의 카피 수와 비교하는 단계를 포함하며, c-MAF 카피 수가 대조군 샘플의 c-MAF 카피 수와 비교하여 더 크면, 대상체는 골 전이를 발달시키는 더 큰 경향을 갖는다.
- [0182] c-MAF 유전자 또는 염색체 영역 16q22-q24가 전좌되는지 여부를 결정하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있으며, c-MAF의 증폭에 대해 이전에 기재된 것을 포함한다. 상기 방법은, 비제한적으로, 원위치 혼성화(ISH)(예컨대, 형광 원위치 혼성화(FISH), 발색 원위치 혼성화(CISH) 또는 은 원위치 혼성화(SISH)), 게놈 비교 혼성화 또는 중합효소 연쇄 반응(예컨대, 실시간 정량적 PCR)를 포함한다. 임의의 ISH 방법의 경우, 증폭, 획득, 카피 수, 또는 전좌는 형광점, 착색점 또는 염색체 또는 핵에서 은을 갖는 점을 계수함으로써 결정될 수 있다. 다른 구현예에서, 카피 수 변경 및 전좌의 검출은 전체 게놈 시퀀싱, 엑솜 시퀀싱의 사용을 통해 또는 임의의 PCR 유래 기술의 사용에 의해 검출될 수 있다. 예를 들어, 전좌를 검출하기 위해 게놈 DNA의 샘플에서 PCR이 수행될

수 있다. 일 구현예에서, 정량적 PCR이 사용된다. 일 구현예에서, PCR은 c-MAF 유전자에 특이적인 프라이머 및 IGH 프로모터 영역에 특이적인 프라이머를 이용하여 수행되며; 산물이 생산되면, 전좌가 발생하였다.

- [0183] 일부 구현예에서, c-MAF 유전자의 증폭, 획득 및 카피 수는 c-MAF 유전자의 전좌가 결정된 후에 결정된다. 일부 구현예에서, 프로브는 세포가 c-MAF 유전자에 대해 다배수체인지 여부를 결정하기 위해 사용된다. 일부 구현예에서, 다배수성의 결정은 관심있는 유전자로부터 2개를 초과하는 신호가 존재하는지 여부를 결정함으로써 이루어진다. 일부 구현예에서, 다배수성은 관심있는 유전자에 특이적인 프로브로부터 신호를 측정하고 이를 동원체 프로브 또는 다른 프로브와 비교함으로써 결정된다.
- [0184] c-MAF 발현, 카피 수, 증폭, 획득 및 전좌를 측정하는 방법
- [0185] 일부 구현예에서, c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 또는 전좌는 당업계에 공지되거나 본원에 기재된 임의의 방법을 사용하여 측정된다.
- [0186] c-MAF 단백질 발현 수준은 대상체로부터의 샘플에서 상기 단백질을 검출하고 정량화하는 것을 허용하는 임의의 종래의 방법에 의해 정량화될 수 있다. 비제한적인 예로서, 상기 단백질 수준은, 예를 들어, c-MAF 결합능을 갖는 항체(또는 항원성 결합인자를 함유하는 이의 단편)의 사용 및 형성된 복합체의 후속 정량화에 의해 정량화될 수 있다. 이들 분석에서 사용된 항체는 표지되거나 표지되지 않을 수 있다. 사용될 수 있는 마커의 예시적인 예는 방사성 동위원소, 효소, 형광단, 화학발광 시약, 효소 기질 또는 보조인자, 효소 억제제, 입자, 염료 등을 포함한다. 표지되지 않은 항체(원발성 항체) 및 표지된 항체(이차 항체)를 사용하는 본 발명에 사용될 수 있는 매우 다양한 공지된 분석이 존재하고; 이들 기술은 웨스턴 블롯 또는 웨스턴 이동, ELISA(효소 결합 면역흡착 분석), RIA(방사면역분석), 경쟁 EIA(경쟁 효소 면역분석), DAS-ELISA(이중 항체 샌드위치 ELISA), 면역조직화학 및 면역조직화학 기술, 특이적 항체를 포함하는 단백질 마이크로어레이 또는 바이오칩의 사용에 기초한 기술 또는 딥스틱(dipstick)과 같은 포맷의 콜로이드 침전에 기초한 분석을 포함한다. 상기 c-MAF 단백질을 검출하고 정량화하는 다른 방법은 친화성 크로마토그래피 기술, 리간드 결합 분석 등을 포함한다. 면역학적 방법이 사용되는 경우, 높은 친화성으로 c-MAF 단백질에 결합하는 것으로 공지된 임의의 항체 또는 시약이 그 양을 검출하는데 사용될 수 있다. 이것은, 비제한적으로, 항체, 예를 들어, 다중클론 혈청, 하이브리도마의 상층액 또는 단클론 항체, 항체 단편, Fv, Fab, Fab' 및 F(ab')<sub>2</sub>, scFv, 인간화된 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 항체, 나노바디, 알파바디, 스테이플된(stapled) 펩타이드, 및 사이클로펩타이드의 사용을 포함할 것이다. 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 시판 중인 상업적인 항-c-MAF 단백질 항체, 예를 들어 항체 ab427, ab55502, ab55502, ab72584, ab76817, ab77071(Abcam plc, 330 Science Park, Cambridge CB4 0FL, United Kingdom), AbD Serotec의 075444 단클론 항체(마우스 항-인간 MAF 아지드 무함유 단클론 항체, 비접합됨, 클론 6b8) 등이 있다. 항-c-MAF 항체를 제공하는 많은 상업적 회사, 예컨대 애브노바사(Abnova Corporation), 베틀 래버러토리스(Bethyl Laboratories), 바이오월드 테크놀로지(Bioworld Technology), 진텍스(GeneTex) 등이 있다.
- [0187] 일부 구현예에서, c-MAF 단백질 수준은 항원 결합 구성원 또는 이의 단편에 의해 검출된다. 일부 구현예에서, 결합 구성원은 인간 c-MAF에 결합하는 항원 결합 분자 또는 이의 단편이며, 항체 결합 분자 또는 이의 단편은 서열 번호 21의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 약 100% 동일한 중쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 22의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 약 100% 동일한 중쇄 CDR2, 및/또는 서열 번호 23의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 약 100% 동일한 중쇄 CDR3을 포함하고/하거나; 서열 번호 18의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 약 100% 동일한 경쇄 CDR1, 및/또는 서열 번호 19의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 약 100% 동일한 경쇄 CDR2 및/또는 서열 번호 20의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 99% 또는 약 100% 동일한 경쇄 CDR3을 포함한다.
- [0188] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 단편은 서열 번호 15의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99%, 또는 적어도 약 100% 동일한 서열을 갖는 VH 도메인을 포함한다.
- [0189] 일부 구현예에서, 항원 결합 분자 또는 이의 단편은 서열 번호 17의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99%, 또는 적어도 약 100% 동일한 서열을 갖는 VL 도메인을 포함한다.
- [0190] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 단편은 서열 번호 14의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도

도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99%, 또는 적어도 약 100% 동일한 중쇄 서열을 포함한다.

- [0191] 일부 구현예에서, 항체 또는 이의 단편은 서열 번호 16의 아미노산 서열에 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99%, 또는 적어도 약 100% 동일한 경쇄 서열을 포함한다.
- [0192] 일부 구현예에서, 항원 결합 분자 또는 이의 단편은 항체이다. 일부 구현예에서, 항체는 토끼 항체, 마우스 항체, 키메라 항체 또는 인간화된 항체이다. 일 양태에서, 본 발명은 서열 번호 24에 의해 코딩된 에피토프에 특이적으로 결합하는 결합 구성원, 기능적 단편, 항체 또는 이의 변이체에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 항체는 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있는 국제 출원 제PCT/IB2015/059562호에 기재된 임의의 항체이다.
- [0193] 특정 구현예에서, c-MAF 단백질 수준은 웨스턴 블롯, 면역조직화학법, ELISA 또는 단백질 어레이에 의해 정량화된다.
- [0194] 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 유전자 발현 수준은 상기 유전자의 메신저 RNA 수준 또는 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질의 메신저 RNA 수준을 측정함으로써 정량화될 수 있다. 일부 구현예에서, 유전자 발현 수준은 당업계에 공지된 임의의 수단에 의해 정량화될 수 있다.
- [0195] 이러한 목적을 위해, 생물학적 샘플은 조직 또는 세포 구조를 물리적으로 또는 기계적으로 파괴하도록 처리되어, 세포내 성분을 핵산을 제조하기 위한 수용액 또는 유기 용액 내로 방출할 수 있다. 핵산은 당업자에 의해 공지된 상업적으로 이용가능한 방법에 의해 추출된다(Sambroock, J., *et al.*, "Molecular cloning: a Laboratory Manual", 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y., Vol. 1-3).
- [0196] 따라서, c-MAF 유전자 발현 수준은 상기 유전자(메신저 RNA 또는 mRNA)의 전사로부터 또는, 대안적으로, 상기 유전자의 상보적 DNA(cDNA)로부터 생성된 RNA로부터 정량화될 수 있다. 따라서, 본 발명의 특정 구현예에서, c-MAF 유전자 발현 수준의 정량화는 c-MAF 유전자의 메신저 RNA 또는 상기 mRNA의 단편, c-MAF 유전자의 상보적 DNA 또는 상기 cDNA의 단편 또는 이의 혼합물의 정량화를 포함한다.
- [0197] 실질적으로 임의의 종래의 방법이 c-MAF 유전자에 의해 코딩된 mRNA 수준 또는 이의 상응하는 cDNA를 검출하고 정량화하는 본 발명의 범위 내에서 사용될 수 있다. 비제한적인 예시로서, 상기 유전자에 의해 코딩된 mRNA 수준은 종래의 방법, 예를 들어, mRNA 증폭 및 상기 mRNA 증폭 산물의 정량화를 포함하는 방법, 예컨대 전기영동 및 염색, 또는 대안적으로, 서던 블롯 및 적합한 프로브를 사용하여, 노던 블롯 및 관심 있는 유전자(c-MAF) 또는 이의 상응하는 DNA의 mRNA의 특이적 프로브를 사용하여, S1 뉴클레아제를 이용한 맵핑, RT-PCR, 혼성화, 마이크로어레이, 등., 바람직하게는 적합한 마커를 사용한 실시간 정량적 PCR에 의해, 정량화될 수 있다. 마찬가지로, c-MAF 유전자에 의해 코딩된 mRNA에 상응하는 cDNA 수준은 또한 종래의 기술을 사용하여 정량화될 수 있고; 이 경우, 본 발명의 방법은 상응하는 mRNA의 역전사(RT)에 의해 상응하는 cDNA를 합성한 후 상기 cDNA 증폭 산물을 증폭 및 정량화하는 것을 포함한다. 발현 수준을 정량화하기 위한 종래의 방법은, 예를 들어, 문헌 [Sambrook *et al.*, 2001.(상기 인용됨)]에서 발견될 수 있다. 이들 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 당업자는 각각의 기술에 필요한 정규화에 익숙할 것이다. 예를 들어, 멀티플렉스 PCR을 사용하여 생성된 발현 측정은 측정되는 유전자의 발현을 모든 샘플에 대해 발현이 일정해야 하는 이른바 "하우스키핑" 유전자와 비교함으로써 정규화되어야 하며, 따라서 그 발현이 암으로 조절되는 것으로 알려진 다른 제어 유전자와 비교되는 기준 발현을 제공한다.
- [0198] 특정 구현예에서, c-MAF 유전자 발현 수준은 정량적 중합효소 연쇄 반응(PCR) 또는 DNA, RNA 어레이, 또는 뉴클레오타이드 혼성화 기술에 의해 정량화된다.
- [0199] 또한, c-MAF 유전자 발현 수준은 또한 상기 유전자에 의해 코딩된 단백질, 즉, c-MAF 단백질(c-MAF)[NCBI, 등록 번호 075444], 또는 c-MAF 단백질의 임의의 기능적으로 동등한 변이체의 발현 수준을 정량화함으로써 정량화될 수 있다. 2개의 c-MAF 단백질 아형인 403개의 아미노산으로 구성된 α 아형(NCBI, NP\_005351.2)(서열 번호 4) 및 373개의 아미노산으로 구성된 β 아형(NP\_001026974.1)(서열 번호 5)이 있다. c-MAF 유전자 발현 수준은 임의의 c-MAF 단백질 아형의 발현 수준을 정량화함으로써 정량화될 수 있다. 따라서, 특정 구현예에서, c-MAF 유전자에 의해 코딩된 단백질의 수준의 정량화는 c-MAF 단백질의 정량화를 포함한다.
- [0200] c-MAF 유전자 또는 염색체 영역 16q22-q24가 증폭되는지 여부를 결정하기 위한 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 상기 방법은, 비제한적으로, 원위치 혼성화(ISH)(예컨대, 형광 원위치 혼성화(FISH), 발색 원위치 혼성화(CISH) 또는 은 원위치 혼성화(SISH)), 계층 비교 혼성화 또는 중합효소 연쇄 반응(예컨대, 실시간 정량적 PC

R)을 포함한다. 임의의 ISH 방법의 경우, 증폭, 획득 또는 카피 수는 형광점, 착색점 또는 염색체 또는 핵에 은을 갖는 점을 계수함으로써 결정될 수 있다.

[0201] 형광 원위치 혼성화(FISH)는 염색체에서 특정 DNA 서열의 존재 또는 부재를 검출하고 위치를 확인하는데 사용되는 세포유전학적 기법이다. FISH는 고도의 서열 유사성을 나타내는 염색체의 일부분에만 결합하는 형광 프로브를 사용한다. 전형적인 FISH 방법에서, DNA 프로브는 닉(nick) 변역 또는 PCR과 같은 효소 반응을 사용하여 DNA 내로 도입되는 전형적인 플루오르-dUTP, 디옥시제닌-dUTP, 바이오틴-dUTP 또는 합텐-dUTP의 형태의 형광 분자 또는 합텐으로 표지된다. 유전 물질(염색체)을 함유하는 샘플을 유리 슬라이드 상에 놓고 포름아미드 처리에 의해 변형시킨다. 그 다음, 표지된 프로브를 당업자에 의해 결정될 적합한 조건하에 유전 물질을 함유하는 샘플과 혼성화시킨다. 혼성화 후, 샘플은 직접적으로(볼소로 표지된 프로브의 경우) 또는 간접적으로(합텐을 검출하기 위해 형광 표지된 항체를 사용하여) 가시화된다.

[0202] CISH의 경우, 프로브는 디옥시제닌, 바이오틴 또는 플루오레세인으로 표지되고, 적합한 조건에서 유전 물질을 함유하는 샘플과 혼성화된다.

[0203] c-MAF 유전자 또는 염색체 영역 16q22-q24가 전좌되는지 여부를 결정하기 위한 방법은 당업계에 널리 공지되어 있으며, c-MAF의 증폭에 대해 이전에 기술된 것을 포함한다. 상기 방법은, 비제한적으로, 원위치 혼성화(ISH) (예컨대, 형광 원위치 혼성화(FISH), 발색 원위치 혼성화(CISH) 또는 은 원위치 혼성화(SISH)), 계놈 비교 혼성화 또는 중합효소 연쇄 반응(예컨대, 실시간 정량적 PCR)을 포함한다. 임의의 ISH 방법의 경우, 증폭, 획득, 카피 수, 또는 전좌는 형광점, 착색점 또는 염색체 또는 핵에 은을 갖는 점을 계수함으로써 결정될 수 있다. 다른 구현예에서, 카피 수 변경 및 전좌의 검출은 전체 계놈 시퀀싱, 엑솜 시퀀싱의 사용을 통해 또는 임의의 PCR 유래 기술의 사용에 의해 검출될 수 있다. 예를 들어, 전좌를 검출하기 위해 계놈 DNA의 샘플에서 PCR이 수행될 수 있다. 일 구현예에서, 정량적 PCR이 사용된다. 일 구현예에서, PCR은 c-MAF 유전자에 특이적인 프라이머 및 IGH 프로모터 영역에 특이적인 프라이머를 사용하여 수행되고; 산물이 생성되면, 전좌가 발생하였다.

[0204] DNA에 결합할 수 있는 임의의 표지 또는 표지 분자는 본 발명의 방법에서 사용된 프로브를 표지화하여 핵산 분자를 검출하는데 사용될 수 있다. 표지화를 위한 표지의 예는, 비제한적으로, 방사성 동위원소, 효소 기질, 보조인자, 리간드, 화학발광제, 형광단, 합텐, 효소 및 이의 조합을 포함한다. 표지화 방법 및 상이한 목적을 위해 적합한 표지를 선택하기 위한 지침은, 예를 들어, Sambrook et al.(Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York, 1989) 및 Ausubel et al.(In Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley 및 Sons, New York, 1998)에서 발견될 수 있다.

[0205] 일부 구현예에서, 본 발명의 프로브는 이중 색상 프로브이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로브는 이중 융합 프로브이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 프로브는 이중 색상, 이중 융합 프로브이다. 일부 구현예에서, 2개의 별도의 프로브가 사용된다.

[0206] 또 다른 구현예에서, 하기 프로브 중 하나가 c-MAF 유전자(c-MAF 유전자의 변역 포함)를 측정하는데 사용된다: 14q32 및 16q23에 대한 프로브를 포함하는 Vysis LSI IGH/MAF 이중 색상 이중 융합 프로브 (<http://www.abbottmolecular.com/us/products/analyte-specific-reagent/fish/vysis-lsi-igh-maf-dual-color-dual-fusion-probe.html>; last accessed 11/5/2012); Kreatech diagnostics MAF/IGH gt(14;16) 융합 프로브([https://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img\\_uploads/kreatech/ifu/PI-KI-10610\\_D2.1.pdf](https://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img_uploads/kreatech/ifu/PI-KI-10610_D2.1.pdf); last accessed 05/18/2017), Abnova MAF FISH 프로브 ([http://www.abnova.com/products/products\\_detail.asp?Catalog\\_id=FA0375](http://www.abnova.com/products/products_detail.asp?Catalog_id=FA0375); last accessed 11/5/2012), Cancer Genetics Italia IGH/MAF 2 색상, 2 융합 전좌 프로브(<http://www.cancergeneticsitalia.com/dna-fish-probe/ighmaf/>; last accessed 11/5/2012), Creative Bioarray IGH/MAF-t(14;16)(q32;q23) FISH 프로브 (<http://www.creative-bioarray.com/products.asp?cid=35&page=10>; last accessed 11/5/2012), FISH에 의한 Arup Laboratories 다중 골수종 패널(<http://www.aruplab.com/files/technical-bulletins/Multiple%20Myeloma%20%28MM%29%20by%20FISH.pdf>; last accessed 11/5/2012), 16q23 또는 14q32에 특이적인 Agilent 프로브 (<http://www.genomics.agilent.com/ProductSearch.aspx?chr=16&start=79483700&end=79754340>; last accessed 11/5/2012; <http://www.genomics.agilent.com/ProductSearch.aspx?Pageid=3000&ProductID=637>; last accessed 11/5/2012), 16q23 또는 14q32에 특이적인 Dako 프로브 ([http://www.dako.com/us/ar42/psg42806000/baseproducts\\_surefish.htm?setCountry=true&purl=ar42/psg42806000/baseproducts\\_surefish.htm?undefined&submit=Accept%20country](http://www.dako.com/us/ar42/psg42806000/baseproducts_surefish.htm?setCountry=true&purl=ar42/psg42806000/baseproducts_surefish.htm?undefined&submit=Accept%20country); last accessed 11/5/2012), Cytocell

IGH/MAF 전좌, 이중 융합 프로브  
 ([http://www.zentech.be/uploads/docs/products\\_info/prenatalogy/cytoce11%202012-2013%20catalogue%5B3%5D.pdf](http://www.zentech.be/uploads/docs/products_info/prenatalogy/cytoce11%202012-2013%20catalogue%5B3%5D.pdf); last accessed 11/5/2012), Metasystems XL IGH/MAF 전좌-이중 융합 프로브  
 ([http://www.metasystems-international.com/index.php?option=com\\_joobd&view=article&joobase=5&id=12%3Ad-5029-100-og&Itemid=272](http://www.metasystems-international.com/index.php?option=com_joobd&view=article&joobase=5&id=12%3Ad-5029-100-og&Itemid=272); last accessed 11/5/2012), 제이스(Zeiss) FISH 프로브 XL, 100 μl, IGH/MAFB(<https://www.micro-shop.zeiss.com/?s=440675675dedc6&l=en&p=uk&f=r&i=5000&o=&h=25&n=1&sd=000000-0528-231-uk>; last accessed 11/5/2012) 또는 제니셀(Genycell Biotech) IGH/MAF 이중 융합 프로브  
 ([http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCQQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.genycell.es%2Fimages%2Fproductos%2Fbrochures%2F1phmie6\\_\\_86.ppt&ei=MhGYUOi3GKWH0QG1t4DoDw&usg=AFQjCNEqQMbT8vQGjJbi9riEf31VgoFTFQ&sig2=V5IS8juEMVHB18Mv2Xx\\_Ww](http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCQQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.genycell.es%2Fimages%2Fproductos%2Fbrochures%2F1phmie6__86.ppt&ei=MhGYUOi3GKWH0QG1t4DoDw&usg=AFQjCNEqQMbT8vQGjJbi9riEf31VgoFTFQ&sig2=V5IS8juEMVHB18Mv2Xx_Ww); last accessed 11/5/2012).

[0207] 일부 구현예에서, 프로브 상의 표지는 형광단이다. 일부 구현예에서, 프로브 상의 형광단은 주황색이다. 일부 구현예에서, 프로브 상의 형광단은 녹색이다. 일부 구현예에서, 프로브 상의 형광단은 적색이다. 일부 경우, 프로브 상의 형광단은 황색이다. 일부 구현예에서, 하나의 프로브는 적색 형광단으로 표지되고, 하나는 녹색 형광단으로 표지된다. 일부 구현예에서, 하나의 프로브는 녹색 형광단으로 표지되고, 하나는 주황색 형광단으로 표지된다. 일부 경우, 프로브 상의 형광단은 황색이다. 예를 들어, MAF 특이적 프로브가 적색 형광단으로 표지되고, IGH 특이적 프로브가 녹색 형광단으로 표지되는 경우, 백색이 관찰되면, 이것은 신호가 증첩되고 전좌가 발생하였다는 것을 나타낸다.

[0208] 일부 구현예에서, 형광단은 스펙트럼오렌지(SpectrumOrange)이다. 일부 구현예에서, 형광단은 스펙트럼그린(SpectrumGreen)이다. 일부 구현예에서, 형광단은 DAPI이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트 405(PlatinumBright405)이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트415이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트495이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트505이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트550이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트547이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트570이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트590이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트647이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트495/550이다. 일부 구현예에서, 형광단은 플라티늄브라이트415/495/550이다. 일부 구현예에서, 형광단은 DAPI/플라티늄브라이트495/550이다. 일부 구현예에서, 형광단은 FITC이다. 일부 구현예에서, 형광단은 텍사스 레드(Texas Red)이다. 일부 구현예에서, 형광단은 DEAC이다. 일부 구현예에서, 형광단은 R6G이다. 일부 구현예에서, 형광단은 Cy5이다. 일부 구현예에서, 형광단은 FITC, 텍사스 레드 및 DAPI이다. 일부 구현예에서, DAPI 반대염색이 전좌, 증폭, 획득 또는 카피 수 변형을 가시화하는데 사용된다.

[0209] 유방암을 치료하거나 예방하기 위한 방법에서 사용하기 위한 제제 및 요법

[0210] 일부 구현예에서, 본원의 발명의 방법은 골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제로 대상체를 치료하는 단계를 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제"는 골아세포 증식을 자극하거나 파골세포 증식을 억제함으로써 골 분해를 치료하거나 정지시킬 수 있는 임의의 분자를 지칭하며, 이는 골 분해를 방지 또는 예방하기 위한 제제를 포함한다. 구현예에서, 골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제는 골 변형제 및/또는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제이다. 골 분해를 방지하고/하거나 예방하는데 사용되는 제제의 예시적인 예는 비제한적으로 하기를 포함한다:

[0211] - 부갑상선 호르몬(PTH) 및 부갑상선 유사 호르몬(PTHrH) 억제제(차단 항체 포함) 또는 이의 재조합 형태(PTH의 아미노산 7-34에 상응하는 테리파라타이드(teriparatide)). 이 호르몬은 파골세포를 자극하고 그의 활성을 증가 시킴으로써 작용한다.

[0212] - 스트로몬 라벨레이트: 대안적인 경우 치료이며, 골아세포 증식을 자극하고 파골세포 증식을 억제하기 때문에 "이중 작용 골 제제"(DABA)로 불리는 약물 군의 부분을 형성한다.

[0213] - "에스트로겐 수용체 조절제"(SERM)는 기전과 관계없이 에스트로겐이 수용체에 결합하는 것을 방해하거나 억제하는 화합물을 지칭한다. 에스트로겐 수용체 조절제의 예는, 특히, 에스트로겐 프로게스타겐, 에스트라디올, 드롤록시펜, 탈록시펜, 라소폭시펜, TSE-424, 타목시펜, 이독시펜, L Y353381, LY117081, 토레미펜, 플루베스트란트, 4-[7-(2,2-디메틸-1-옥소프로폭시-4-메틸-2-[4-[2-(1-피페리디닐)에톡시]페닐]-2H-1-벤조피란-3-일]-페닐-2,2-디메틸프로파노에이트 4,4' 디하이드록시벤조페논-2,4-디니트로페닐-하이드라존 및 SH646을 포함한다.

- [0214] - 칼시토닌: 칼시토닌 수용체를 통해 파골세포 활성을 직접적으로 억제한다. 칼시토닌 수용체는 파골세포의 표면 상에서 확인되었다.
- [0215] - 비스포스포네이트: 골다공증과 같이 골 흡수 및 재흡수를 갖는 질환 및 골 전이를 갖는 암의 예방 및 치료에 사용되는 의약품의 군이며, 후자는 유방암과 관련된 고칼슘혈증을 갖거나 갖지 않는다. 본 발명의 제5 방법에 의해 설계된 요법에서 사용될 수 있는 비스포스포네이트의 예는 비제한적으로, 질소성 비스포스포네이트(예컨대, 파미드로네이트, 네리드로네이트, 올파드로네이트, 알렌드로네이트, 이반드로네이트, 리세드로네이트, 인카드로네이트, 졸레드로네이트 또는 졸레드론산 등) 및 비질소성 비스포스포네이트(예컨대, 에티드로네이트, 클로드로네이트, 틸루드로네이트 등)을 포함한다.
- [0216] - "카텝신 K 억제제"는 카텝신 K 시스템인 프로테아제 활성을 방해하는 화합물을 지칭한다. 카텝신 K 억제제의 비제한적인 예는 4-아미노-피리미딘-2-카보니트릴 유도체(노바티스 파마 게엠베하(Novartis Pharma GMBH)의 이름하에 국제 특허 출원 WO 제03/020278호에 기재됨), 공개 WO 제03/020721호(노바티스 파마 게엠베하) 및 공개 WO 제04/000843호(아스트라제네카 아베)에 기재된 피롤로-피리미딘 뿐만 아니라 악시스 파마슈티칼스(Axys Pharmaceuticals)의 공개 PCT WO 제00/55126호, 머크 프로스트 캐나다 앤드 컴퍼니(Merck Frosst Canada & Co.) 및 악시스 파마슈티칼스의 WO 제01/49288호에 기재된 억제제를 포함한다.
- [0217] - 본원에 사용된 바와 같이 "DKK-1(Dickkopf-1) 억제제"는 DKK-1 활성을 감소시킬 수 있는 임의의 화합물을 지칭한다. DKK-1은 주로 성인 골에서 발현되고 용골성 병변을 갖는 골수종 환자에서 상향조절된 가용성 Wnt 경로 길항제이다. DKK-1을 표적화하는 물질은 다발성 골수종 환자에서 용골성 골 질환을 예방하는데 역할을 할 수 있다. 노바티스의 BHQ880은 혁신 신약인 완전 인간, 항-DKK-1 중화 항체이다. 임상전 연구는 BHQ880이 골 형성을 촉진하여 종양 유도성 용골성 질환을 억제한다는 가설을 뒷받침한다(Ettenberg S. et al., American Association for Cancer Research Annual Meeting. April 12-16, 2008; San Diego, Calif. Abstract).
- [0218] - 본원에 사용된 바와 같이 "이중 MET 및 VEGFR2 억제제"는 MET 유발 종양 이탈을 차단하도록 설계된 MET 및 VEGF 경로의 강력한 이중 억제제인 임의의 화합물을 지칭한다. MET는 종양 세포 및 내피 세포에서만뿐만 아니라, 골아세포(골 형성 세포) 및 파골세포(골 제거 세포)에서 발현된다. HGF는 이들 모든 세포 유형 상의 MET에 결합하여, MET 경로에게 다수의 자가분비 및 측분비 루프에서의 중요한 역할을 제공한다. 종양 세포에서 MET의 활성화는 전이 골 병변의 확립에 중요한 것으로 보인다. 동시에, 골아세포 및 파골세포에서 MET 경로의 활성화는 비정상적인 골 성장(즉, 발생성 병변) 또는 파괴(즉, 용해성 병변)를 포함하는 골 전이의 병리학적 특징을 유발할 수 있다. 따라서, MET 경로를 표적화하는 것은 전이성 골 병변의 확립 및 진행을 예방하는데 있어서 실행가능한 전략일 수 있다. 이전에 XL184(CAS 849217-68-1)로 공지된 카보잔티닙(Exelixis, Inc)은 MET 유도 종양 이탈을 차단하도록 설계된 MET 및 VEGF 경로의 강력한 이중 억제제이다. 다수의 임상전 연구에서, 카보잔티닙은 종양 세포를 사멸시키고, 전이를 감소시키고, 혈관신생(종양 성장을 지원하는데 필요한 새로운 혈관의 형성)을 억제하는 것으로 나타났다. 또 다른 적합한 이중 억제제는 E7050(N-[2-플루오로-4-({2-[4-(4-메틸피페라진-1-일)피페리딘-1-일]카보닐아미노피리딘-4-일}옥시)페닐]-N'-(4-플루오로페닐)사이클로프로판-1,1-디카복스아미드(2R,3R)-타르트레이트)(CAS 928037-13-2) 또는 포레티닙(GSK1363089, XL880, CAS 849217-64-7로 공지됨)이다.
- [0219] - 본원에 사용된 바와 같이 "RANKL 억제제"는 RANK 활성을 감소시킬 수 있는 임의의 화합물을 지칭한다. RANKL은 간질의 골아세포 및 T-림프구 세포의 표면 상에서 발견되고, 이들 T-림프구 세포는 이를 분비하는 능력을 입증한 유일한 세포이다. 그의 주요 기능은 골 재흡수에 관여하는 세포인 파골세포의 활성화이다. RANKL 억제제는 RANKL과 그의 수용체(RANK)와의 결합을 차단하거나, RANK 매개 신호전달을 차단하거나 또는 RANKL의 전사 또는 번역을 차단하여 RANKL의 발현을 감소시킴으로써 작용할 수 있다. 본 발명에서 사용하는데 적합한 RANKL 길항제 또는 억제제는, 비제한적으로 하기를 포함한다:
- [0220] o RANKL에 결합할 수 있고 RANK 단백질의 세포외 도메인의 전체 또는 단편을 포함하는 적합한 RANK 단백질. 가용성 RANK는 췌장 또는 인간 RANK 폴리펩타이드의 신호 펩타이드 및 세포외 도메인을 포함할 수 있거나, 또는 대안적으로, 신호 펩타이드가 제거된 성숙한 형태의 단백질이 사용될 수 있다.
- [0221] o 오스테오프로테게린 또는 RANKL 결합능을 갖는 이의 변이체.
- [0222] o RANKL 특이적 안티센스 분자
- [0223] o RANKL의 전사된 산물을 가공할 수 있는 리보자임
- [0224] o 특이적 항-RANKL 항체. "항-RANKL 항체 또는 RANKL에 대해 유도된 항체"는 하나 이상의 RANKL 기능을 억제하

는 핵 인자  $\kappa B$ 에 대한 활성화 수용체의 리간드(RANKL)에 특이적으로 결합할 수 있는 모든 항체로서 본원에 정의된다. 항체는 당업자에 의해 공지된 임의의 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 따라서, 다중클론 항체는 억제될 단백질로 동물을 면역화시킴으로써 제조된다. 단클론 항체는 문헌[Kohler, Milstein et al.(Nature, 1975, 256: 495)]에 기재된 방법을 사용하여 제조된다. 본 발명의 맥락에서 적합한 항체는 가변 항원 결합 영역 및 불변 영역을 포함하는 온전한 항체, 단편 "Fab", "F(ab')<sub>2</sub>" 및 "Fab'", Fv, scFv, 디아바디 및 이중특이적 항체를 포함한다.

- [0225] o 특이적 항-RANKL 나노바디. 나노바디는 천연 발생 중쇄 항체의 독특한 구조적 및 기능적 특성을 함유하는 항체 유래의 치료 단백질이다. 나노바디 기술은 낙타과(낙타 및 라마)가 경쇄가 결여된 완전한 기능적 항체를 보유하고 있다는 발견 후에 최초로 개발되었다. 나노바디의 일반적인 구조는 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4이고,
- [0226] o FR1 내지 FR4는 프레임워크 영역 1 내지 4이고, CDR1 내지 CDR3은 상보성 결정 영역 1 내지 3이다. 이들 중쇄 항체는 단일 가변 도메인(VHH) 및 2개의 불변 도메인(CH2 및 CH3)을 함유한다. 중요하게도, 클로닝되고 단리된 VHH 도메인은 원래의 중쇄 항체의 전체 항원 결합능을 보유하는 완벽하게 안정한 폴리펩타이드이다. 독특한 구조적 및 기능적 특성을 갖는 이러한 새롭게 발견된 VHH 도메인은 애플린스(Ablynx)가 나노바디로 명명한 신세대 치료 항체의 기초를 형성한다.
- [0227] 일 구현예에서, RANKL 억제제는 RANKL 특이적 항체, RANKL 특이적 나노바디 및 오스테오프로테게린으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 항-RANKL 항체는 단클론 항체이다. 보다 구체적인 구현예에서, 항-RANKL 항체는 테노수맙이다(Pageau, Steven C.(2009). mAbs 1(3): 210-215, CAS number 615258-40-7)(이의 전체 내용이 본원에 참조로 포함됨). 테노수맙은 RANKL에 결합하여 그의 활성화를 방지하는(그것은 RANK 수용체에 결합하지 않음) 완전한 인간 단클론 항체이다. 테노수맙의 다양한 양태는 미국 특허 제6,740,522호; 제7,411,050호; 제7,097,834호; 제7,364,736호(이의 전체 내용은 그 전체가 참조로 본원에 포함됨)에 의해 포함된다. 또 다른 구현예에서, RANKL 억제제는 테노수맙과 동일한 에피토프에 결합하는 항체, 항체 단편, 또는 융합 구조물이다.
- [0228] 일 구현예에서, 항-RANKL 나노바디는 WO제2008142164호(그의 내용은 참조로 본원에 포함됨)에 기재된 나노바디 중 어느 하나이다. 일 구현예에서, 항-RANKL 항체는 ALX-0141(Ablynx)이다. ALX-0141은 폐경후 골다공증, 류마티스 관절염, 암 및 특정 약물요법과 관련된 골 손실을 억제하고, 건강한 골 대사의 균형을 회복하도록 설계되었다.
- [0229] 일 구현예에서, 골 분해를 예방하는 제제는 비스포스포네이트, RANKL 억제제, PTH 및 PTHLH 억제제 또는 PRG 유사체, 스트론튬 라벨레이트, DKK-1 억제제, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제, 에스트로젠 수용체 조절제, 라툼-223, 칼시토닌, 및 카텡신 K 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 구현예에서 골 분해를 예방하는 제제는 비스포스포네이트이다. 일 구현예에서, 비스포스포네이트는 졸레드론산이다.
- [0230] 일 구현예에서, CCR5 길항제는 원발성 유방암 종양의 골로의 전이 또는 재발을 예방 또는 억제하기 위해 투여된다. 일 구현예에서, CCR5 길항제는 큰 분자이다. 또 다른 구현예에서, CCR5 길항제는 작은 분자이다. 일부 구현예에서, CCR5 길항제는 마라비록(Maraviroc)이다. 일부 구현예에서, CCR5 길항제는 비크리비록(Vicriviroc)이다. 일부 양태에서, CCR5 길항제는 아플라비록(Aplaviroc)이다. 일부 양태에서, CCR5 길항제는 스피로피페리딘 CCR5 길항제이다(Rotstein D.M. et al. 2009. Spiropiperidine CCR5 antagonists. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 19 (18): 5401-5406). 일부 구현예에서, CCR5 길항제는 INCB009471이다(Kuritzkes, D.R. 2009. HIV-1 entry inhibitors: an overview. Curr. Opin. HIV AIDS. 4(2): 82-7).
- [0231] 일 구현예에서, 이중 MET 및 VEGFR2 억제제는 카보잔티닙, 포레티닙 및 E7050으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0232] 구현예에서, MAF 상태는 대상체에겐 실시해야 하는 치료를 예측한다. 구현예에서, 본원의 구현예 중 어느 것에서 c-MAF 상태는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자와 증폭, 카피 획득 또는 전좌 또는 이의 부족, 또는 16q23 또는 16q22-24 염색체 유전자와 결실을 포함한다. 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가(및 따라서 나쁜 DFS 또는 OS 결과의 높은 위험에 있음)를 갖는 폐경후 환자에게 본원에 개시된 임의의 치료를 실시할 수 있다. 일부 구현예에서, 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가(및 따라서 나쁜 DFS 또는 OS 결과의 높은 위험에 있음)를 갖는 폐경후 환자는 표준 치료로서 호르몬 치료의 사용에 의해 처방된 5년을 넘어 이들의 호르몬 치료를 확장시킴으로써 치료될 수 있다. 특정 구

현예에서, 호르몬 치료는 타목시펜 및/또는 아로마타아제 억제제이다. 기준에 대해 c-MAF 유전자 발현 수준, 카피 수, 증폭 또는 획득의 증가가 없는 환자에게는 본원에 개시된 치료를 실시하지 않아야 한다.

[0233]

또 다른 양태에서, 치료는 mTor 억제제이다. 일부 양태에서, mTor 억제제는 이중 mTor/PI3키나아제 억제제이다. 일부 양태에서, mTor 억제제는 전이 또는 재발을 예방 또는 억제하는데 사용된다. 일부 양태에서, mTor 억제제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다: ABI009(시롤리무스), 라파마이신(시롤리무스), 아브락산(파클리탁셀), 아브소르브(에버롤리무스), 아피니토르(에버롤리무스), 글리벡(Gleevec)을 갖는 아피니토르, AS703026(피마서팁), 악세스(Axxess)(우미롤리무스), AZD2014, BEZ235, 바이오프리덤(Biofreedom)(우미롤리무스), 바이오매트릭스(BioMatrix)(우미롤리무스), 바이오매트릭스 플렉스(우미롤리무스), CC115, CC223, 콤보 생체 조작된 시롤리무스 용출 스텐트 ORBUSNEICH(시롤리무스), 쿠락신(Curaxin) CBLC102(메파크린), DE109(시롤리무스), DS3078, 엔데버(Endeavor) DES(조타롤리무스), 엔데버 레솔루트(조타롤리무스), 페마라(Femara)(레트로졸), 호세나(Hocena)(안트로키노놀), INK128, 인스피론(Inspiron)(시롤리무스), IPI504(레타스피마이신 하이드로콜로라이드), KR951(티보자닙), ME344, MGA031(테플리주닙), MiStent SES(시롤리무스), MKC1, 노보리(Nobori)(우미롤리무스), OSI027, OVI123(코다이세핀), 팔로미드(Palomid) 529, PF04691502, 프로무스 엘리먼트(Promus Element)(에버롤리무스), PWT33597, 라파뮌(Rapamune)(시롤리무스), 레솔루트(Resolute) DES(조타롤리무스), RG7422, SAR245409, SF1126, SGN75(보세투주맙 마포도틴), 시너지(Synergy)(에버롤리무스), 탈토르빅(Taltorvic)(리다포롤리무스), 타세바(Tarceva)(에를로티닙), 토리셀(Torisel)(탐시롤리무스), 지엔스 프라임(Xience Prime)(에버롤리무스), 지엔스 V(에버롤리무스), 조맥스(Zomaxx)(조타롤리무스), 조르트레스(Zortress)(에버롤리무스), 조타롤리무스 용출 말초 스텐트 MEDTRONIC(조타롤리무스), AP23841, AP24170, ARmTOR26, BN107, BN108, 칸스타틴(Canstatin) GENZYME(칸스타틴), CU906, EC0371, EC0565, KI1004, LOR220, NV128, 라파마이신(Rapamycin) ONCOIMMUNE(시롤리무스), SB2602, 시롤리무스 PNP 삼양 바이오파마슈티컬스(시롤리무스), TOP216, VLI27, VS5584, WYE125132, XL388, 아드바칸(Advacan)(에버롤리무스), AZD8055, 사이퍼 셀렉트 플러스(Cypher Select Plus) 시롤리무스 용출 관상 스텐트(시롤리무스), 사이퍼 시롤리무스 용출 관상 스텐트(시롤리무스), 약물 코팅된 풍선(시롤리무스), E-매직 플러스(E-Magic Plus)(시롤리무스), 엠토르(Emtor)(시롤리무스), 에스프릿(Esprit)(에버롤리무스), 에버토르(Evertor)(에버롤리무스), HBF0079, LCP-시로(Siro)(시롤리무스), 리무스(Limus) CLARIS(시롤리무스), mTOR 억제제 CELLZOME, 네보(Nevo) 시롤리무스 용출 관상 스텐트(시롤리무스), nPT-mTOR, 라파칸(Rapacan)(시롤리무스), 레나셉트(Renacept)(시롤리무스), 레졸브(ReZolve)(시롤리무스), 로카스(Rocas)(시롤리무스), SF1126, 시롤림(Sirolim)(시롤리무스), 시롤리무스 NORTH CHINA(시롤리무스), 시롤리무스 RANBAXY(시롤리무스), 시롤리무스 WATSON(시롤리무스), 시로판(Siropan)(시롤리무스), 시로바(Sirova)(시롤리무스), 수프랄리무스(Supralimus)(시롤리무스), 수프랄리무스-코어(Supralimus-Core)(시롤리무스), 타크롤리무스 WATSON(타크롤리무스), TAF93, 탐시롤리무스 ACCORD(탐시롤리무스), 탐시롤리무스 SANDOZ(탐시롤리무스), TOP216, 지엔스 프라임(에버롤리무스), 지엔스 V(에버롤리무스). 특정 양태에서, mTor 억제제는 아피니토르(에버롤리무스)이다

([http://www.afinitor.com/index.jsp?usertrack.filter\\_applied=true&NovaId=4029462064338207963](http://www.afinitor.com/index.jsp?usertrack.filter_applied=true&NovaId=4029462064338207963); last accessed 11/28/2012). 또 다른 양태에서, mTor 억제제는 당업계에 공지된 방법을 통해 확인될 수 있다(예컨대, 본원에 참조로 포함된 Zhou, H. et al. Updates of mTor inhibitors. 2010. *Anticancer Agents Med. Chem.* 10(7): 571-81 참고). 또 다른 양태에서, mTor 억제제는 당업계에 공지된 방법을 통해 확인될 수 있다(예컨대, 본원에 참조로 포함된 Zhou, H. et al. Updates of mTor inhibitors. 2010. *Anticancer Agents Med. Chem.* 10(7): 571-81 참고). 일부 양태에서, mTor 억제제는 호르몬 수용체에 대해 양성인 환자에서 전이를 치료하거나 예방 또는 억제하는데 사용된다(예컨대, Baselga, J., et al., Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor Positive Advanced Breast Cancer. 2012. *N. Engl. J. Med.* 366(6): 520-529 참고). 일부 양태에서, mTor 억제제는 진행성 유방암 환자에서 전이를 치료하거나 예방 또는 억제하는데 사용된다. 일부 양태에서, mTor 억제제는 제2 치료와 조합하여 사용된다. 일부 양태에서, 제2 치료는 본원에 기재된 임의의 치료이다.

[0234]

또 다른 양태에서, 치료는 Src 키나아제 억제제이다. 일부 양태에서, Src 억제제는 전이 또는 재발을 예방 또는 억제하기 위해 사용된다. 일부 양태에서, Src 키나아제 억제제는 군: AZD0530(사라카티닙), 보솔리프(Bosulif)(보수티닙), ENMD981693, KD020, KX01, 스프리셀(Sprycel)(다사티닙), 예르보이(Yervoy)(이필리무맙), AP23464, AP23485, AP23588, AZD0424, c-Src 키나아제 억제제 KISSEI, CU201, KX2361, SKS927, SRN004, SUNK706, TG100435, TG100948, AP23451, 다사티닙 HETERO(다사티닙), 다사티닙 VALEANT(다사티닙), 폰트락스(Fontrax)(다사티닙), Src 키나아제 억제제 KINEX, VX680(토자세르팁 락테이트), XL228, 및 SUNK706으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, Src 키나아제 억제제는 다사티닙이다. 또 다른 양태에서, Src 키나아제 억제제는 당업계에 공지된 방법을 통해 확인될 수 있다(예컨대, 본원에 참조로 포함된 Sen, B. and Johnson, F.M.

Regulation of Src Family Kinases in Human Cancers. 2011. *J. Signal Transduction*. 2011: 14 pages 참고). 일부 양태에서, Src 키나아제 억제제는 SRC 반응성 시그너처(SRS)에 대해 양성인 환자에서 전이 또는 재발을 예방 또는 억제하기 위해 사용된다. 일부 양태에서, 환자는 SRS+ 및 ER-이다(예컨대, 본원에 참조로 포함된 Zhang, CH.-F, *et al.* Latent Bone Metastasis in Breast Cancer Tied to Src-Dependent survival signals. 2009. *Cancer Cell*. 16: 67-78 참고). 일부 양태에서, Src 키나아제 억제제는 진행성 유방암을 갖는 환자에서 전이를 예방 또는 억제하기 위해 사용된다. 일부 양태에서, Src 키나아제 억제제는 제2 치료와 조합하여 사용된다. 일부 양태에서, 제2 치료는 본원에 기재된 임의의 치료이다.

[0235]

또 다른 양태에서, 치료는 COX-2 억제제이다. 일부 양태에서, COX-2 억제제는 전이 또는 재발을 예방 또는 억제하기 위해 사용된다. 일부 양태에서, COX-2 억제제는 하기 군으로부터 선택된다: ABT963, 아세타미노펜 ER 존슨(JOHNSON)(아세타미노펜), 아쿨라(Acular) X(케토로락 트로메타민), BAY1019036(아스피린), BAY987111(디펜하이드라민, 나프록센 나트륨), BAY11902(피록시캄), BCIBUCH001(이부프로펜), 카폭시캠(Capoxigem)(아프리카콕심), CS502, CS670(켈루비프로펜), 디클로페낙 HPBCD(디클로페낙), 디락틴(케토프로펜), GW406381, HCT1026(니트로플루르비프로펜), 하이아날게스(Hyalalgese)-D(디클로페낙), 하이드로코텍스(HydrocoDex)(아세타미노펜, 텍스트로메토르판, 하이드로코돈), 이부프로펜 나트륨 PFIZER(이부프로펜 나트륨), 아세타미노펜 PFIZER를 갖는 이부프로펜(아세타미노펜, 이부프로펜), 임프라코르(Impracor)(케토프로펜), IP880(디클로페낙), IP940(인도메타신), ISV205(디클로페낙 나트륨), JNS013(아세타미노펜, 트라마돌 하이드로클로라이드), 케토프로펜 TDS(케토프로펜), LTNS001(나프록센 에테메실), 메살라민 SALIX(메살라민), 메살라민 SOFAR(메살라민), 메살라진(메살라민), ML3000(리코펜론), MRX7EAT(에토돌락), 나프록센 IROKO(나프록센), NCX4016(니트로아스피린), NCX701(니트로아세타미노펜), 누프린(Nuprin) SCOLR(이부프로펜), OMS103HP(아미트리립틸린 하이드로클로라이드, 케토프로펜, 옥시메타졸린 하이드로클로라이드), 오랄리스(Oralase)(디클로페낙), OxycoDex(텍스트로메토르판, 옥시코돈), P54, PercoDex(아세타미노펜, 텍스트로메토르판, 옥시코돈), PL3100(나프록센, 포스파티딜 콜린), PSD508, R-케토프로펜(케토프로펜), 레무라(Remura)(브롬페낙 나트륨), ROX828(케토로락 트로메타민), RP19583(케토프로펜 리신), RQ00317076, SDX101(R-에토돌락), TDS943(디클로페낙 나트륨), TDT070(케토프로펜), TPR100, TQ1011(케토프로펜), TT063(S-플루르비프로펜), UR8880(시미콕심), V0498TA01A(이부프로펜), VT122(에토돌락, 프로프라놀롤), XP20B(아세타미노펜, 텍스트로프로폭시펜), XP21B(디클로페낙 칼륨), XP21L(디클로페낙 칼륨), 조에나사(Zoenasa)(아세틸시스테인, 메살라민), 아세펜(Acephen), 악티페드 플러스(Actifed Plus), 악티페드-P, 아쿨라, 아쿨라 LS, 아쿨라 PF, 아쿨라 X, 아쿠바일(Acuvail), 아드빌(Advil), 아드빌 알러지 비염, 아드빌 감기 및 비염, 아드빌 울혈 제거, 아드빌 PM, 아드빌 PM 캡슐, 에어 살론파스(Air Salonpas), 에어탈(Airtal), 무알콜 나이퀸(NyQuil) 감기 & 독감 제거, 알레브(Aleve), 알레브 ABDI IBRAHIM, 알레브-D, 알카-셀트저(Alka-Seltzer), 알카-셀트저 BAYER, 알카-셀트저 초강도(Extra Strength), 알카-셀트저 레몬-라임(Lemon-Lime), 알카-셀트저 오리지날(Original), 알카-셀트저 플러스, 알카-셀트저 플러스 감기 및 기침, 알카-셀트저 플러스 감기 및 기침 제제, 알카-셀트저 플러스 낮과 밤 감기 제제, 알카-셀트저 플러스 낮 졸립지 않은 감기 제제, 알카-셀트저 플러스 독감 제제, 알카-셀트저 플러스 밤 감기 제제, 알카-셀트저 플러스 비염 제제, 알카-셀트저 플러스 스파클링 오리지날 감기 제제, 알카-셀트저 PM, 알카-셀트저 모닝콜(Wake-Up Call), 아나신(Anacin), 아나프록스(Anaprox), 아나프록스 MINERVA, 안사이드(Ansaid), 아피톡신(Apitoxin), 아프라낙스(Apranax), 아프라낙스 아브디(Apranax abdi), 아르콕시아(Arcoxia), 관절염 제제 벤가이(Arthritis Formula Bengay), 아르트로텍(Arthrotec), 아사콜(Asacol), 아사콜 HD, 아사콜 MEDUNA ARZNEIMITTEL, 아사콜 ORIFARM, 아스피린 BAYER, 아스피린 콤플렉스, 아스피린 미그란(Migran), AZD3582, 아줄피딘(Azulfidine), 바랄간(Baralgan) M, BAY1019036, BAY987111, BAY11902, BCIBUCH001, 베나드릴 알러지(Benadryl Allergy), 베나드릴 낮과 밤, 베닐린(Benlylin) 4 독감, 베닐린 감기 및 독감, 베닐린 감기 및 독감 낮과 밤, 베닐린 감기 및 비염 낮과 밤, 베닐린 감기 및 비염 플러스, 베닐린 낮과 밤 감기 및 독감 제거, 베닐린1 올인원, 브렉신(Brexin), 브렉신 ANGELINI, 브롬데이(Bromday), 버퍼린(Bufferin), 부스코판(Buscopan) 플러스, 칼돌로르(Caldolor), 칼마텔(Calmatel), 캄비아(Cambia), 카나사(Canasa), 카폭시캠(Capoxigem), 카타플람(Cataflam), 셀레브렉스(Celebrex), 셀레브렉스 ORIFARM, 소아의 아드빌 알러지 비염, 소아의 타이레놀, 소아의 타이레놀 기침 및 콧물, 소아의 타이레놀 플러스 감기, 소아의 타이레놀 플러스 감기 및 기침, 소아의 타이레놀 플러스 감기 및 비한, 소아의 타이레놀 플러스 독감, 소아의 타이레놀 플러스 감기 & 알러지, 소아의 타이레놀 플러스 기침 & 콧물, 소아의 타이레놀 플러스 기침 & 인후염, 소아의 타이레놀 플러스 다증상 감기, 클리노릴(Clinoril), 코드랄(Codral) 감기 및 독감, 코드랄 낮과 밤 낮 정제, 코드랄 낮과 밤 밤 정제, 코드랄 야간, 콜라잘(Colazal), 콤부녹스(Combunox), 콘탁(Contact) 감기 플러스 독감, 콘탁 감기 플러스 독감 졸립지 않음, 코리시딘(Coricidin) D, 코리시딘 HBP 감기 및 독감, 코리시딘 HBP 낮과 밤 다증상 감기, 코리시딘 HBP 최대 강도 독감,

코리시딘 HBP 야간 다증상 감기, 코리시딘 II 초강도 감기 및 독감, CS502, CS670, 데이프로(Daypro), 데이프로 알타(Alta), DDS06C, 데마진 감기 및 독감, 데마진 기침, 감기 및 독감, 데마진 낮/밤 감기 및 독감, 데마진 PE 감기 및 독감, 데마진 PE 낮/밤 감기 및 독감, 디클로페낙 HPBCD, 디메탐(Dimetapp) 낮 제거, 디메탐 다증상 감기 및 독감, 디메탐 밤 제거, 디메탐 통증 및 발열 제거, 디메탐 PE 비염 통증, 디메탐 PE 비염 통증 플러스 알러지, 디펜탐(Dipentum), 디락틴, 디스프린(Disprin) 감기 'n' 발열, 디스프린 엑스트라, 디스프린 포르테(Forte), 디스프린 플러스, 드리스탄(Dristan) 감기, 드리스탄 주니어(Junior), 드릭소랄(Drixoral) 플러스, 두엑시스(Duexis), 다이나스타트(Dynastat), 에페랄간(Efferalgan), 에페랄간 플러스 비타민 C, 에페랄간 비타민 C, 엘릭스슈어(Elixsure) IB, 엑세드린(Excedrin) 블랙 및 바디, 엑세드린 편두통, 엑세드린 PM, 엑세드린 비염 두통, 엑세드린 긴장성 두통, 팔콜(Falcol), 판사막(Fansamac), 펠덴(Feldene), 피버올(FeverAll), 피오리날(Fiorinal), 코데인을 갖는 피오리날, 플라낙스(Flanax), 플렉터 패치(Flector Patch), 플루캠(Flucam), 포르타제식(Fortagesic), 게르빈(Gerbin), 지아조(Giazo), 글리디오(Gladio), 구디스(Goody's) 등 및 전신 통증, 구디스 쿨 오렌지(Cool Orange), 구디스 초강도, 구디스 PM, 그리스리스 벤가이(Greaseless Bengay), GW406381, HCT1026, 허싱이(He Xing Yi), 하이아날게스(Hyanalgese)-D, 하이드로코텍스(HydrocoDex), 이부프로펜 나트륨 PFIZER, 아세타미노펜 PFIZER를 갖는 이부프로펜, 아이시 핫(Icy Hot) SANOFI AVENTIS, 임프라코르(Impracor), 인도신(Indocin), 인도메타신(Indomethacin) APP PHARMA, 인도메타신 MYLAN, 유아의 타이레놀, IP880, IP940, 이레모드(Iremod), ISV205, JNS013, 청소년용 타이레놀, 주니펜(Junifen), 청소년 강도 아드빌, 청소년 강도 모트린(Motrin), 케토프로펜 TDS, 램십 맥스(Lemsip Max), 램십 맥스 올인원, 램십 맥스 밤새, 램십 맥스 감기 및 독감, 리알다(Lialda), 리스테린 구강 청결제, 엘로이즈 크림(Lloyds Cream), 로딘(Lodine), 로르피트(Lorfit) P, 록소닌(Loxonin), LTNS001, 메르신돌(Mersyndol), 메살라민 SALIX, 메살라민 SOFAR, 메살라진, 메사살 GLAXO, 메사살 SANOFI, 메술리드(Mesulid), 메트살 히트 루브(Metsal Heat Rub), 미돌 컴플리트(Midol Complete), 미돌 확장된 제거, 미돌 액체 젤, 미돌 PM, 미돌 십대 제제, 미그라닌(Migranin) COATED TABLETS, ML3000, 모빅(Mobic), 모루스(Mohrus), 모트린(Motrin), 모트린 감기 및 비염 통증, 모트린 PM, 모발리스(Movalis) ASPEN, MRX7EAT, 날폰(Nalfon), 날폰 PEDINOL, 나프렐란(Naprelan), 나프로신(Naprosyn), 나프로신 RPG LIFE SCIENCE, 나프록센 IROKO, NCX4016, NCX701, 네오프로펜(NeoProfen) LUNDBECK, 네바낙, 넥세드(Nexcede), 니플란(Niflan), 노르제식(Norgesic) MEDICIS, 노발진(Novalgin), 누프린(Nuprin) SCOLLR, 누로펜(Nurofen), 누로펜 감기 및 독감, 누로펜 최대 강도 편두통, 누로펜 플러스, 누로몰, 비타민 C를 갖는 나이퀸(NyQuil), 오쿠펜, OMS103HP, 오랄리스(Oralase), 오루디스 ABBOTT JAPAN, 오루바이(Oruvail), 오스테룩(Osteluc), 옥시코텍스(OxycoDex), P54, 파나돌(Panadol), 파나돌 액티패스트(Actifast), 파라딘(Paradine), 파라맥스(Paramax), 파르페낙(Parfenac), 페데아(Pedea), 펜사이드(Pennsaid), 펜타사(Pentasa), 펜타사 ORIFARM, 페온(Peon), 페르코단(Percodan), 페르코단-데미(Percodan-Demi), 페르코텍스(PercoDex), 페르코제식(Percogesic), 페르팔간(Perfalgan), PL2200, PL3100, 폰스텔(Ponstel), 프렉시지(Prexige), 프롤렌사(Prolensa), PSD508, R-케토프로펜(R-Ketoprofen), 란투딜(Rantudil), 렐라펜(Relafen), 레무라(Remura), 로박시살(Robaxisal), 로텍(Rotec), 로와사(Rowasa), ROX828, RP19583, RQ00317076, 루보르(Rubor), 살로팔크(Salofalk), 살론파스(Salonpas), 사리돈(Saridon), SDX101, 셀터치(Seltouch), 스프로와사(sfRowasa), 신바로(Shinbaro), 시누맥스(Sinumax), 시누탭(Sinutab), 시누탭 비염, 스팔트(Spalt), 스프릭스(Sprix), 스트레펜(Strefen), 수다페드(Sudafed) 감기 및 기침, 수다페드 코감기 및 비염, 코감기 PE 감기 플러스 기침, 코감기 PE 압력 플러스 통증, 코감기 PE, 중증 감기, 코감기 PE 비염 낮 플러스 밤 제거 낮 정제, 수다페드 PE 비염 낮 플러스 밤 제거 밤 정제, 수다페드 PE 비염 플러스 항염증성 통증 경감, 수다페드 비염 어드밴스(Advance), 수르감(Surgam), 시날고스(Synalgos)-DC, 신플렉스(Synflex), 타비스트(Tavist) 알러지/비염/두통, TDS943, TDT070, 테라플루 감기 및 인후염, 테라플루 주간 중증 감기 및 기침, 테라플루 주간 위밍 제거, 테라플루 위밍 제거 카플렛 주간 다증상 감기, 테라플루 위밍 경감 감기 및 가슴 울혈, 토마피린(Thomapyrin), 토마피린 C, 토마피린 발포성(Effervescent), 토마피린 미디움, 틸코틸(Tilcotil), 티스폴(Tispol), 톨렉틴(Tolectin), 토라돌(Toradol), TPR100, TQ1011, 트라우마-살베(Trauma-Salbe), 트라우마-살베 퀴즈다(Kwizda), 트레오(Treo), 트렉시메트(Treximet), 트로벡스(Trovex), TT063, 타이레놀, 타이레놀 알러지 다증상, 타이레놀 요통, 타이레놀 감기 & 기침 주간, 타이레놀 감기 & 기침 야간, 타이레놀 감기 및 비염 주간, 타이레놀 감기 및 비염 야간, 타이레놀 감기 머리 울혈 중증, 타이레놀 감기 다증상 주간, 타이레놀 감기 다증상 야간 액체, 타이레놀 감기 다증상 중증, 타이레놀 감기 줄리지 않는 제제, 타이레놀 감기 중증 울혈 주간, 타이레놀 킴플리트 감기, 기침 및 독감 야간, 타이레놀 독감 야간, 타이레놀 월경, 타이레놀 PM, 타이레놀 비염 울혈 & 통증 주간, 타이레놀 비염 울혈 & 통증 야간, 타이레놀 비염 울혈 & 통증 중증, 타이레놀 비염 중증 울혈 주간, 타이레놀 울트라 제거, 카페인 및 코데인 포스페이트를 갖는 타이레놀, 코데인 포스페이트를 갖는 타이레놀, 초고강도 벤가이 크림, 울트라세트(Ultracet), UR8880, V0498TA01A, 빅스 나이퀸(Vicks NyQuil) 감기 및 독감 경감, 비코프로펜

(Vicoprofen), 비모보(Vimovo), 볼타렌 에멀젼(Voltaren Emulgel), 볼타렌 GEL, 볼타렌 NOVARTIS CONSUMER HEALTH GMBH, 볼타렌 XR, VT122, 제포(Xefo), 제포 래피드, 제포캄(Xefocam), 지브롬(Xibrom), XL3, 조돌(Xodol), XP20B, XP21B, XP21L, 질소르(Zipsor), 및 조에나사(Zoenasa). 또 다른 양태에서, COX-2 억제제는 당 업계에 공지된 방법을 통해 확인될 수 있다(예컨대, 본원에 참조로 포함된 Dannhardt, G. and Kiefer, W. Cyclooxygenase inhibitors- current status and future prospects. 2001. *Eur. J. Med. Chem.* 36: 109-126 참고). 일부 양태에서, COX-2 억제제는 진행성 유방암을 갖는 환자에서 전이를 치료하거나 예방 또는 억제하기 위해 사용된다. 일부 양태에서, COX-2 억제제는 제2 치료와 조합하여 사용된다. 일부 양태에서, 제2 치료는 본원에 기재된 임의의 치료이다. 일부 양태에서, COX-2 억제제는 테노수맙, 조메타 ([http://www.us.zometa.com/index.jsp?usertrack.filter\\_applied=true&NovaId=2935376934467633633](http://www.us.zometa.com/index.jsp?usertrack.filter_applied=true&NovaId=2935376934467633633); last accessed 12/2/2012), 카르보잔티닙 또는 카보잔티닙, 항체 또는 펩타이드 차단 PTHLH(부갑상선 호르몬 유사 호르몬) 또는 PTHrP(부갑상선 호르몬 관련 단백질)로 이루어진 군으로부터 선택된 제2 치료와 조합하여 사용된다.

[0236] 일 구현예에서, 치료는 라뎀 223이다. 일 구현예에서 라뎀 223 요법은 알파라딘(Alpharadin)(조피고(Xofigo)로도 알려짐)(라뎀-223 디클로라이드)이다. 알파라딘은 라뎀-223 붕괴로부터의 알파 방사선을 사용하여 암세포를 사멸시킨다. 라뎀-223은 천연적으로 칼슘 모방체로서의 그의 특성에 의해 골 전이를 자가 표적화한다. 알파 방사선은 2-10 세포(베타 또는 감마 방사선에 기초한 현재의 방사선 요법과 비교하여)의 매우 짧은 범위를 가지므로, 주변 건강한 조직(특히 골수)에 적은 손상을 야기한다. 칼슘과 유사한 특성으로, 라뎀-223은 신체에서 골을 생성하기 위해 칼슘이 사용되는 장소로 이동되며, 이는 더 빠르고 비정상적인 골 성장의 부위를 포함한다. 라뎀-223은 주입 후 혈류에서 비정상적인 골 성장 부위로 운반된다. 신체에서 암이 시작되는 장소는 원발성 종양으로서 공지되어 있다. 이들 세포 중 일부는 이탈하여 혈류에서 신체의 또 다른 부분으로 운반될 수 있다. 그 다음, 암세포는 신체의 그 부분에 정착하여 새로운 종양을 형성할 수 있다. 이것이 일어나면, 그것은 이차 암 또는 전이로 불린다. 라뎀-223을 사용하는 목적은 이러한 이차 암을 선택적으로 표적화하는 것이다. 골에서 흡수되지 않은 임의의 라뎀-223은 신속히 장으로 이동되어 배출된다.

[0237] 일부 구현예에서, 치료는 CDK4/6 억제제이다. 특정 구현예에서, CDK4/6 억제제는 임의의 공지된 CDK4/6 억제제로부터 선택된다. 추가 구현예에서, CDK4/6 억제제는 팔보시클립(PD-0332991), 리보시클립(LEE011), 또는 아베마시클립(LY2835219)이다. CDK4/6 억제제의 사용은 문헌[Finn *et al. Breast Cancer Research* 18:17 (2016)]에 기재되어 있다.

[0238] 대안적으로 전이 또는 재발을 치료하고/하거나 예방하기 위해 전술한 둘 이상의 제제가 조합되거나 또는 상기 제제는 칼슘 또는 비타민 D과 같은 다른 보충제 또는 호르몬 치료와 조합될 수 있는 조합 치료가 수행될 수 있다.

[0239] 구현예에서, DFS 또는 나쁜 OS 결과의 높은 위험에 있는 MAF 양성 폐경후 환자는 보조 설정에서 환자의 결과를 개선하기 위한 임의의 요법으로 치료된다. 이들 요법은 골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제, 무병 생존 또는 전체 생존을 개선하기 위한 제제, c-MAF 억제제, 화학요법, 호르몬 요법, m-Tor 억제제, CDK4/6 억제제, 라뎀-223, CCR5 길항제, Src 키나아제 억제제, 또는 COX-2 억제제 및 이의 조합을 포함하는, 본원에 개시된 임의의 요법을 포함한다. MAF 양성인 환자에게는 이러한 제제 또는 요법을 실시하지 않아야 한다.

[0240] 암이 전이된 경우, 비제한적으로 화학요법, 호르몬 치료, 면역요법, 또는 이의 조합을 포함하는 전신 치료가 사용된다. 또한, 방사선요법 및/또는 수술이 사용될 수 있다. 치료의 선택은 일반적으로 원발성 암의 유형, 크기, 전이의 위치, 환자의 연령, 일반 건강 및 이전에 사용된 치료의 유형에 좌우된다.

[0241] 전신 치료는 전신에 도달하는 치료이다:

[0242] - 화학요법은 약제를 사용하여 암세포를 파괴하는 것이다. 약제는 일반적으로 경구 또는 정맥내 경로를 통해 투여된다. 다른 구현예에서, 치료는 화학요법이다. 일부 구현예에서, 화학요법은 당업계에 공지된 임의의 화학요법이다. 특정 구현예에서, 화학요법은 보조 화학요법이다. 특정 구현예에서, 화학요법은 타산이다. 추가 구현예에서, 타산은 파클리탁셀(Taxol), 도세탁셀(Taxotere) 또는 카바지탁셀이다. 약제는 일반적으로 경구 또는 정맥내 경로를 통해 투여된다. 종종, 화학요법은 방사선 치료와 함께 사용된다. 호르몬 요법은 일부 호르몬이 암 성장을 촉진한다는 사실에 기초한다. 예를 들어, 난소에 의해 생산된 여성에서의 에스트로겐은 때때로 유방암 성장을 촉진한다. 이들 호르몬의 생산을 정지시키는 몇 가지 방법이 있다. 한 가지 방법은 이들을 생산하는 장기(여성의 경우 난소, 남성의 경우 정소)를 제거하는 것이다. 보다 빈번하게는, 이들 장기가 호르몬을 생성하는 것을 예방하거나 호르몬이 암세포에 작용하는 것을 예방하는 약제가 사용될 수 있다. 구현예에서, 치료는 호르몬 요법이다. 특정 구현예에서, 호르몬 요법은 타목시펜 및/또는 아로마타아제 억제제이다.

- [0243] - 면역요법은 환자의 면역계 자체가 암과 싸우도록 돕는 치료이다. 전이 환자를 치료하는데 사용되는 몇 가지 유형의 면역요법이 있다. 이들은 비제한적으로 사이토카인, 단클론 항체 및 항종양 백신을 포함한다.
- [0244] 골 재형성을 방지 또는 예방하기 위한 제제는 전형적으로 약제학적으로 허용가능한 담체와 조합하여 투여된다.
- [0245] 용어 "담체"는 활성 성분이 투여되게 하는 희석제 또는 부형제를 지칭한다. 이러한 약제학적 담체는 멸균 액체, 예컨대 물 및 오일, 예컨대 석유, 동물, 식물 또는 합성 유래의 오일, 예컨대 땅콩유, 대두유, 광물유, 참깨유 등일 수 있다. 특히 주사가 가능한 용액을 위한 물 또는 수성 식염수 용액 및 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액이 바람직하게는 담체로서 사용된다. 적합한 약제학적 담체는 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences" by E.W. Martin, 1995]에 기재되어 있다. 바람직하게는, 본 발명의 담체는 주 또는 연방정부 규제 관청에 의해 승인되거나 동물 및 보다 특히 인간에서의 이의 용도에 대해 일반적으로 인식된 미국 약전 또는 다른 약전에 열거되어 있다.
- [0246] 본 발명의 약제학적 조성물의 원하는 약제학적 투여 형태를 제조하는데 필요한 담체 및 보조 물질은, 다른 인자 중에서, 선택된 약제학적 투여 형태에 좌우될 것이다. 약제학적 조성물의 상기 약제학적 투여 형태는 당업자에게 공지된 종래의 방법에 따라 제조될 것이다. 활성 성분을 투여하기 위한 상이한 방법, 사용되는 부형제 및 이들을 생산하는 방법의 검토는 문헌["Tratado de Farmacia Galenica", C. Fauli i Trillo, Luzan 5, S.A. 1993 Edition]에서 발견될 수 있다. 약제학적 조성물의 예는 경구, 국소 또는 비경구 투여를 위한 임의의 고체 조성물(정제, 환제, 캡슐, 과립 등) 또는 액체 조성물(용액, 현탁액 또는 유화액)을 포함한다. 또한, 약제학적 조성물은 필요한 것으로 간주되는 경우 안정화제, 현탁액, 보존제, 계면활성제 등을 함유할 수 있다.
- [0247] 의약에서 사용하기 위하여, 골 재형성 제제는 단리되거나 추가 활성제와 조합된 전구약물, 염, 용매화물 또는 포접화합물(clathrate)의 형태로 발견될 수 있고, 약제학적으로 허용가능한 부형제와 함께 제제화될 수 있다. 본 발명에서 이의 사용에 바람직한 부형제는 당류, 전분, 셀룰로오스, 고무 및 단백질을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 고체 약제학적 투여 형태(예를 들어, 액체 형태 등을 제공하기 위해 재구성될 수 있는 정제, 캡슐, 환제, 과립, 좌제, 멸균 결정 또는 비결정질 고체), 액체 약제학적 투여 형태(예를 들어, 용액, 현탁액, 유화액, 엘릭서, 로션, 연고 등) 또는 반고체 약제학적 투여 형태(겔, 연고, 크림 등)로 제제화될 것이다. 본 발명의 약제학적 조성물은 비제한적으로 경구 경로, 정맥내 경로, 근육내 경로, 동맥내 경로, 골수내 경로, 척수강내 경로, 심실내 경로, 경피 경로, 방지하 경로, 복강내 경로, 비내 경로, 장 경로, 국소 경로, 설하 경로 또는 직장 경로를 포함하는 임의의 경로에 의해 투여될 수 있다. 활성 성분을 투여하는 상이한 방법, 사용되는 부형제 및 이의 제조 공정의 검토는 문헌["Tratado de Farmacia Galenica, C. Fauli i Trillo, Luzan 5, S.A., 1993 Edition and Remington's Pharmaceutival Sciences(A.R. Gennaro, Ed.), 20<sup>th</sup> edition, Williams & Wilkins PA, USA(2000)]에서 발견될 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 담체의 예는 당업계에 공지되어 있으며, 인산염 완충 식염수 용액, 물, 유화액, 예컨대 오일/물 유화액, 상이한 유형의 습윤제, 멸균 용액 등을 포함한다. 상기 담체를 포함하는 조성물은 당업계에 공지된 통상적인 공정에 의해 제제화될 수 있다.
- [0248] 골 재형성을 방지하고 예방하는 제제 또는 이를 함유하는 약제학적 조성물은 체중의 kg당 10 mg 미만, 바람직하게는 체중의 kg당 적어도 약 50, 40, 30, 20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005, 0.001, 0.0005, 0.0001, 0.00005 또는 0.00001 mg 미만의 용량으로 투여될 수 있다. 단위 용량은 주사, 흡입 또는 국소 투여에 의해 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 제제는 그의 승인된 용량으로 투여된다.
- [0249] 용량은 치료될 병태의 중증도 및 반응에 좌우되며, 그것은 수일 내지 수개월 또는 병태가 진정될 때까지 달라질 수 있다. 최적 투여량은 환자의 체내에서 제제의 농도를 주기적으로 특정함으로써 결정될 수 있다. 최적 용량은 동물 모델에서 이전 시험관내 또는 생체내 분석에 의해 수득된 EC50 값으로부터 결정될 수 있다. 단위 용량은 1 일 1회 또는 1일 1회 미만, 바람직하게는 2, 4, 8 또는 30일마다 1회 미만으로 투여될 수 있다. 대안적으로, 시작 용량을 투여한 후, 일반적으로 시작 용량보다 적은 양의 하나 또는 수회 유지 용량을 투여할 수 있다. 유지 요법은 1일당 체중 kg당 0.01  $\mu$ g 내지 1.4 mg의 범위, 예를 들어 1일당 체중 kg당 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001, 또는 0.00001 mg의 용량으로 환자를 치료하는 것을 포함할 수 있다. 유지 용량은 바람직하게는 5, 10 또는 30일마다 최대 1회 투여된다. 치료는 일정 시간 동안 지속되어야 하며, 이는 환자가 겪는 장애의 유형, 이의 중증도 및 환자의 병태에 따라 달라질 것이다. 치료 후, 질환이 치료에 반응하지 않는 경우 용량이 증가되어야 하는지 또는 질환의 개선이 관찰되거나 원치 않는 부작용이 관찰되는 경우 용량이 감소되어야 하는지 결정하기 위해 환자의 경과를 모니터링해야 한다.

- [0250] 본 발명의 키트
- [0251] 또 다른 양태에서, 본 발명은 유방암을 앓고 있는 대상체를 위한 요법을 결정하기 위한 키트에 관한 것으로서, a) 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 또는 전좌를 정량화하기 위한 수단; b) 상기 샘플에서의 c-MAF의 정량화된 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 또는 전좌를 기준 c-MAF 발현 수준과 비교하기 위한 수단; 및 c) 정량화된 발현 수준과 기준 발현 수준과의 비교에 기초하여 상기 대상체에 대한 고려사항으로부터 요법을 결정하거나 요법을 제외하기 위한 수단.
- [0252] 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF의 발현 수준을 정량화하기 위한 수단은 16q23 및 16q22-24 유전자좌 증폭, 획득 및/또는 전좌를 포함하여 이전에 상세히 기재되었다. 일부 구현예에서, c-MAF 발현을 정량화하기 위한 수단은 본원에 기재된 임의의 항체, 항원 결합 분자 또는 단편이다. 일부 구현예에서, 항체는 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있는 국제 출원 제 PCT/IB2015/059562호에 기재된 임의의 항체이다.
- [0253] 바람직한 구현예에서, 발현을 정량화하기 위한 수단은 c-MAF 유전자에 특이적으로 결합하고/하거나 증폭시키는 프로브 및/또는 프라이머의 세트를 포함한다.
- [0254] 본 발명의 방법의 모든 특정 구현예는 본 발명의 키트 및 그의 용도에 적용가능하다.
- [0255] 유방암을 앓고 있는 대상체를 분류하는 방법.
- [0256] 또 다른 양태에서, 본 발명은 a) 유방암을 앓고 있는 대상체의 샘플에서 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 또는 전좌를 결정하는 단계; b) 상기 샘플에서의 c-MAF의 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 또는 전좌를 c-MAF 발현의 소정의 기준 수준과 비교하는 단계; 및 c) 샘플에서 c-MAF의 상기 발현 수준, 카피 수, 증폭, 획득 또는 전좌에 기초하여 상기 대상체를 코호트로 분류하는 단계를 포함하는, 유방암을 앓고 있는 대상체를 코호트로 분류하는 방법에 관한 것이다.
- [0257] 일부 구현예에서, c-MAF 유전자 발현 수준은 환자를 이들의 c-MAF 발현 수준에 기초하여 치료를 위한 그룹으로 계층화하는데 사용된다. 구현예에서, 높은 c-MAF 발현 수준을 갖는 환자에게는 낮은 c-MAF 발현 수준을 갖는 환자와 상이한 치료를 실시한다. 구현예에서, 환자는 이들의 폐경 상태에 기초하여 더 계층화된다. 구현예에서, 환자는 이들이 폐경후인지 또는 폐경후가 아닌지 여부에 기초하여 계층화된다. 특정 구현예에서, 대상체에게, 이들의 c-MAF 발현 수준 및/또는 이들의 폐경후 또는 폐경후가 아닌 상태에 기초하여 상이한 치료를 실시한다. 일부 구현예에서, 계층화된 환자는 골 재형성을 방지 또는 예방하는 제제를 투여받는다. 구현예에서, 골 재형성을 방지 또는 예방하는 제제는 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제이다. 추가 구현예에서, 골 분해를 방지 또는 예방하는 제제는 졸레드론산이다. 다른 구현예에서, c-MAF 유전자 발현 수준은 치료를 위한 환자를 선택하는데 사용된다. 일부 구현예에서, 환자는 임상 시험을 위한 그룹으로 계층화된다.
- [0258] 상기 대상체의 샘플에서 c-MAF의 발현 수준을 정량화하기 위한 수단은 16q23 및 16q22-24 유전자좌 증폭, 획득 및/또는 전좌를 포함하여 이전에 상세히 기재되었다.
- [0259] 또 다른 바람직한 구현예에서, 상기 코호트는 임상 시험을 수행하기 위한 것이다.
- [0260] 바람직한 구현예에서, 샘플은 종양 조직 샘플이다.
- [0261] 하기 실시예는 본 발명을 예시하며 이의 범위를 제한하는 것은 아니다.
- [0262] **실시예**
- [0263] 실시예 1: 전이 마커로서 c-MAF의 검증.
- [0264] AZURE 샘플에서 c-MAF를 시험하기 위해 사용된 IHC 및 FISH 분석을 분석적으로 검증하였다. 분석 검증 파라미터의 개요는 도 1에서 볼 수 있다.
- [0265] MAF FISH 분석을 KREATECH 독점 FISH 기술에 기초하여 인바이오모션(Inbiomotion)의 Kreatech에 의해 생성하였다. 프로브 세트는 2개의 프로브를 포함한다: MAF 16q23 프로브 및 염색체 16 동원체 영역의 대조군으로서 D16Z3 프로브. 분석을 16q23/D16Z3 프로브(Inbiomotion) 및 Kreatech로부터의 포세이돈 조직 소화 키트(Poseidon Tissue Digestion Kit)를 사용하여 검증하였다. 스코어링 기준은 자료표에 그리고 하기와 같이 정의되었다: 환자당 2개의 FISH 평가가능한 결과, 및 가장 높은 값이 선택되었다. 스코어링 알고리즘은 다음과 같았다: 표적 및 동원체 증폭에 대해 20개 세포가 계수되고, 유전자 수가 >2 및 ≤3이면, 50개 세포가 계수됨.
- [0266] MAF IHC 분석은 재조합 단클론 항체(그 전체가 참조로 본원에 포함된 국제 출원 제PCT/IB2015/059562호에 기재

됨)에 기초하였다. 항체를 IHC에 기초하여 선택하였다. 분석을 인바이오모션에 의해 제공된 대조군 표본에 대한 DAKO AS LINK 플랫폼 및 프로토콜을 갖는 MAF RecMab(Inbiomotion)를 사용하여 검증하였다. 스코어링 기준은 자료표에 솔직하게 정의되었고, 환자당 하나의 IHC Hscore가 있었다. 스코어링 알고리즘은 H-스코어였다.

[0267] MAF를 검증하기 위해 환자를 사용한 AZURE 임상 시험(Coleman *et al N Eng J Med* 2011; 365: 1396-1405 and AZURE Current Controlled Trials number, ISRCTN79831382 and ClinicalTrials.gov identifier NCT00072020) 연구 설계의 개요가 도 2에 제공되어 있다. MAF를 규정 준수 조건하에 전향적으로 수집된 환자 종양 샘플을 사용하여 AZURE 시험의 소급 분석에서 검증하였다. 모집된 3360명의 환자 중에서, 1,769명이 종양 조직을 검증하였다(52.4%). 13개의 TMA(조직 마이크로어레이)(각각 150명의 환자 샘플)(1,769명의 환자)가 있었다. 상이한 조직 코어를 사용하는 각 TMA의 4개의 복제본이 있었다(6,326(4x환자)). 1개의 TMA는 1개의 복제본만을 가지고 있었고, 2개의 TMA는 3개의 복제본을 가지고 있었다. H&E 분석(헤마톡실린 및 에오신)(도 3)(6,326)에 기초하여, 3978 코어가 평가가능하였고(63%), 2348은 평가할 수 없었다.

[0268] FISH 분석의 경우, 2,067 FISH 평가가능한 코어(56%)가 있었다. 2개의 FISH 평가가능한 코어를 갖는 865명의 환자(49%)(AZURE 환자의 26%)가 있었고, 1,202명의 환자는 단일 FISH 스코어(68%)를 가지고 있었다. 567명의 환자는 4개의 복제본 중 어느 것에서도 FISH에 의해 평가될 수 없었다(32%).

[0269] IHC 분석의 경우, 병리학자 평가 및 비소팜(VisoPharm) 컴퓨터 보조 평가를 수행하였다. 병리학자 평가의 경우, 2,232 코어가 평가되었다(59%는 HScore에 대해 평가가능함). IHC HScore를 갖는 1390명의 환자(74%)가 있었고, 이는 총 AZURE 환자의 39%에 해당한다. 4개의 복제본 중 어느 것에서 IHC에 의해 평가할 수 없는 460명의 환자가 있었다. 비소팜 컴퓨터 보조 IHC 염색 평가에서, HScore 및 해당 평균 염색에 대해 병리학자에 의해 스코어된 1309명 중 1299명의 IHC 환자가 평가되었다. MAF 양성률은 도 4A 및 4B에서 볼 수 있다.

[0270] 컷오프 최적화된 FISH 데이터는 도 5에서 볼 수 있으며, 이는 문헌[Vipery *et al JCO* 2014 DOI: 10.1200/JCO.2013.53.3604]에 기재된 바와 같이 계산되었다.

[0271] FISH 분석을 위한 분자 변수와 관련하여: MAF 카피 수: 수치 및 범주(+/- 컷오프  $\geq 2.5$ ) 변수; 증폭된 핵 MAF의 %(MAF CN $>2$ ):수치+범주(컷오프 TBD). IHC 분석의 경우: IHC H-스코어: 수치+범주(컷오프 $\geq 200$ ), IHC OD: 수치+범주(컷오프 TBD). 하기 임상 변수를 분석하였다: 무병 생존(DFS), 침습성 무병 생존(IDFS), 전체 생존(OS), 골에서의 첫 재발, 임의의 시간에 골 재발, 골에서 첫 DFS 사건까지의 시간, 골에서가 아닌 첫 DFS 사건까지의 시간, 졸레드론산 처리에 대한 반응.

[0272] MAF FISH 예후 값의 분석에서, 대조군 및 치료군의 환자를 초기 분석을 위해 모았다. 분석될 각 변수에 대한 최적화된 컷오프를 지시될 때 사용하였다. 경쟁 사건으로서 사망을 골 전이까지의 시간, 임의의 시간에 사용하였다. 하기 임상 변수를 분석하였다: 골 전이까지의 시간(임의의 시간), 골 전이까지의 시간(첫 사건으로서), IDFS(동측 침습성 유방 종양 재발, 국소 침습성 유방암 재발, 전이 질환-유방암 포함, 유방암, 반대쪽 침습성 유방암, 제2 원발성 비유방 침습성 암을 포함한 임의의 원인에 기인한 사망), 및 전체 생존.

[0273] 도 6은 모든 환자가 분석되었을 때 골 전이에 대한 위험이 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.3$ )( $p = 0.007$ )에서 40% 더 높았음을 보여준다(경쟁 사건으로서의 사망이 골 전이까지의 시간(임의의 시간)에 사용됨). 도 7은 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.3$ )( $p=0.02$ , 다변량 분석)에서 첫 전이 부위로서 골에 대해 42% 더 높은 위험이 있었음을 보여준다. 도 8에서 볼 수 있는 바와 같이, IDFS에 대한 위험은 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.2$ )( $p=0.0002$ , 다변량 분석)에서 38% 더 높았다(2년까지 매우 이른 분리가 있는 다음 곡선은 평행함). 도 9는 전체 생존이 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.2$ )( $p=0.02$ , 다변량 분석)에서 33% 더 낮았음을 보여준다(전체 생존에 대해 3년까지 이른 분리가 있었음).

[0274] 도 10에서 볼 수 있는 바와 같이, 대조군의 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.3$ )에서 첫 재발로서 골까지 더 짧은 시간이 있었고, 다변량 분석( $HR=0.47$ ,  $p=0.013$ )에서 유의한 차이가 있었다.

[0275] 도 11에서 볼 수 있는 바와 같이, 처리되지 않은 MAF 비양성 환자와 비교하여 처리되지 않은 MAF 양성 환자( $\geq 2.2$ )( $HR=0.72$ ,  $p=0.08$ , 다변량 분석)에서 재발까지의 짧은 시간의 경향이 있었다. 도 12는 AZURE 대조군 환자 단독에서 FISH에 의한 IDFS까지의 시간(골 재발 제외)을 보여준다. 2.2의 최적화된 컷오프가 사용되었다.

[0276] 요약하면, 이들의 MAF FISH 수준에 따라 환자를 계층화하기 위한 미리 정의된 컷오프는 최적화된 컴퓨터 기반의 정의된 컷오프와 매우 근접하였다. 임계 효과는 적절한(관련된) 치료(또는 치료의 방지)를 위한 명확한 그룹의 묘사를 허용한다. 대조군의 MAF FISH 양성 환자의 예후를 기초로, 첫 전이로서 골까지의 더 짧은 시간( $HR=0.53$ , 다변량  $p=0.03$ ) 및 재발(침습성 질환)까지의 더 짧은 시간의 경향( $HR=0.72$ ,  $p=0.08$ )을 관찰하였다.

- [0277] 실시예 2: MAF FISH 계층화에 따른 졸레드론산 처리 효과의 평가.
- [0278] 실시예 1에 기재된 AZURE 연구로부터의 대조군 및 졸레드론산 처리군을 평가하여 MAF 계층화된 환자에 대한 졸레드론산 처리의 효과를 결정하였다.
- [0279] 도 13(Coleman *et al Lancet Oncol* 2014; 15: 997-1006, 도 3)은 Azure 시험의 대조군 및 졸레드론산 처리군의 환자에서 골 전이까지의 시간을 보여준다. 도 14는 첫 사건으로서 골 전이까지의 시간의 평가를 보여준다. 도 14에서 볼 수 있는 바와 같이, 대조군의 MAF FISH 양성( $\geq 2.3$ ) 환자에서 첫 재발로서 골까지의 더 짧은 시간이 있었고, 다변량 분석(HR=0.47,  $p=0.013$ , 다변량 분석)에서 유의한 차이가 있었다. 졸레드론산 처리는 MAF 양성 및 비양성 환자 사이의 재발의 첫 부위로서 골의 발생률의 차이를 감소시켰고, 졸레드론산으로 처리된 MAF 비양성 환자와 비교하여 MAF 양성에서 임의의 시간에 골 전이의 유의한 차이는 없었다.
- [0280] 도 15(Coleman *et al Lancet Oncol* 2014; 15: 997-1006, 도 2)는 AZURE 시험에서 대조군과 졸레드론산 처리 환자 사이의 무병 생존(DFS) 및 침습성 무병 생존(IDFS)의 분석을 보여준다.
- [0281] 도 16은 대조군 및 졸레드론산 처리 환자 사이의 원격 재발까지의 시간을 보여준다. 처리되지 않은 MAF 양성 환자( $\geq 2.2$ )(HR=0.72,  $p=0.08$ , 다변량 분석)에서 원격 재발까지의 더 짧은 시간의 경향이 있었다. 졸레드론산 처리군(HR=0.52,  $p<0.001$ , 다변량 분석)에서 MAF 양성 환자에서 재발(침습성 질환)까지 유의하게 더 짧은 시간이 있었다. 졸레드론산 처리는 처리되지 않은 MAF 양성 환자와 비교하여 IDSF를 악화시켰다.
- [0282] 도 17은 치료에 따른 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간)을 보여준다. 경쟁 사건으로서의 사망이 골 전이까지의 시간(임의의 시간)에서 사용된다. 대조군(HR=0.72,  $p=0.18$ )의 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.3$ )에서 골 전이의 유의하지 않은 증가된 위험이 있었다. 졸레드론산 처리는 MAF FISH 양성 환자와 비교하여 MAF FISH 비양성 환자( $< 2.3$ )(HR=0.52,  $p=0.01$ )에서 임의의 시간에 골 전이의 위험을 유의하게 감소시켰다.
- [0283] 도 18은 MAF 카피 수(2.5의 미리 지정된 MAF 컷오프에 따라)에 따른 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간)을 나타낸다. 경쟁 사건으로서의 사망이 골 전이까지의 시간(임의의 시간)에서 사용된다. 졸레드론산 처리는 MAF FISH 비양성 환자(HR=0.65,  $p=0.03$ )에서 골 전이의 위험을 유의하게 감소시켰다. 졸레드론산 처리는 MAF 양성 환자에서 골 전이의 증가된 위험의 경향을 나타내었다. 차이는 유의하지 않았다(HR=1.54,  $p=0.22$ ).
- [0284] 도 19는 환자가 MAF에 따라 계층화되지 않은 경우 AZURE 시험의 폐경 상태에 의한 IDFS를 나타낸다(Coleman *et al Lancet Oncol* 2014; 15: 997-1006, 도 5).
- [0285] 도 20은 폐경후 환자에서 MAF 카피 수(2.5의 미리 지정된 컷오프에 따른 데이터)에 따른 경쟁 사건으로서 사망을 사용한 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간)을 나타낸다. MAF 양성 폐경후 환자( $> 2.5$ )에서의 처리 결과는 골 전이 사건의 수를 감소시키는 경향을 나타내었다(HR=0.46,  $p=0.26$ , 제한된 수의 사건을 가짐). 졸레드론산으로 처리된 MAF 비양성 폐경후 환자에서의 처리 결과는 MAF 양성 폐경후 환자보다 덜 효과적이었으며(HR=0.63 대 HR=0.46, 제한된 수의 사건을 가짐), 이는 MAF 양성 폐경후 환자에서 골 전이를 예방하는 졸레드론 치료의 분명한 이점을 시사한다.
- [0286] 도 21은 폐경후가 아닌 환자에서 MAF 카피 수(2.5의 미리 지정된 컷오프에 따른 데이터)에 따른 골 전이 사건까지의 시간(임의의 시간)을 나타낸다. MAF 양성 폐경후가 아닌 환자에서 골 전이 사건을 증가시키는 유의하게 더 나쁜 졸레드론산 처리 결과가 있었다(HR=2.44,  $p=0.045$ ). MAF 비양성 폐경후가 아닌 환자에서 졸레드론산 처리로 더 양호한 결과의 경향이 있었다(HR=0.66,  $p=0.08$ ).
- [0287] 도 22는 폐경후 여성의 골 전이를 제외한, 졸레드론산 처리군 및 대조군의 IDFS를 나타낸다. 도 22에서 보는 바와 같이, 졸레드론산을 이용한 폐경후 환자의 처리는 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.2$ )의 IDFS(골 제외)를 유의하게 개선하여 침습성 질환 사건의 수를 감소시켰고, MAF 비양성 환자의 IDFS(골 제외)에서는 차이가 없었다.
- [0288] 도 23은 폐경후가 아닌 여성의 골 전이를 제외한, 졸레드론산 처리군 및 대조군의 IDFS를 나타낸다. 도 23에서 보는 바와 같이, 졸레드론산을 이용한 폐경후가 아닌 여성의 처리는 MAF FISH 양성 환자( $\geq 2.2$ )의 IDFS(골 제외)를 유의하게 악화시켰고, MAF FISH 비양성 환자의 IDFS(골 제외)에서는 차이가 관찰되지 않았다.
- [0289] 도 24는 처리군에 의한 전체 생존(OS)을 나타낸다. 졸레드론산을 이용한 MAF FISH 양성 환자의 처리는 OS에 유의하게 영향을 미쳤다.
- [0290] 도 25는 AZURE 대조군에서 무병 생존(DFS)의 예후를 나타낸다. 도 25에서 볼 수 있는 바와 같이, 처리되지 않은 MAF 양성 폐경후 환자에서 유의하게 더 낮은 무병 생존이 있다. 무병 생존과 관련하여: 다변량 분석에서 FISH

상태 및 폐경 상태 상호작용 공변량의 유의성(대조군 환자에서);  $Chi^2 = 6.23$ ,  $p$  값 = 0.013. 도 26은 AZURE 대조군 환자에서 전체 생존의 예후를 나타낸다. 처리되지 않은 MAF 양성 폐경후 환자에서 더 짧은 OS의 경향이 있다. OS와 관련하여: 다변량 분석에서(대조군 환자에서) FISH 상태 및 폐경 상태 상호작용 공변량의 유의성;  $Chi^2 = 3.62$ ,  $p$  값 = 0.057. 도 27은 MAF FISH 값에 따른 DFS에 대한 졸레드론산 처리의 영향을 보여준다. 도 27에서 볼 수 있는 바와 같이, 졸레드론산 처리는 MAF 양성 및 음성 환자 사이에 상이한 DFS 결과를 생성하며, 이러한 차이는 폐경후 및 폐경후가 아닌 여성에서 발생한다.

[0291] 도 28은 폐경후 환자에 대한 MAF FISH 값에 따른 DFS에 대한 졸레드론산 처리의 영향을 보여준다. 도 28에서 볼 수 있는 바와 같이, 졸레드론산 처리는 MAF 음성 폐경후 환자에서 더 양호한 DFS 결과를 생성한다(HR = 0.56, (95% CI., 0.33-0.95). 도 29는 폐경후가 아닌 여성의 DFS에 대한 졸레드론산 처리의 영향을 보여준다. 도 29에서 볼 수 있는 바와 같이, 졸레드론산 처리는 MAF 양성 폐경후가 아닌 환자에서 최악의 DFS 결과를 생성한다. 도 30은 MAF FISH 값에 따른 전체 생존에 대한 졸레드론산 처리의 영향을 보여준다. 도 30에서 볼 수 있는 바와 같이, 졸레드론산 처리는 MAF 양성 환자에서 유의하게 더 짧은 전체 생존을 생성한다. 이러한 차이는 폐경 후 및 폐경후가 아닌 여성에서 발생한다. 도 31은 폐경후 환자에서 MAF FISH 수준에 따른 전체 생존에 대한 졸레드론산 처리의 영향을 보여준다. 도 31에서 볼 수 있는 바와 같이, 졸레드론산 처리는 MAF 음성 폐경후 환자에서 더 양호한 전체 생존 결과의 경향을 보여주지만(HR = 0.56, (95% CI., 0.31-1.01)), 졸레드론 FISH 양성 환자에서 더 큰 효과를 보여준다. 도 32는 MAF FISH 값에 따른 폐경후가 아닌 여성의 전체 생존에 대한 졸레드론산 처리의 영향을 보여준다. 도 32에서 볼 수 있는 바와 같이, 졸레드론산 처리는 MAF 양성 폐경후가 아닌 환자에서 최악의 전체 생존 결과를 생성한다.

[0292] 폐경 상태에 따라 파손된 DFS 및 OS에 대한 환자의 위험에 대한 관심있는 유전자(GOI) MAF의 예측값의 요약이 표 1에 나타나 있다.

[0293] 표 1. 폐경 상태에 기초한 MAF의 예측력의 위험 비율

	위험 비율(HR)	HR 에 대한 95% CI 의 하한	HR 에 대한 95% CI 의 상한
GOI 상태: 폐경전 환자에 대한 음성 대 양성	3.134	0.913	10.760
GOI 상태: 폐경 이래 5년 이하의 환자에 대한 음성 대 양성	0.667	0.202	2.200
GOI 상태: 폐경 이래 5년 초과 환자에 대한 음성 대 양성	0.552	0.280	1.089
GO 상태: 월경 상태 미지의 환자에 대한 음성 대 양성	0.656	0.121	3.550

[0294]

[0295] 볼 수 있는 바와 같이, MAF는 더 짧은 DFS 또는 최악의 OS의 위험에 있는 폐경후, 미지 및 폐경전후 환자에서 예측적이다. 그러나, 폐경전 여성에서, MAF 양성 환자는 적은 위험에 있는 사람들이며 더 긴 DFS 및 더 양호한 OS를 가질 가능성이 높다.

[0296] 요약하면, 대조군의 MAF FISH 양성 대 비양성 환자에서 재발의 첫 부위로서 골 전이의 유의한 증가된 위험이 있고(컷오프=2.3으로 HR=0.47,  $p=0.013$ ), 이 차이는 졸레드론산 처리시 감소된다. 또한, 졸레드론산 처리는 MAF FISH 비양성 환자에서 임의의 시간에 골 전이의 위험을 유의하게 감소시켰다(HR=0.65,  $p=0.03$ , 컷오프=2.5). 졸레드론산 처리는 MAF 양성 환자에서 임의의 시간에 골 전이의 증가된 위험을 나타낸다. 차이는 유의하지 않다(HR=1.54,  $p=0.22$ , 컷오프= 2.5). 이 효과는 폐경 상태에 의해 유도되고 폐경후가 아닌 그룹에서 가장 큰 효과를 나타낸다. 졸레드론산은 MAF FISH 양성 폐경후 환자의 결과를 유의하게 개선한다. 그러나, 졸레드론산은 MAF FISH 양성 폐경후가 아닌 환자의 결과를 악화시킨다. 효과는 졸레드론산 처리시 침습성 질환의 증가(감소된

IDFS)에 의존한다(골로의 전이의 예방이 폐경후가 아닌 환자에서 다른 곳에서 전이를 촉진할 수 있고 결국 이차 사건으로서 골로의 전이를 야기할 수 있음을 시사함).

[0297] 졸레드론산으로 처리되지 않은 MAF FISH 양성 환자는 골 전이 및 침습성 질환의 더 높은 위험(골 사건을 포함 및 제외한 감소된 IDFS)을 갖는다. 졸레드론산으로 처리된 환자에서, MAF 양성 환자는 임의의 시간에 골 전이, IDFS(골 사건 포함 및 제외) 및 전체 생존의 측면에서 처리되지 않은 환자와 비교하여 더 나쁜 결과를 갖는다. 졸레드론산으로 처리된 MAF 음성 환자는 임의의 시간에 골 전이 위험과 관련하여 처리되지 않은 환자와 비교하여 더 양호한 결과를 갖는다. 폐경후 여성과 관련하여, 졸레드론산으로 처리된 MAF 양성 환자에서 IDFS(골 제외)와 관련하여 더 양호한 결과가 있다. 폐경후가 아닌 여성에서, 졸레드론산으로 처리된 MAF 양성 환자에서 IDFS(골 제외)와 관련하여 더 나쁜 결과가 있다.

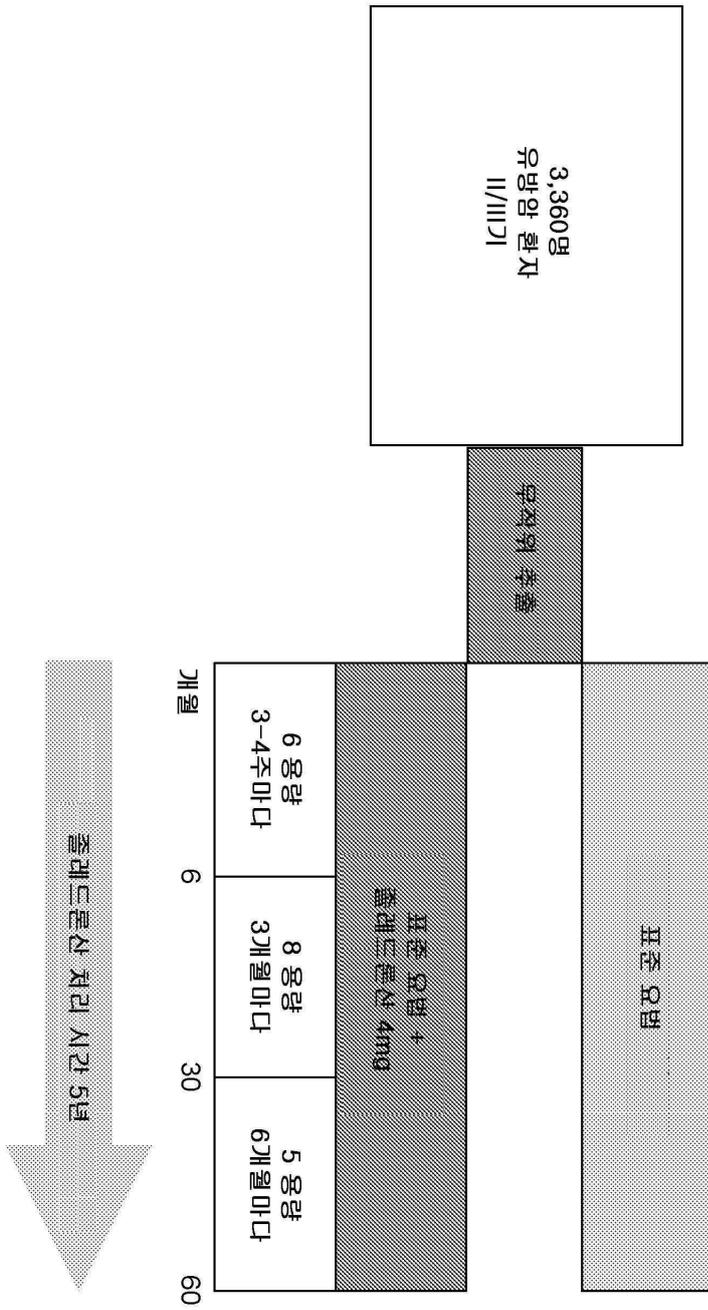
[0298] 모든 간행물, 특허, 특허 출원, 인터넷 사이트, 및 본원에 언급된 폴리뉴클레오타이드 및 폴리펩타이드 서열 모두를 포함하는 등록 번호/데이터베이스 서열은 마치 개별 간행물, 특허, 특허 출원, 인터넷 사이트, 또는 등록 번호/데이터베이스 서열이 구체적으로 그리고 개별적으로 참조에 의해 포함되는 것으로 표시된 것과 같은 정도로 모든 목적을 위해 그 전체가 참조로 본원에 포함되어 있다.

도면

도면1

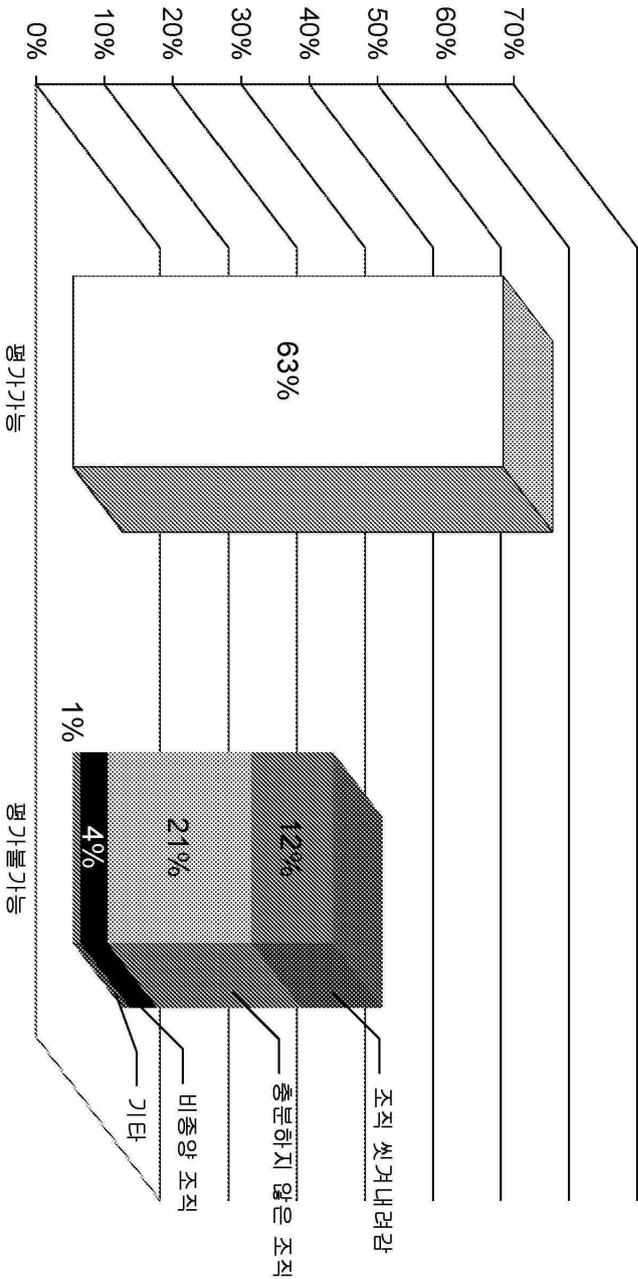
<b>MAF-FISH 분석 검증 파라미터</b>		<b>MAF-IHC 분석 검증 파라미터</b>	
분석된 상이한 포문브		Dako Autostainer Link 대 Ventana Benchmark Ultra	
롯데간편차			
분석내 반복가능성 (동일한 실행, 동일한 사람이 평가)			
분석내 반복가능성 (별개의 실행, 동일한 사람이 평가)			
바이오마커의 안정성/보관			
중간 정밀도 (2명의 개별 기술자가 분석을 수행)		중간 정밀도 (염색은 2개의 상이한 장치에서 수행됨)	
포문브 농도, 활성화 온도		항체 농도	

AZURE: 연구 디자인  
 발췌 2003년 9월 - 2013년 2월



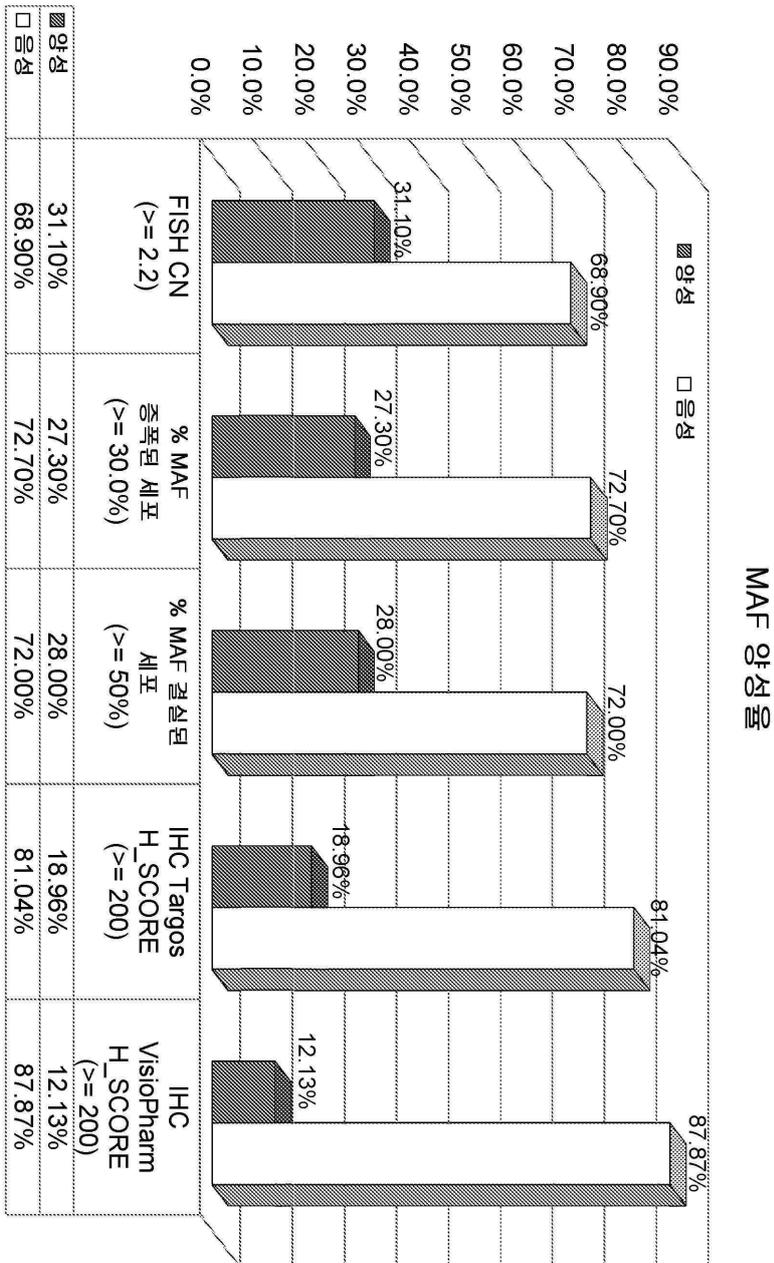
도면2

### H&E 분석 AZURE 샘플

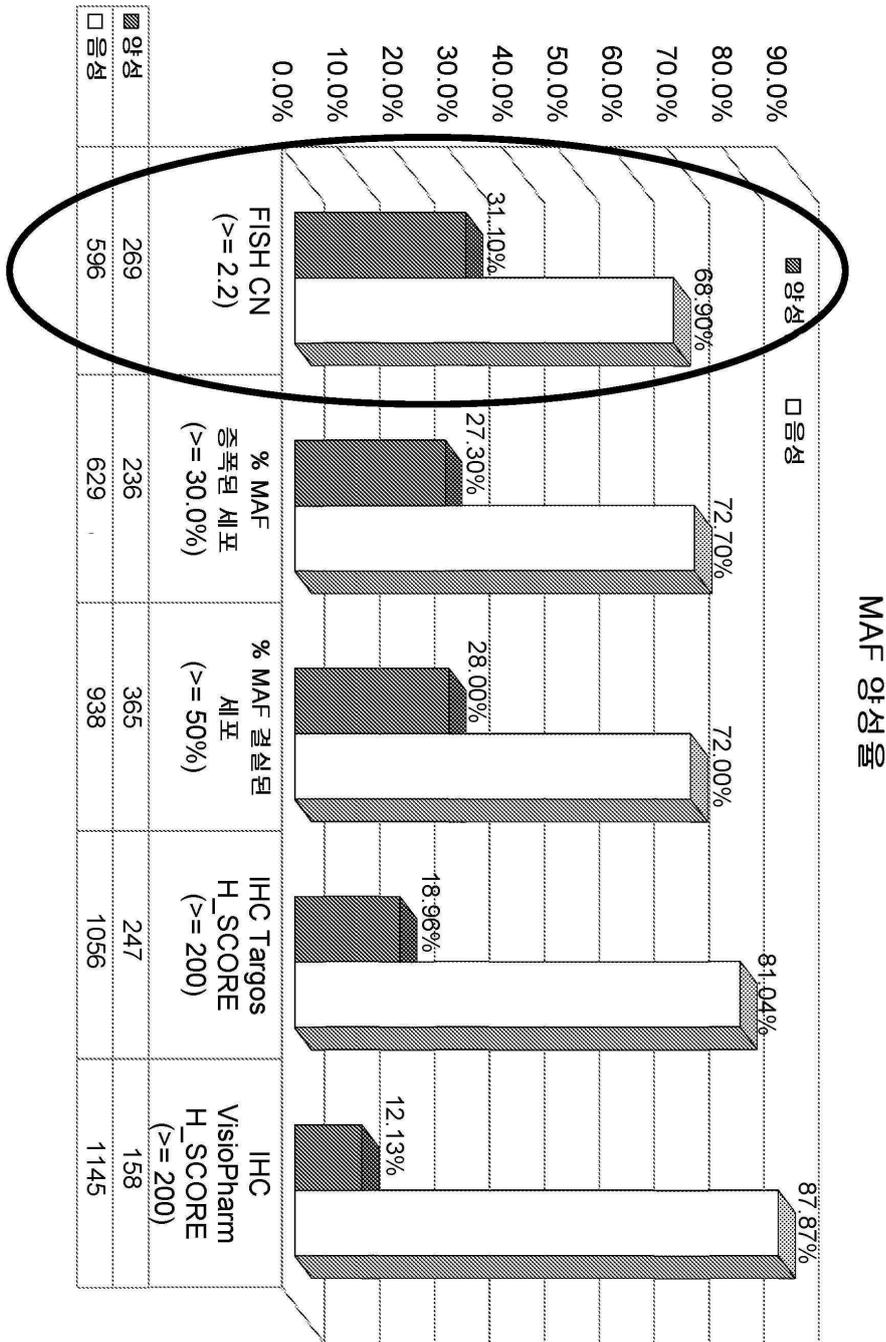


도면3

도면4a

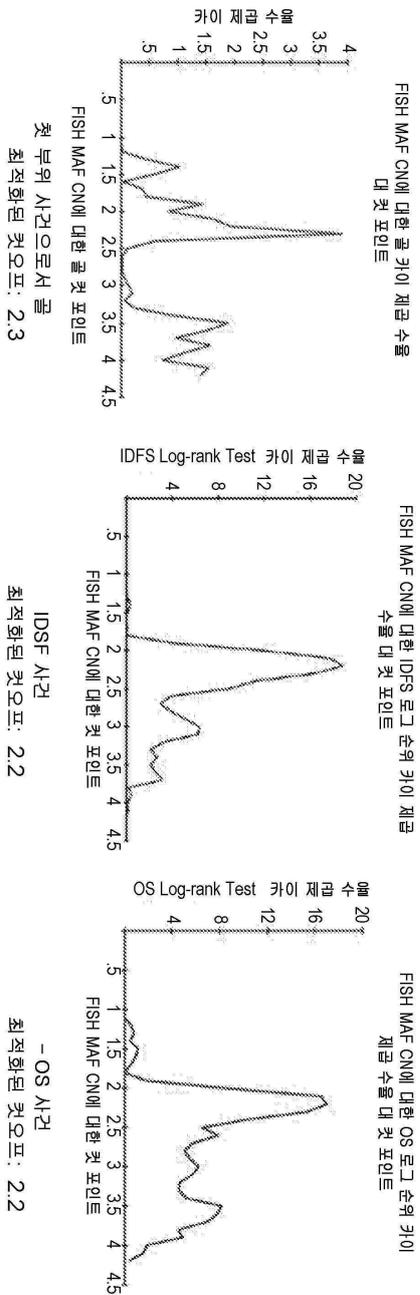


도면4b



미리 정의된 컷오프 >=2/5

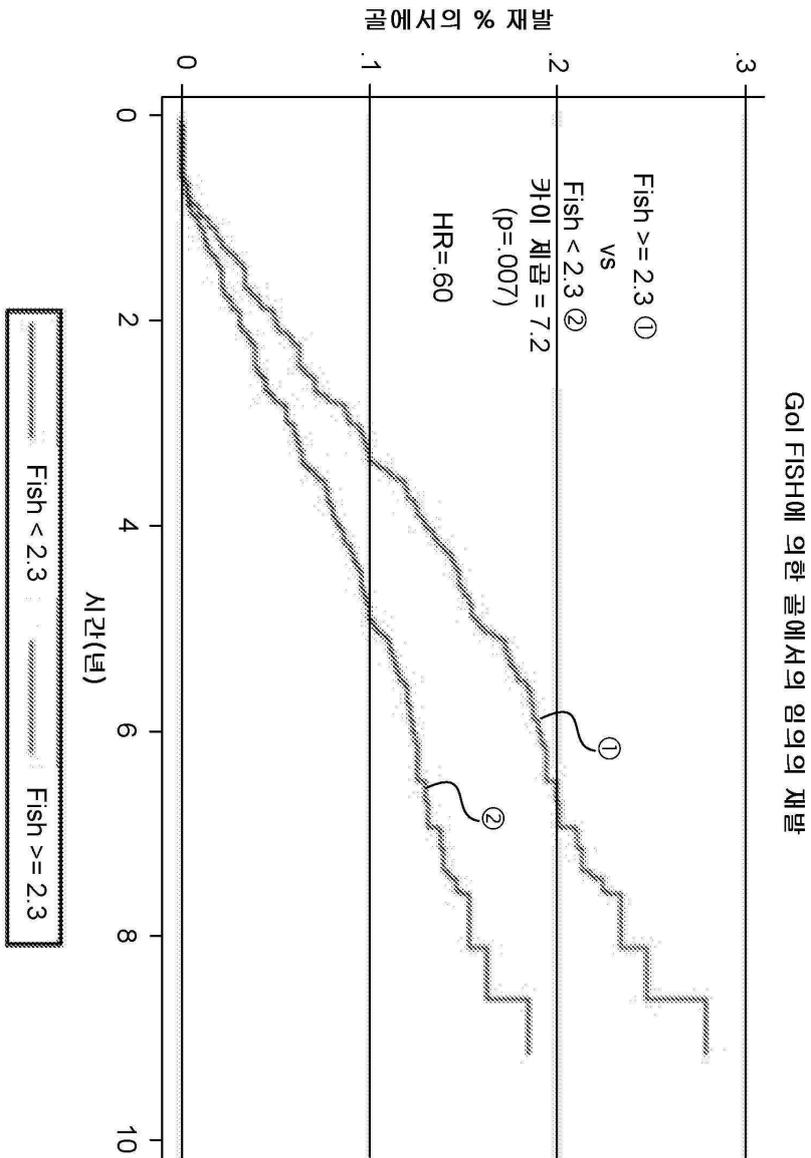
각 분석에서 컴퓨터 방법에 의한 최적화된 컷오프 (분석된 모든 환자를 사용):



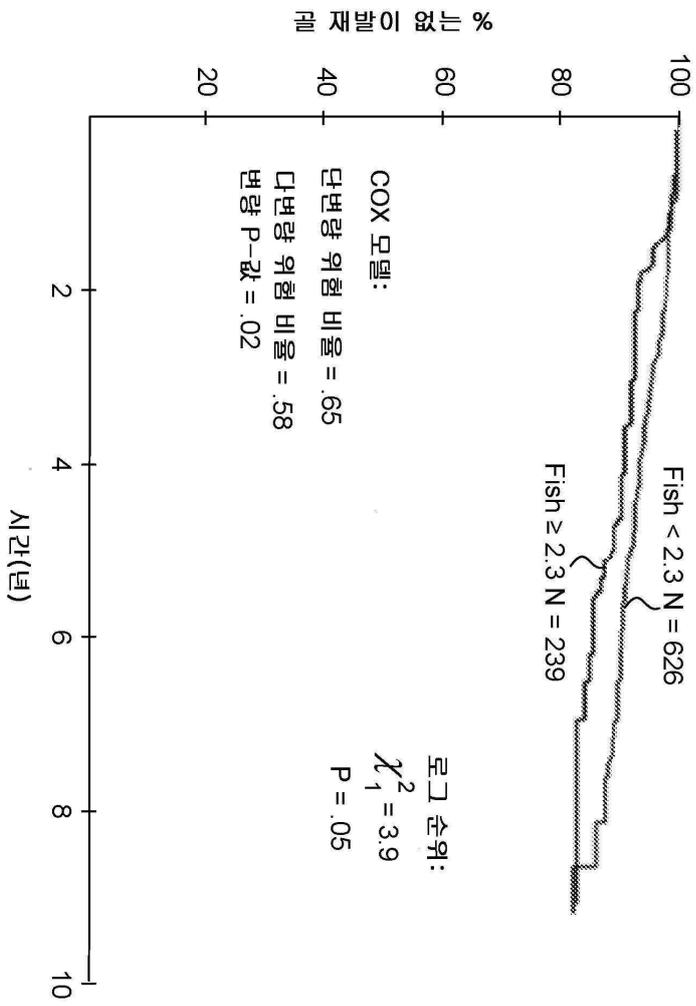
도면5

- 컷포인트 상의 날카로운 급등은 이것이 실제로 임계 효과임을 나타냄
- 반대는 동급 언덕 모양일 것이며, 이는 바이오마커에서의 모든 중분 변화에 대해 예후의 개선(또는 악화)가 있었음을 나타낼 것임
- 임계 효과는 적절한(관련된) 치료(또는 치료의 회피)를 위한 명확한 그룹을 묘사하게 해줌
- 미리 정의된 컷오프는 최적화된 컷오프에 근접함

도면6

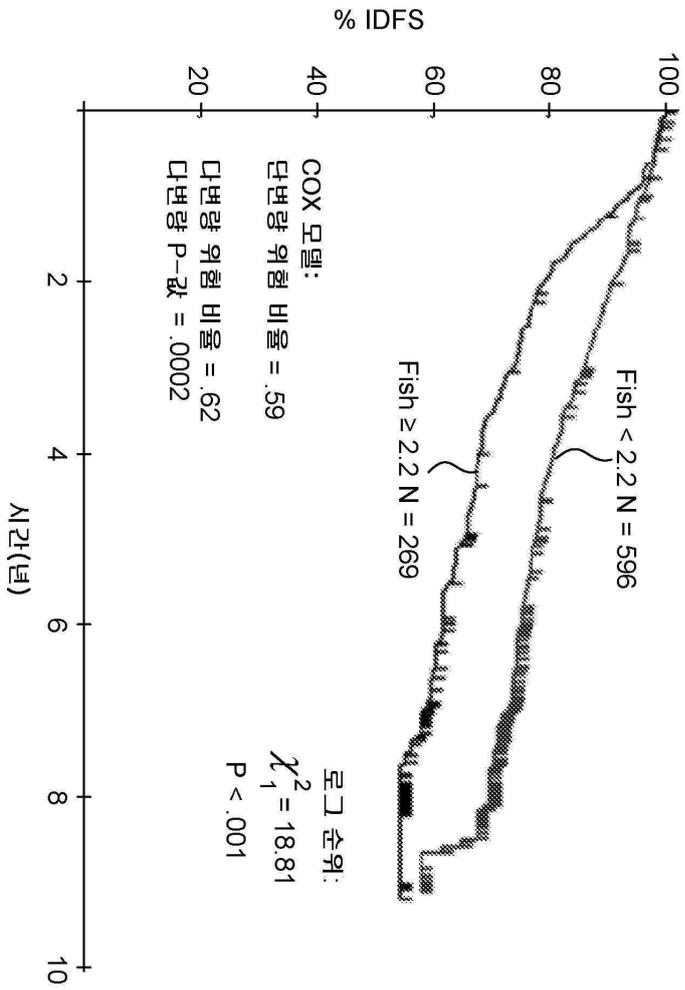


2.3의 골 최적화된 컷포인트를 사용한  
Fish에 의한 골 재발까지의 시간



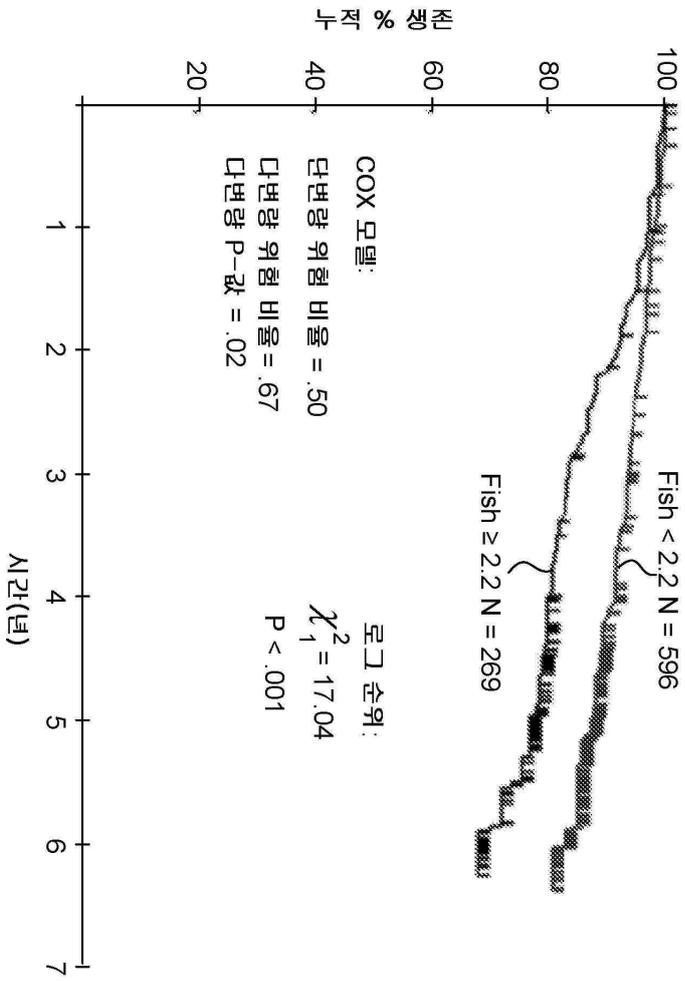
도면7

Fish에 의한 IDFS: 2.2의 최적 컷포인트



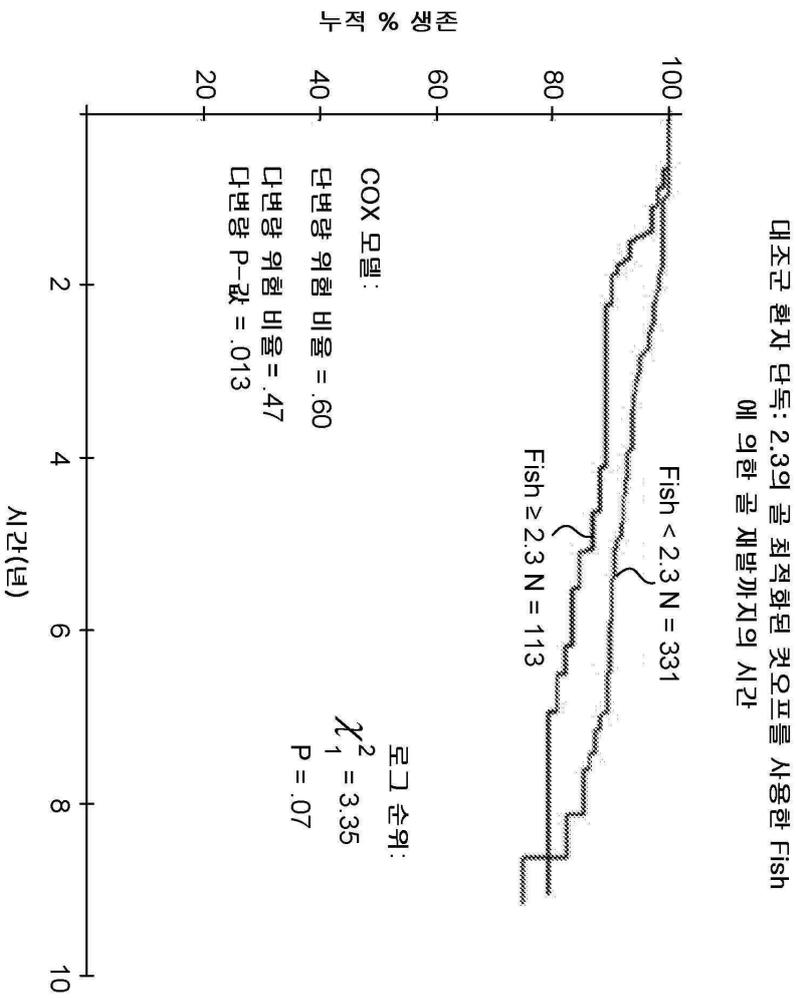
도면8

Fish에 의한 OS 2.2의 최적화된 컷포인트

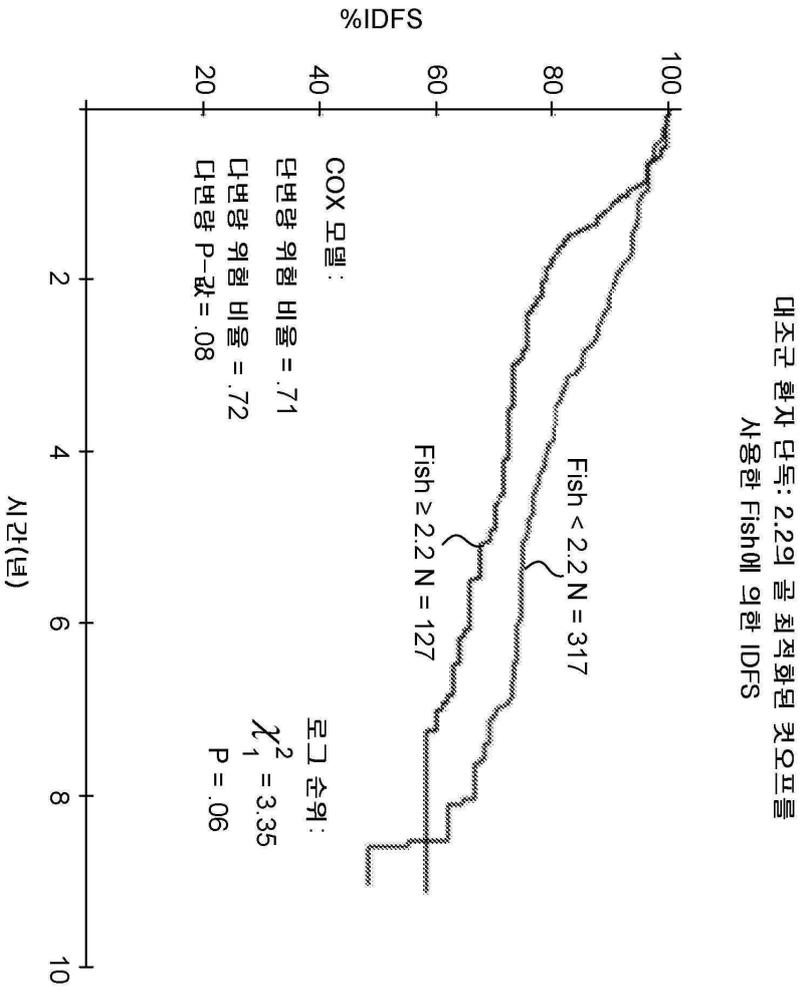


도면9

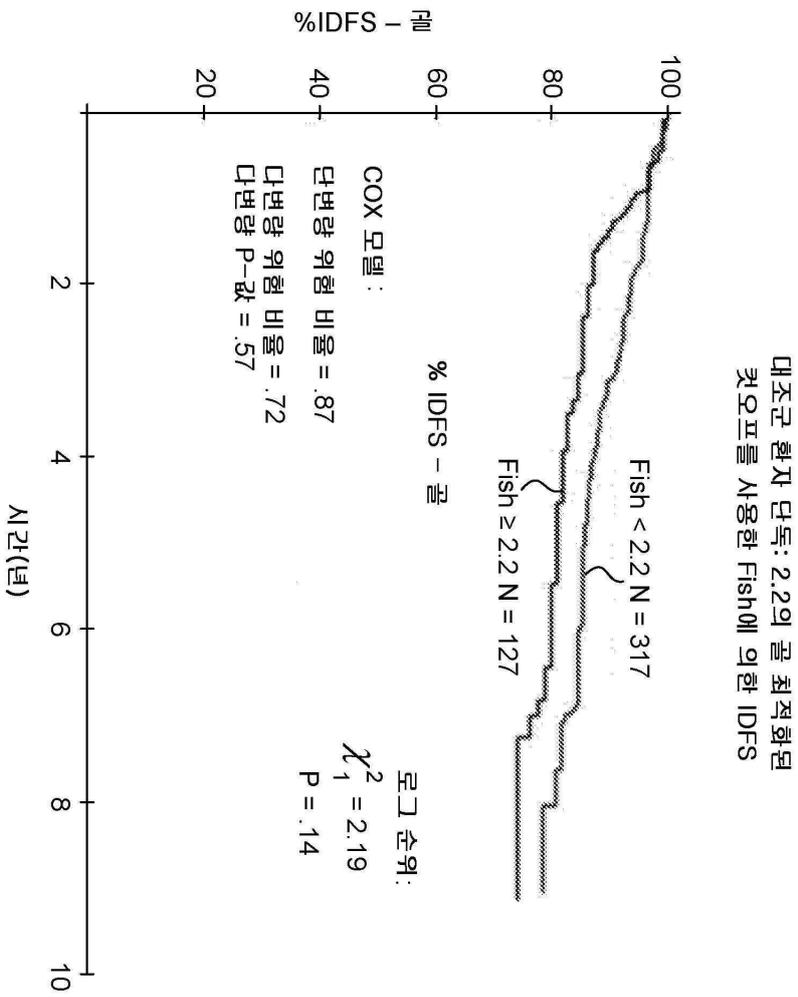
도면10



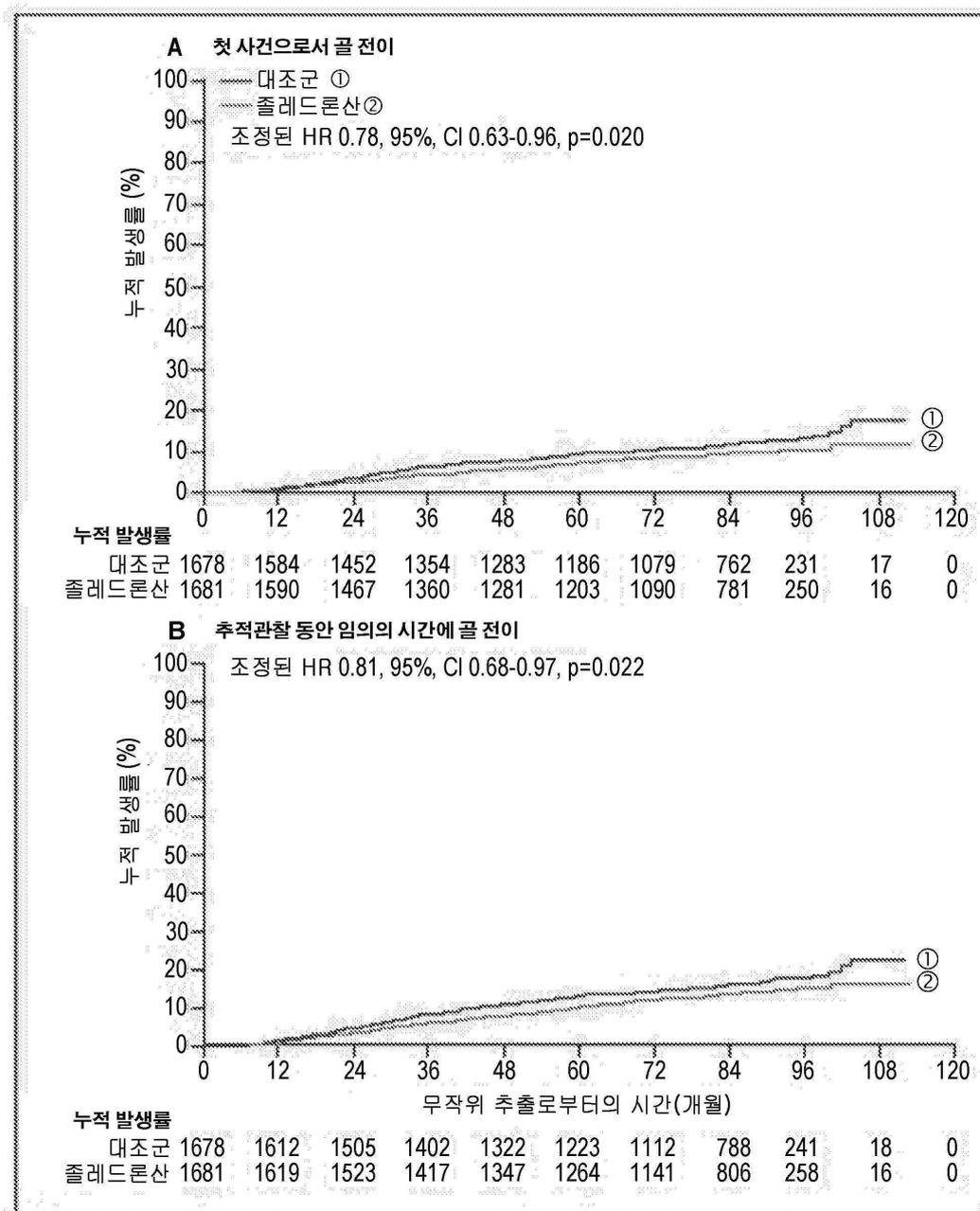
도면11



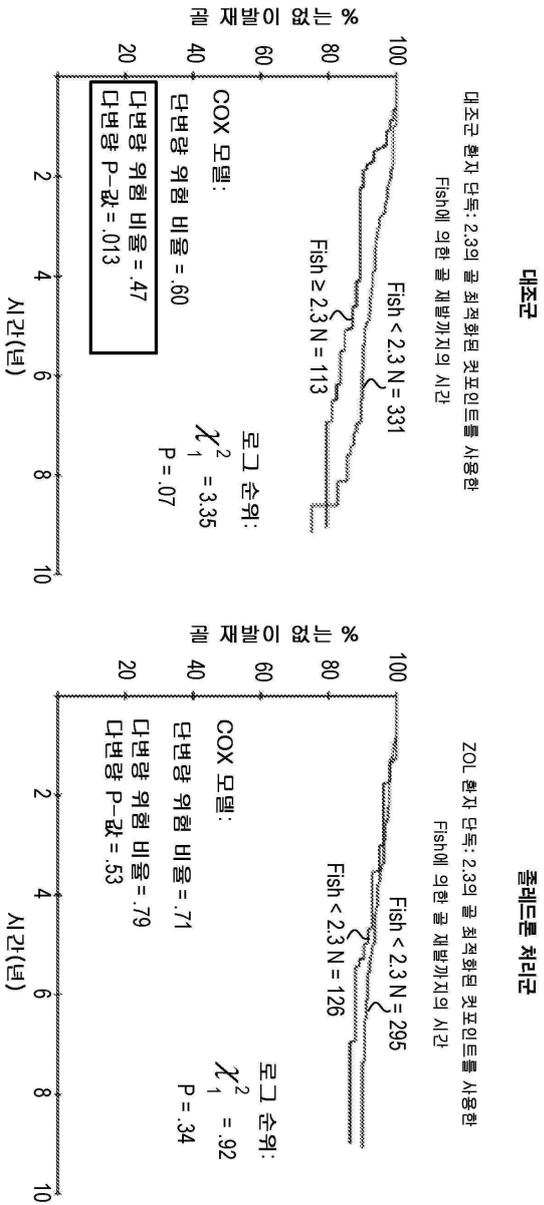
도면12



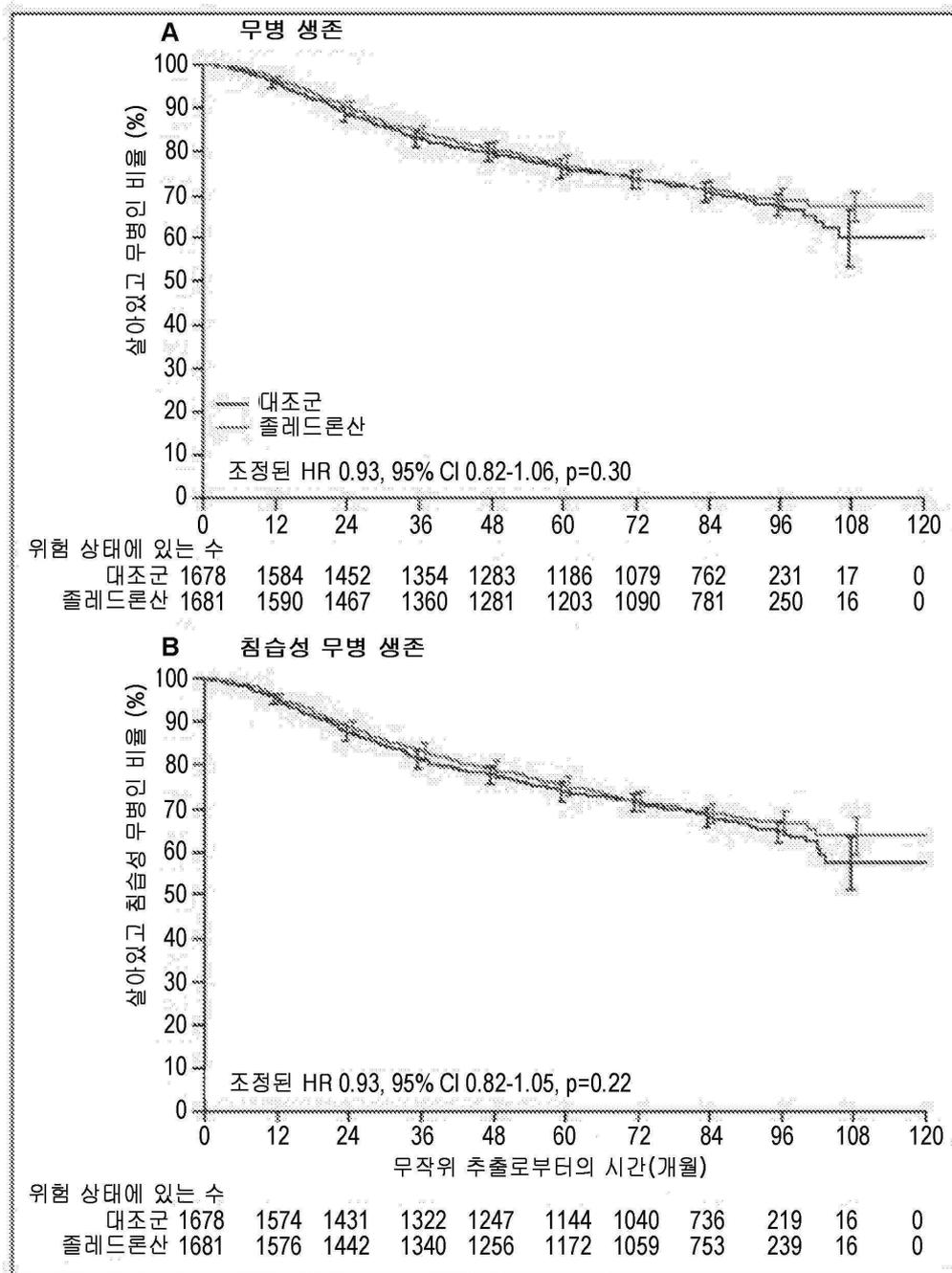
도면13



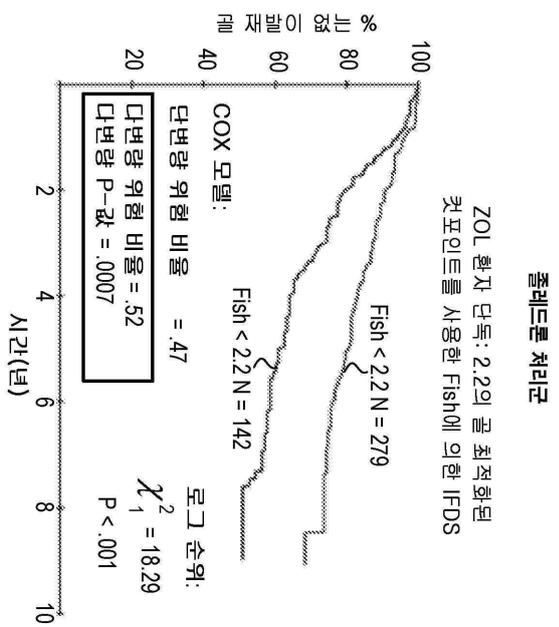
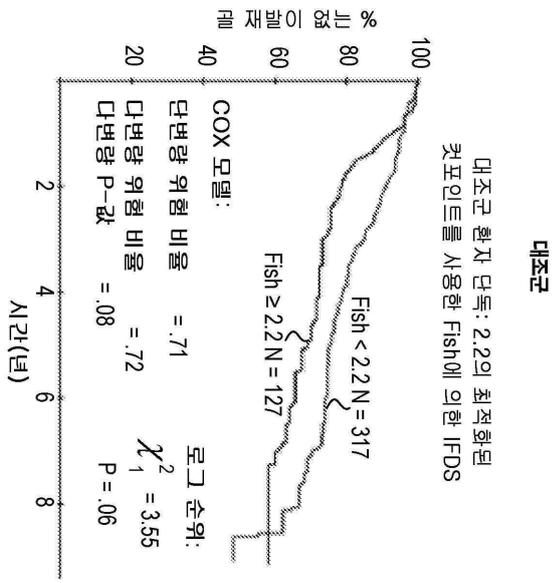
도면14



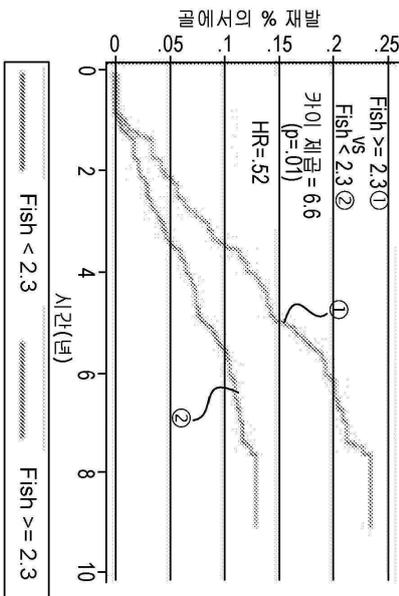
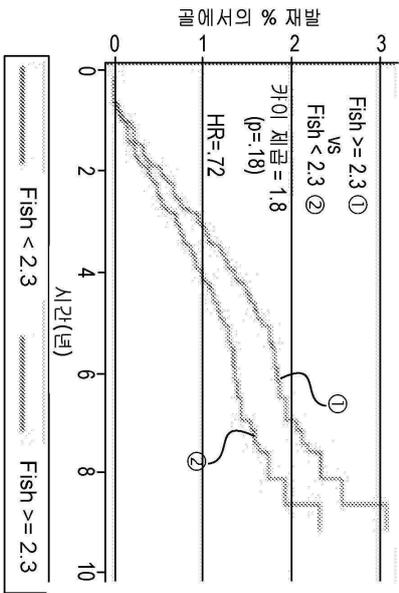
도면15



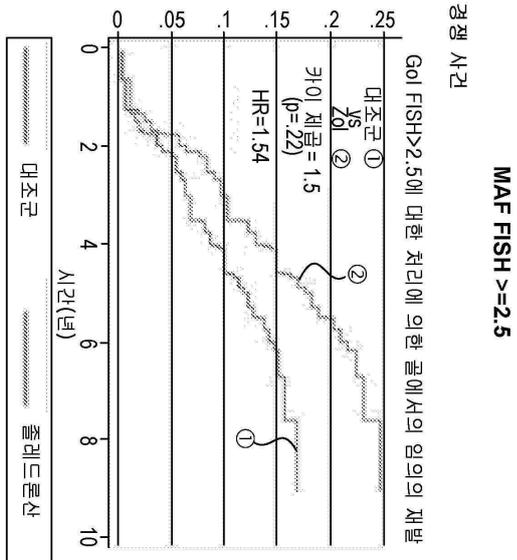
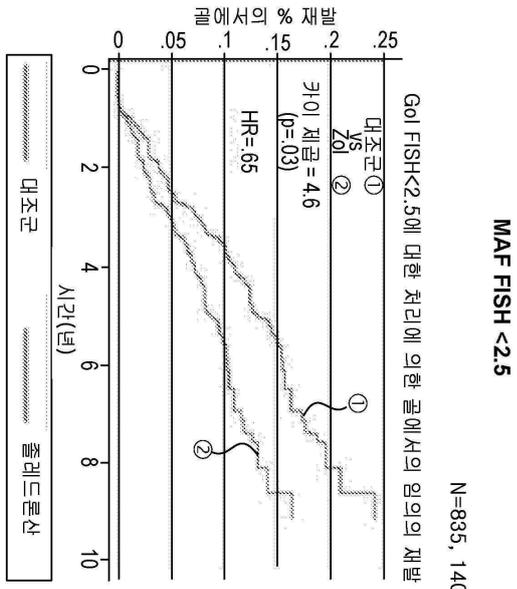
도면16



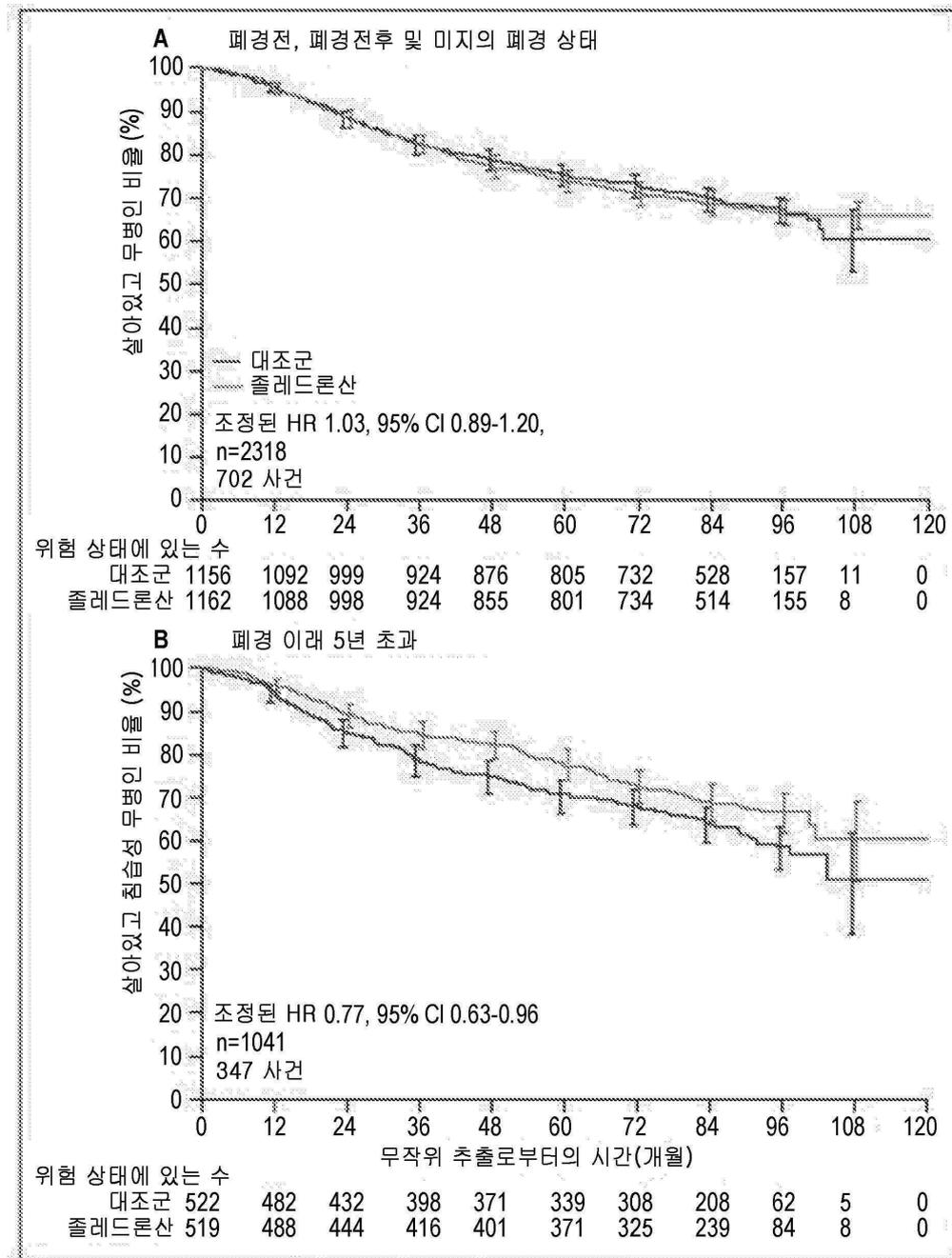
도면17



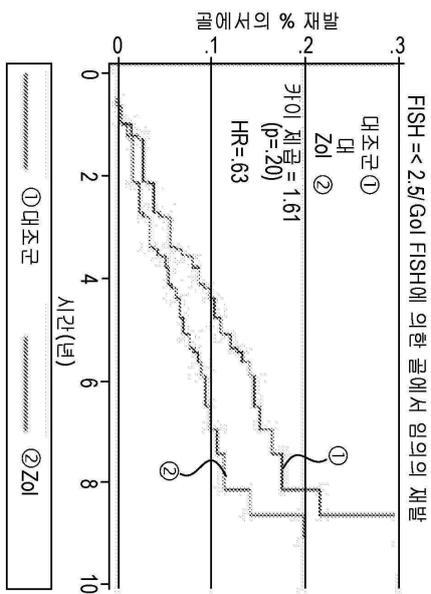
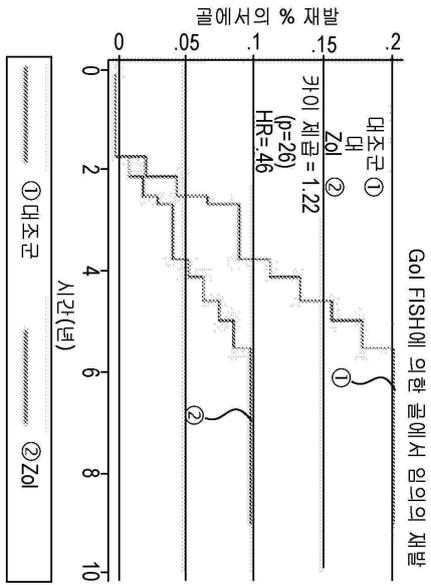
도면18



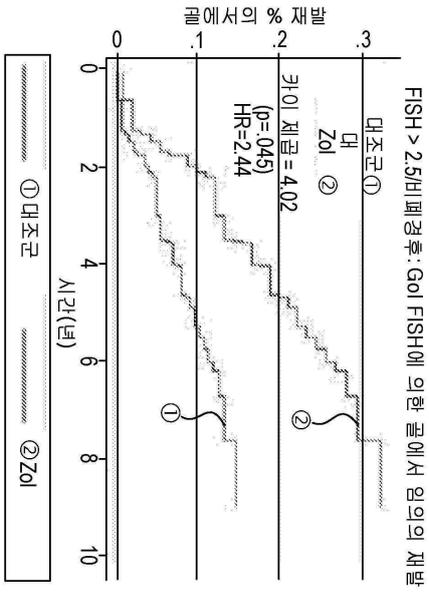
도면19



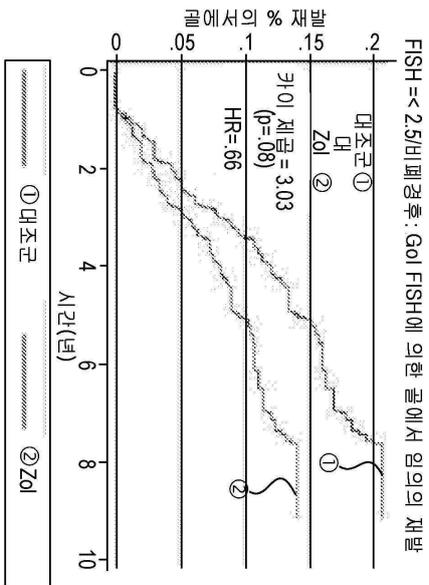
도면20



도면21

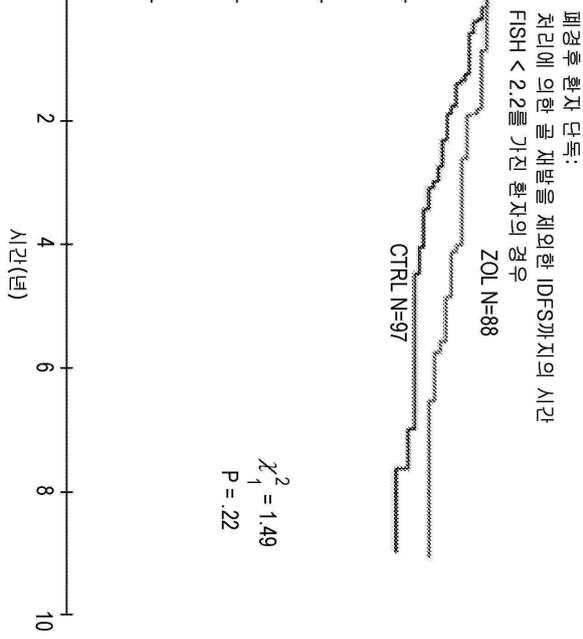
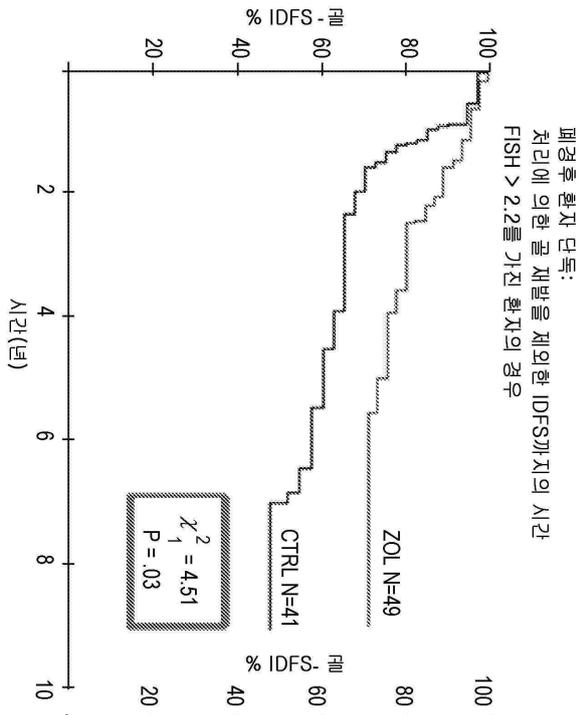


MAF FISH >2.5

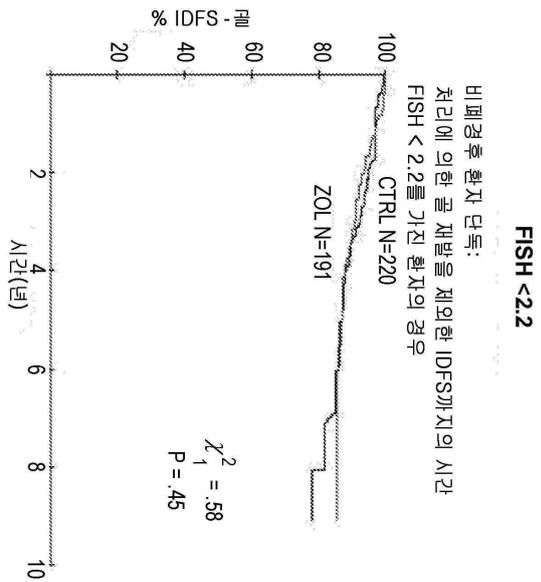
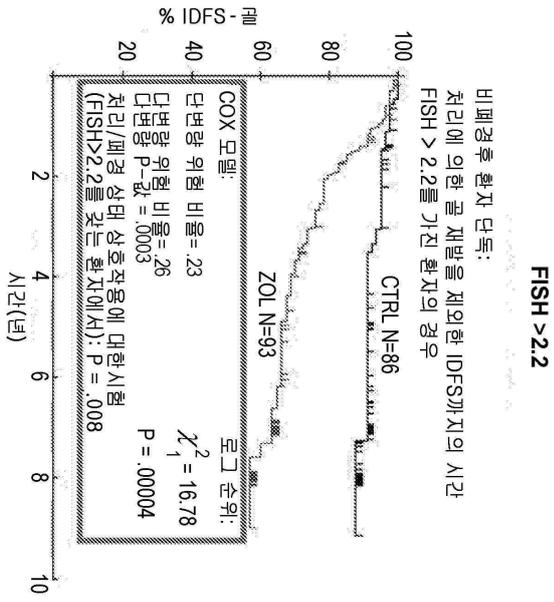


MAF FISH <=2.5

도면22



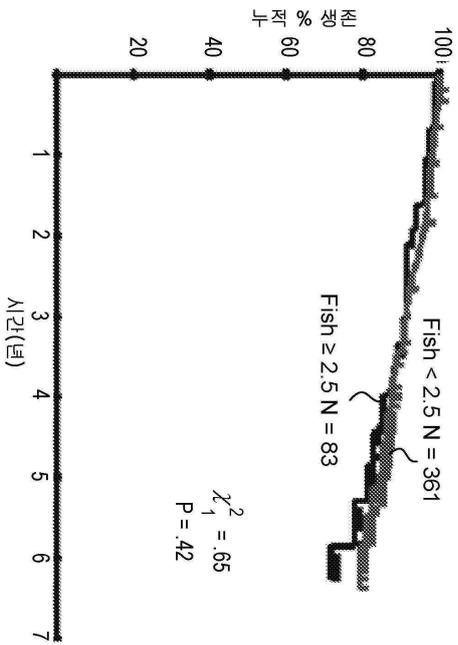
도면23



도면24

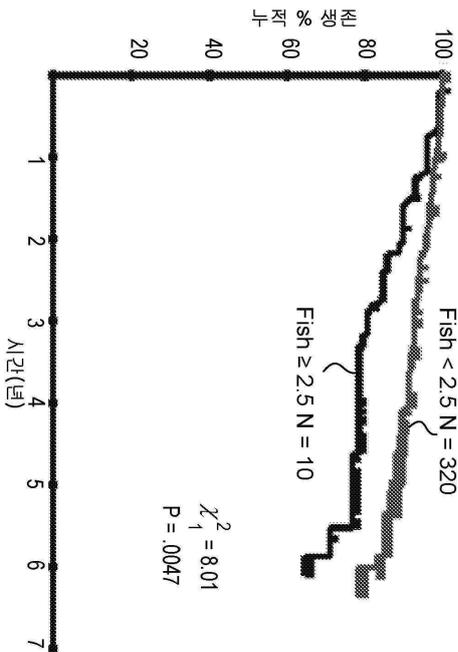
대조군

2.5의 미리 정의된 컷포인트를 사용한 대조군 환자에 대한 FISH에 의한 OS

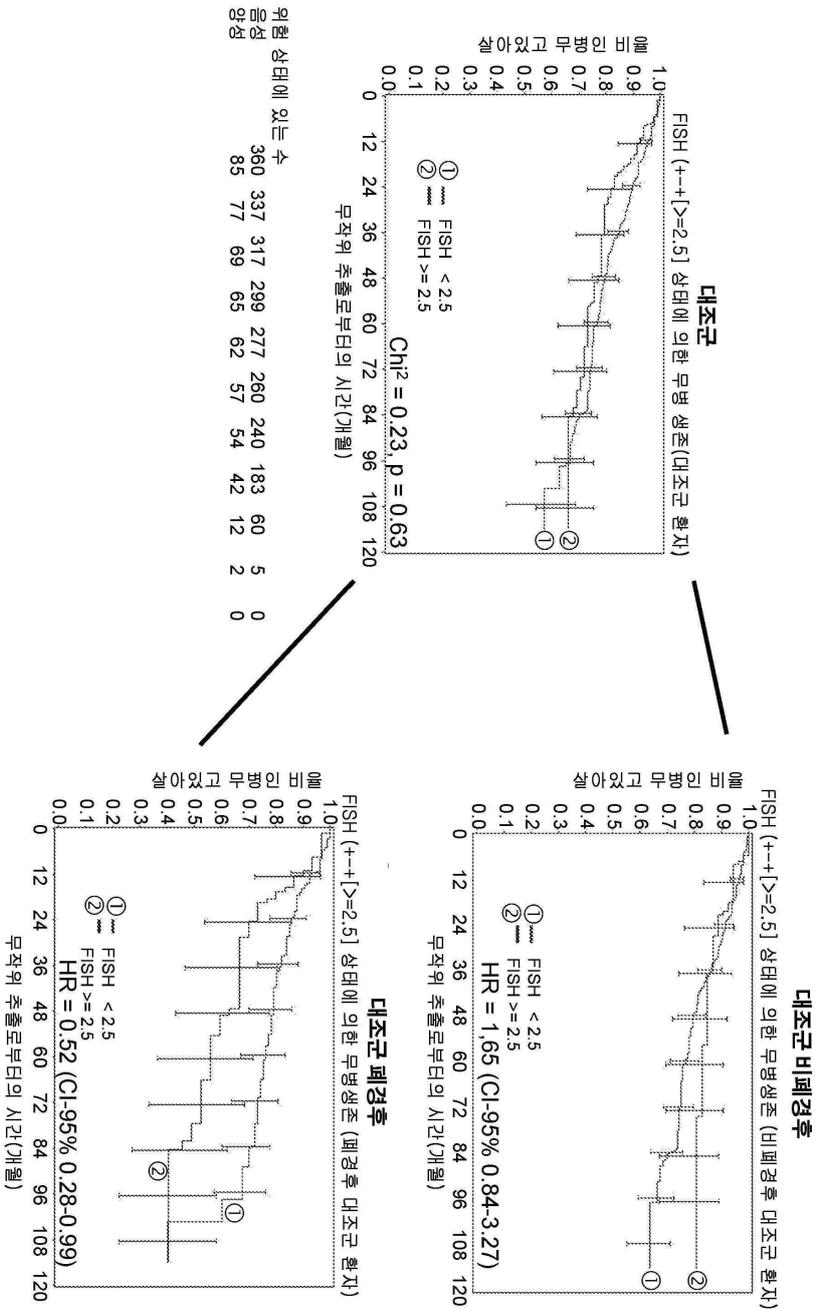


졸레드론 처리군

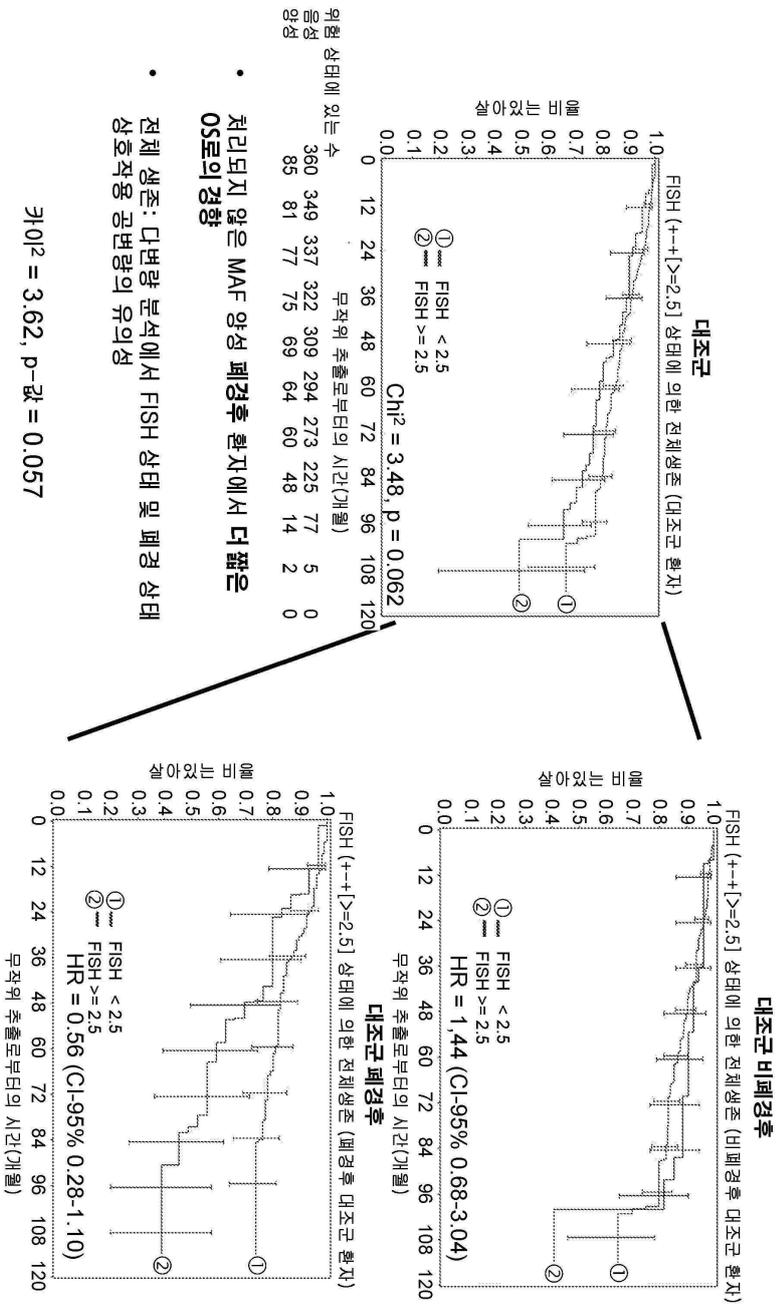
2.5의 미리 정의된 컷포인트를 사용한 ZOL 환자를 위한 FISH에 의한 OS



도면25



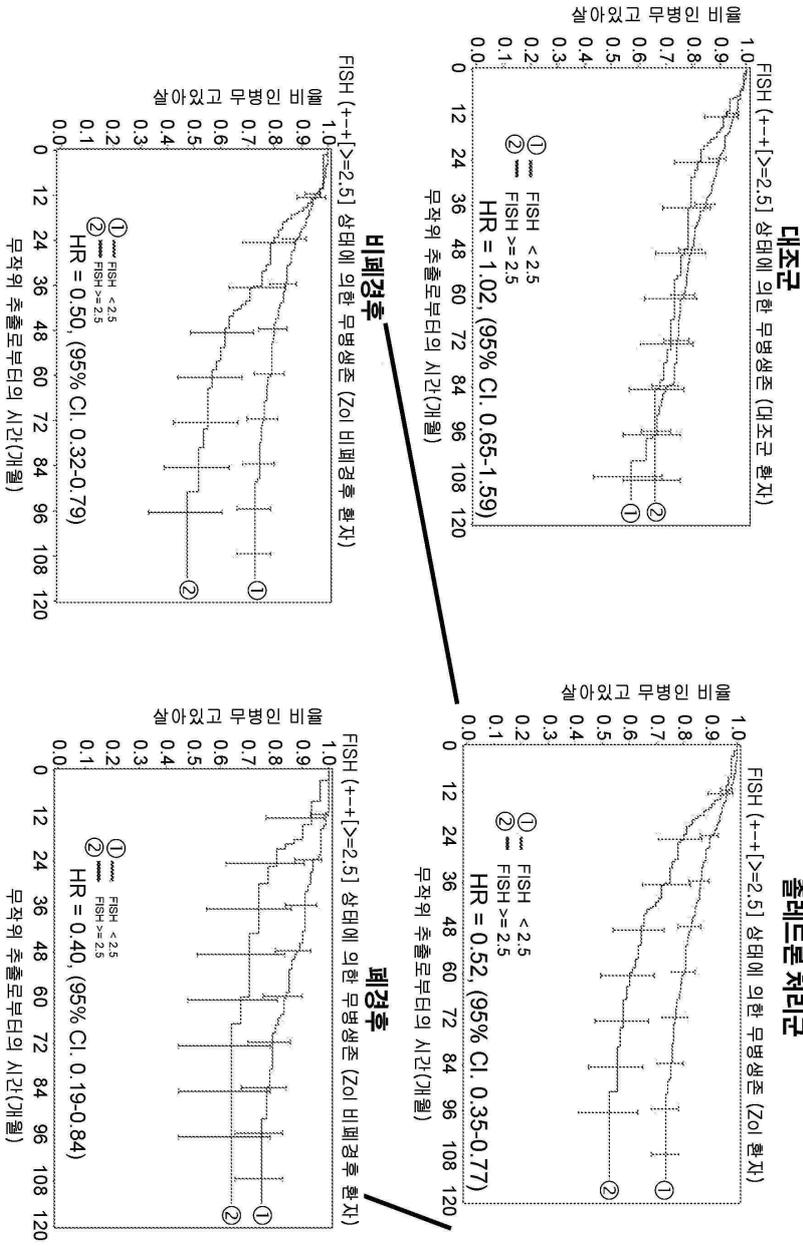
도면26



- 처리되지 않은 MAF 양성 폐경후 환자에서 더 짧은 OS의 경향
- 전체 생존: 다변량 분석에서 FISH 상태 및 폐경 상태 상호작용 공변량의 유의성

카이<sup>2</sup> = 3.62, p-값 = 0.057

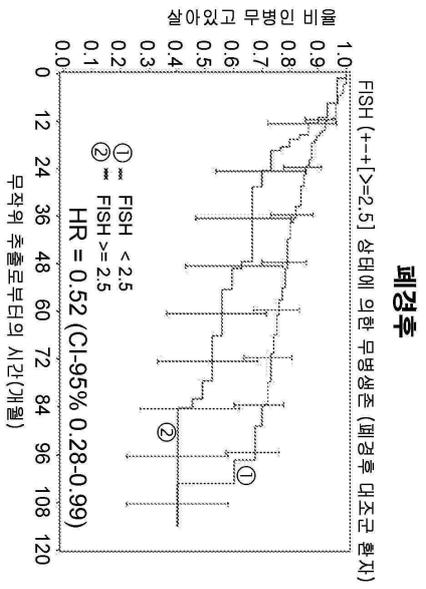
• con MAF FISH에 따른 DFS에 대한 줄래드론산 처리의 영향



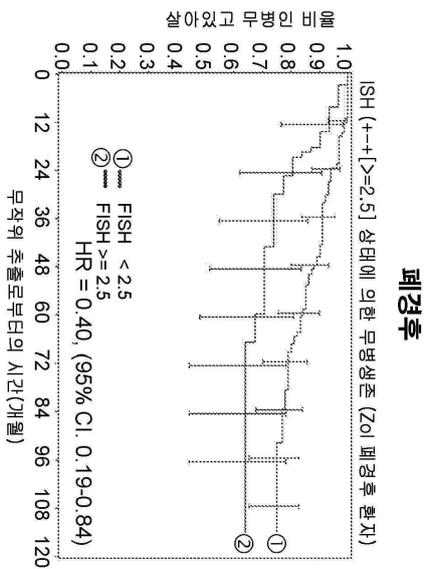
도면27

- 폐경후 원저에서 MAF FISH에 따른 DFS에 대한 졸레드론산 처리의 영향

대조군

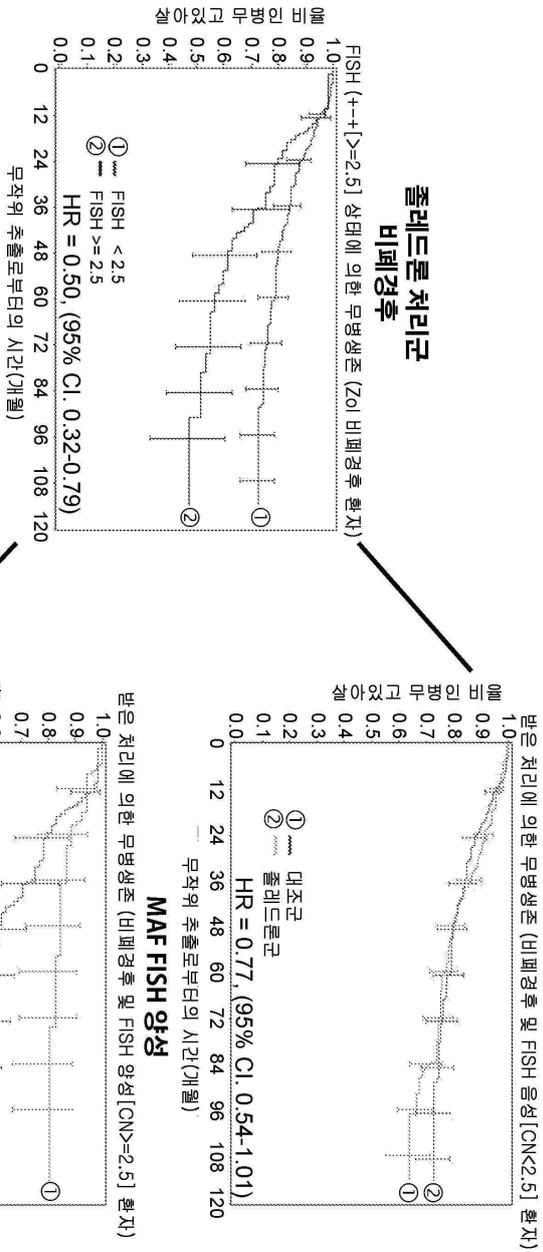


졸레드론 처리군



도면28

- MAF FISH에 따른 비폐경 여성의 DFS에 대한 졸레드론산 치료의 영향

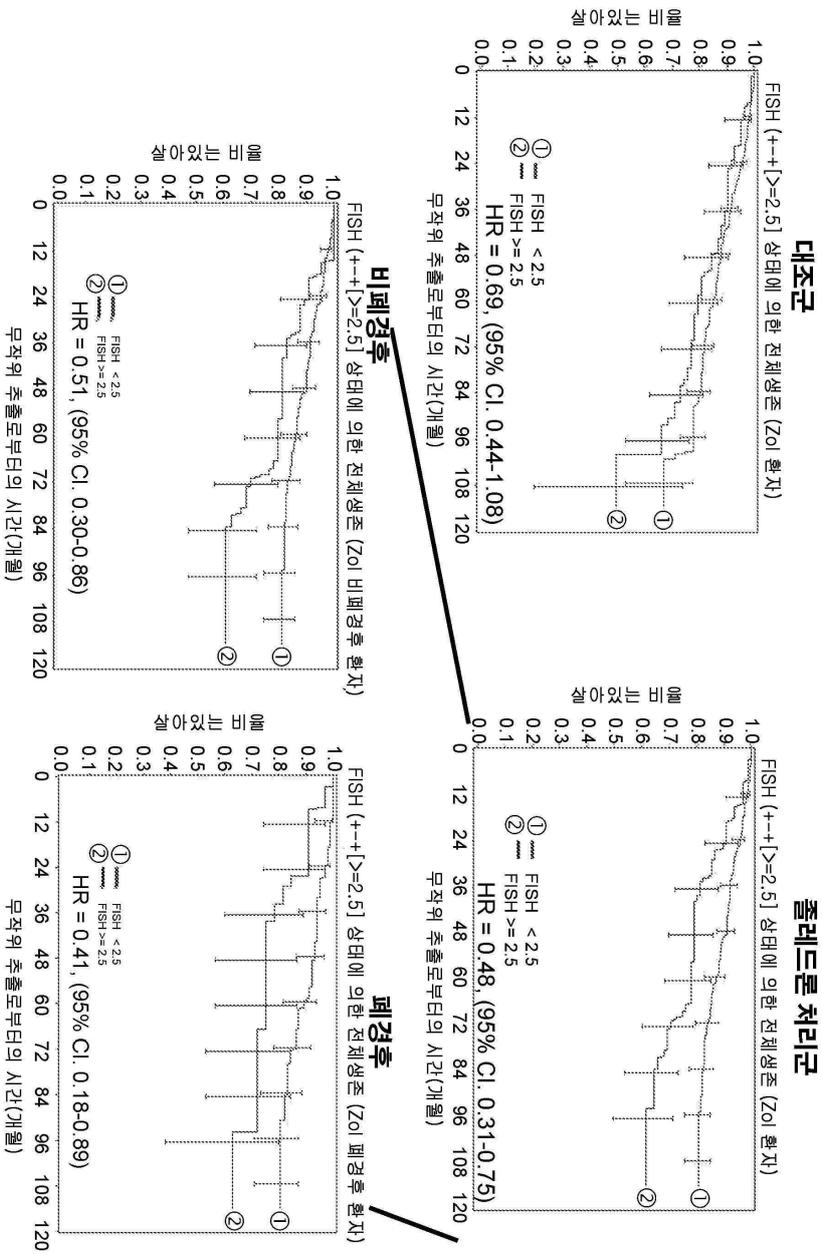


- ZOL 치료는 MAF 양성 비폐경후 환자에서 가장 나쁜 DFS 결과를 생성함

도면29

도면30

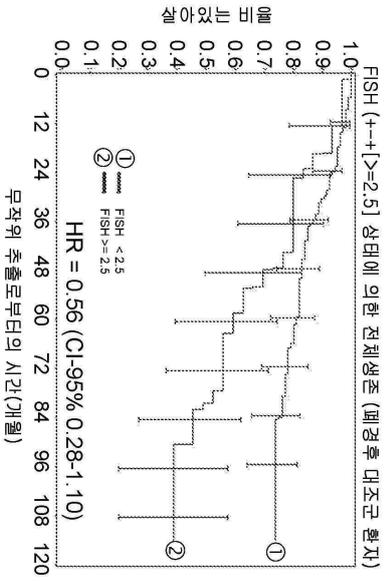
• MAF FISH에 따른 OS에 대한 졸레드론산 처리의 영향



- 폐경후 환자에서 MAF FISH에 따른 OS에 대한 졸레드론산 처리의 영향

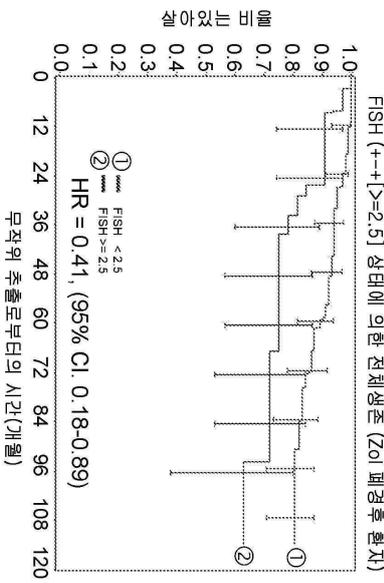
대조군

폐경후



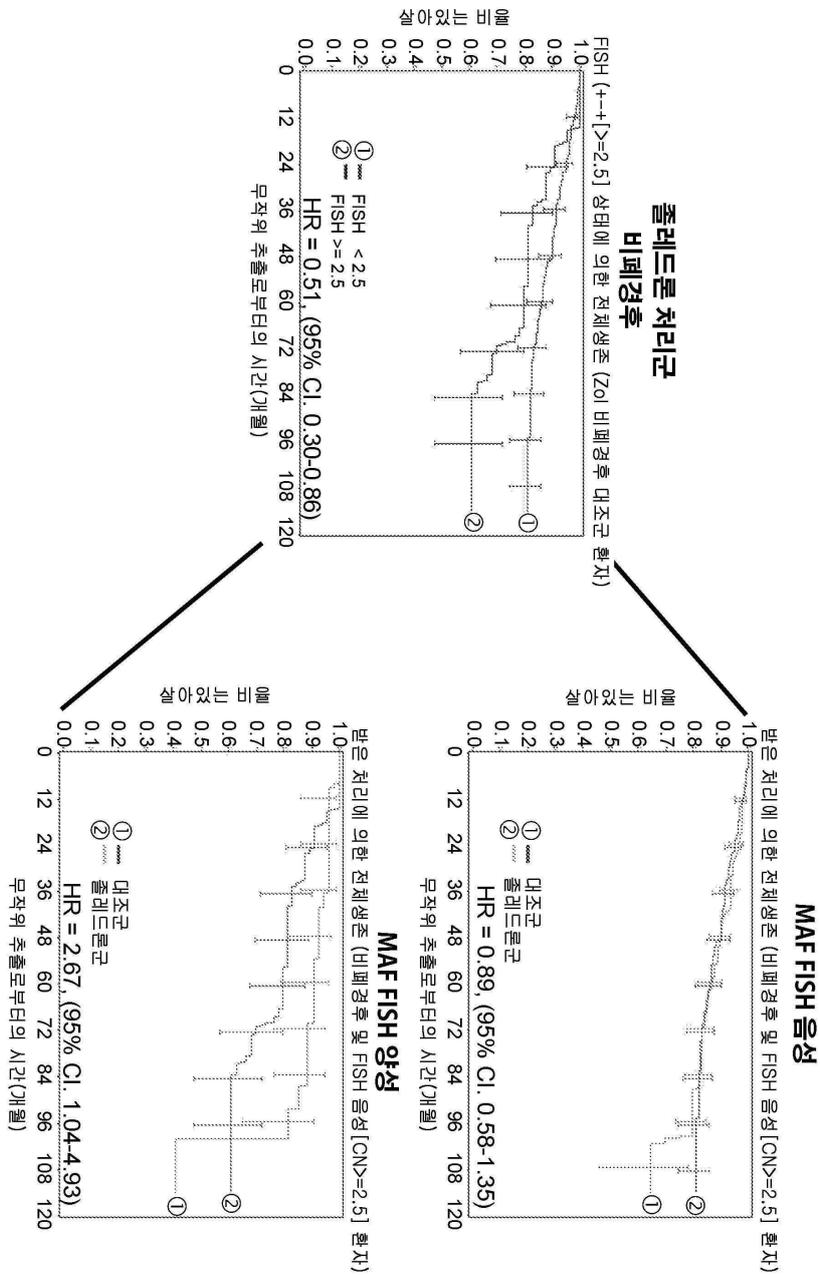
졸레드론산 처리군

폐경후



도면31

도면32



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> InBioMotion S.L.
- COLEMAN, ROBERT E.
- GREGORY, WALTER
- GOMIS, ROGER
- TERCERO, JUAN CARLOS

<120> THERAPEUTIC TREATMENT OF BREAST CANCER BASED ON C-MAF STATUS  
 <130> 3190.015PC02/TJS/E-H/M-S  
 <150> US 62/344,836  
 <151> 2016-06-02  
 <150> US 62/341,333  
 <151> 2016-05-25  
 <160> 24  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 6878  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 1

```

agaggcttta aaatcttttt tcatcttcta gctgtagctc gggctgcttg tcggcttggc      60

ctccccctcc cccctttgct ctctgcctcg tctttcccca ggacttcgct attttgcttt      120
tttaaaaaaa ggcaagaaag aactaaactc cccctccct ctctccagt cgggctgcac      180
ctctgccttg cactttgcac agaggtagag agcgcgcgag ggagagagag gaaagaaaaa      240
aaataataaa gagagccaag cagaagagga ggcgagaagc atgaagtgtt aactcccccg      300
tgccaaggcc cgcgccgcc ggacagacgc ccgccgcgcc tccagccccg agcggacgcc      360
gcgcgcgccc tgctgcagc ccgggccggc gaggcgagcc cttccttatg caaagcgcgc      420
agcggagcgg cgagcggggg acgccgcgca ccgggccggg ctctccagc ttcgccgccg      480

cagccaccac cgccgccacc gcagctcgcg gaggatcttc ccgagcctga agccgccggc      540
tcggcgcgca aggaggcgag cgagcaagga ggggccgggg cgagcgaggg agcacattgg      600
cgtgagcagg ggggaggag ggcgggcgcg gggggcgcgg gcagggcggg ggggtgtgtg      660
tgtgagcgcg ctccggaggtt tcgggccagc caccgccgcg caagctagaa gcgccccagc      720
ccggcaagct ggctcaccgg ctggccacc agcacagccc gctggcccct ctctgcagc      780
ccatctggcg gagcggcggc ggccggcgcg gcggcggcag gagaatggca tcagaactgg      840
caatgagcaa ctccgacctg cccaccagtc ccttgccat ggaatatgtt aatgacttcg      900

atctgatgaa gtttgaagtg aaaaaggaac cgttgagac cgaccgatc atcagccagt      960
gcggccgtct catcgccggg ggctcgctgt cctcaecccc catgagcagc ccgtgcagct      1020
cgggtcccc ttccccagc ttctcggcgc ccagcccggg ctcgggcagc gagcagaagg      1080
cgcacctgga agactactac tggatgaccg gctaccgca gcagctgaac cccgaggcgc      1140
    
```

tgggcttcag ccccgaggac gcggtcgagg cgctcatcag caacagccac cagctccagg 1200  
 cgggcttcga tggtacgcg cgcggggcgc agcagctggc cgcggcgcc ggggccggtg 1260  
 ccggcgcctc cttgggcggc agcggcgagg agatgggccc cgccgccgcc gtggtgtccg 1320  
  
 ccgtgatcgc cgcggccgcc gcgcagagcg gcgcgggccc gactaccac caccaccac 1380  
 accacgccg cggccaccac caccaccga cggccggcgc gcccggcgcc ggggcagcg 1440  
 cggccgcctc ggccggtggc gctggggcg cggcgggcgg tggcccggcc agcgtgggg 1500  
 gcggcggcgg cggcggcggc ggcggaggcg gcggggcg gcggggcg gggggcgccc 1560  
 tgccccga ccacgccgc ggcgcctgc acttcacga ccgttctcc gacgacgac 1620  
 tggtagcat gtctgtgcg gagctgaacc ggcagctgcg cggggtcagc aaggaggagg 1680  
 tgatccggt gaagcagaag aggcggacc tgaanaacc cggtatgcc cagtctgcc 1740  
  
 gcttcaagag ggtgcagcag agacacgtcc tggagtcgga gaagaaccag ctgctgcagc 1800  
 aagtcacca cctcaagcag gagatctcca ggctggtgcg cgagaggac gcgtacaagg 1860  
 agaaatcga gaagtgtg agcagcggct tccgagaaaa cggctcgagc agcgacaacc 1920  
 cgtcctctcc cgagttttc atgtgagtct gacacgcgat tccagctagc caccctgata 1980  
 agtgctccgc gggggtccgc ctccgggtg ggcttgctag ttctagagcc atgctcgcca 2040  
 ccacctacc acccccacc ccaccgagtt tggccccctt ggccccctac acacacaaa 2100  
 acccgacgc acacaccaca cacacacaca cacacacaca cacacccac accctgctcg 2160  
  
 agtttgggt ggtggtggct gtttaact ggggaggaa tgggtgtctg gctcatggat 2220  
 tgccaatctg aaattctcca taacttgcta gcttgtttt tttttttt tacaccccc 2280  
 cgccccacc cggacttgc acaatgttca atgatctcag cagagtctt catgtgaaac 2340  
 gttgatcacc tttgaagct gcatattca catattttt cttctcttc cccttcagtt 2400  
 catgaactgg tgttcattt ctgtgtgtgt gtgtgtttta tttgtttgg atttttttt 2460  
 ttaattttac ttttagagct tgctgtgttg ccacctttt ttccaacct caccctcact 2520  
 ctttctaac ccactcttc cgagatgaaa gaaaaaaaa agcaaagttt tttttcttc 2580  
  
 tcctgagttc tcatgtgag attgagcttg caaaggaaaa aaaaatgtga aatgttatag 2640  
 acttgcagcg tgccgagttc catcgggttt ttttttagc attgttatgc taaaatagag 2700  
 aaaaaatcc tcatgaacct tccacaatca agcctgcac aacctctgg gtgtgacttg 2760  
 tgagttttgg ccttgtgat ccaaatctga gagtttagtc tgccattaaa aaaactcatt 2820  
 ctcatctcat gcattattat gcttctact ttgtcttagc aacaatgaac tataactgtt 2880  
 tcaaagactt tatggaaaag agacattata ttaataaaaa aaaaaagcct gcatgctgga 2940

catgtatggt ataattatTT tttcctTTTT tttcctTTTT ggcttggaaa tggacgttcg 3000  
  
 aagacttata gcatggcatt catacttttg ttttattgcc tcatgacttt tttgagtta 3060  
 gaacaaaaca gtgcaaccgt agageccttct tcccatgaaa ttttgcactc getccaaaac 3120  
 tgctttgagt tactcagaac ttcaacctcc caatgcaactg aaggcattcc ttgtcaaaga 3180  
 taccagaatg ggttacacat ttaacctggc aaacattgaa gaactcttaa tgttttcttt 3240  
 ttaataagaa tgacgccccca ctttggggac taaaattgtg ctattgccga gaagcagtct 3300  
 aaaatttatt ttttaaaaag agaaactgcc ccattatTTT tggtttgttt tatttttatt 3360  
 ttatatTTTT tggcttttgg tcattgtcaa atgtggaatg ctctgggttt ctagtatata 3420  
  
 atttaattct agtttttata atctgttagc ccagttaaaa tgtatgctac agataaagga 3480  
 atgttataga taaatttgaa agagttaggt ctgttttagct gtagatTTTT taaacgattg 3540  
 atgcactaaa ttgtttacta ttgtgatgtt aaggggggta gagtttgcaa ggggactgtt 3600  
 taaaaaagt agcttataca gcatgtgctt gcaacttaaa tataagttgg gtatgtgtag 3660  
 tctttgctat accactgact gtattgaaaa ccaaagtatt aagaggggaa acgccctgt 3720  
 ttatactgt aggggtatTT tacattcaaa aatgtatgtt ttttttctt ttcaaaatta 3780  
 aagtatttgg gactgaattg cactaagata taacctgcaa gcatataata caaaaaaaaa 3840  
  
 ttgcaaaact gtttagaacg ctaataaaat ttatgcagtt ataaaaatgg cattactgca 3900  
 cagttttaag atgatgcaga tttttttaca gttgtattgt ggtgcagaac tggattttct 3960  
 gtaacttaaa aaaaaatcca cagttttaaa ggcaataatc agtaaatgtt attttcaggg 4020  
 actgacatcc tgcTTTTaaa aagaaatgaa aagtaaatct taccacaata aatataaaaa 4080  
 aatcttgtca gttacttttc ttttacatat tttgctgtgc aaaattgttt tatatcttga 4140  
 gttactaact aaccacgcgt gttgttcta tgtcttttc tttcatttc aattctggtt 4200  
 atatcaagaa aagaataatc tacaataata aacggcattt ttttttgatt ctgtactcag 4260  
  
 tttcttagtg tacagtttaa ctgggccccaa caacctcgtt aaaagtgtaa aatgcatcct 4320  
 tttctccagt ggaaggattc ctggaggaat agggagacag taattcaggg tgaattata 4380  
 ggctgttttt tgaagtgagg aggctggccc catatactga ttagcaatat ttaatataga 4440  
 tgtaaatat gacctatTT ttttctccc aaagtttca gttttcaat gagttgagcc 4500  
 ataattgcc tggtaggaa aaacaaaaca aaacagtga actagcctc ctgagcatgg 4560  
 ccctacactt ctgatcagga gcaaagccat ccatagacag aggagccgga caaatatggc 4620  
 gcatcagagg tggcttgcgc acatatgcat tgaacggtaa agagaaacag cgcttgcctt 4680

ttcactaaag ttgactatit ttccttcttc tcttacacac cgagatititc ttgttagcaa 4740  
 gcctgacaa gatttaacat aaacatgaca aatcatagtt gtttgttttg ttttgctttt 4800  
 ctctttaaca ctgaagatca tttgtcttaa ataggaaaaa gaaaatccac tccttacttc 4860  
 catatttcca agtacaatc tggtttaaac tatgttatca aatcatatit caccgtgaat 4920  
 attcagtga gaacttctct acctggatga gctagtaatg atttcagatc atgctatccc 4980  
 cagaaataaa agcaaaaaat aatacctgtg tggaatatag gctgtgcttt gatttactgg 5040  
 tatttaccct aaaataggct gtgtatgggg gctgacttaa agatcccttg gaaagactca 5100  
  
 aaactacctt cactagtagg actcctaagc gctgacctat ttttaaatga cacaaattca 5160  
 tgaaactaat gttacaaatt catgcagttt gcactcttag tcatcttccc ctagcacacc 5220  
 aatagaatgt tagacaaagc cagcactgtt ttgaaaatac agccaaacac gatgactttt 5280  
 gttttgtttt ctgccgttct taaaagaaaa aaagataata ttgcaactct gactgaaaga 5340  
 cttatititaa agaaaacagg ttgtgttttg tgctgctaag ttctggccag tttatcatct 5400  
 ggcttctctg cctatititit acaaaacacg aagacagtgt gtaacctcga cattttgacc 5460  
 ttcttttatg tgctagttaa gacaggctcc tgaatccaca cttaatititg cttaacaaaa 5520  
  
 gtcttaatag taaacctccc ctcatgagct tgaagtcaag tgttcttgac ttcagatatt 5580  
 tctttccttt tttitititit ttctcatca caactaagag atacacaaac tctgaagaag 5640  
 cagaaatgga gagaatgctt ttaacaaaaa agcatctgat gaaagatitit aggcaaacat 5700  
 tctcaaaata agagtgatat tctggatgta gttattgcag ttatctcatg acaaatgagg 5760  
 cctggatttg aaggaaaata tagttgtgta gaattaagca ttttgatagg aatctacaag 5820  
 gtagttgaat ataataagca ggtttgggcc cccaaacttt agaaaatcaa atgcaaagg 5880  
 gctggcaaaa atgaggtitg agtggtctggc tgtaagagaa ggttaactcc tagtaaaagg 5940  
  
 cattttitaga aataacaatt actgaaaact ttgaagtata gtgggagtag caaacaaata 6000  
 catgtititit ttttcttaca aagaactcct aatcctgag taagtgccat tcattacaat 6060  
 aagtctctaa atttaaaaa aaaaaaatca tatgaggaaa tctagctttc ccctttacgc 6120  
 tgcgtitgat ctttgtctaa atagtgttaa aattcctttc attccaatta cagaactgag 6180  
 cccactcgca agttggagcc atcagtggga tacgccacat tttggaagcc ccagcatcgt 6240  
 gtacttacca gtgtgttac aaaatgaaat ttgtgtgaga gctgtacatt aaaaaaatc 6300  
 atcattatta ttattititg cagtcatgga gaaccaccta cccctgactt ctgttttagtc 6360  
  
 tcctttitaa ataaaaatta ctgtgtitaga gaagaaggct attaatgta gtagttaact 6420  
 atgcctcttg tctgggggtt tcatagagac cggtaggaaa gcgcactcct gcttttcgat 6480  
 ttatggtgtg tgcaagtaaa cagggtcatt gctttcaacc tgccatacta gttttaaaaa 6540

ttcaactgaaa ttacaaagat acatatatat gcatatatat aatggaaagt ttcccggaat 6600  
 gcaacaatta gcattttaaa atcatatata ggcatgcaca ttctaaatag tactttttca 6660  
 tgcttcattg tttctctggc agataatfff actaagaaga aaaatagata ttcgactccc 6720  
 cttccctaaa caaatccacg ggcagaggct ccagcggagc cgagccccct ggttttctcg 6780  
  
 taggccctag acggtgttgc atttatcagt gatgtcaaac gtgctcattt gtcagacata 6840  
 gctgtaaatg aaaacaatgt gtggcaaaat acaaagtt 6878  
  
 <210> 2  
 <211> 2656  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 2  
  
 gaggccttaa aatctttttt catcttctag ctgtagctcg ggctgcttgt cggtttggcc 60  
 tccccctccc ccctttgctc tctgcctcgt ctttccccag gacttcgcta ttttgctttt 120  
 ttaaaaaaag gcaagaaaga actaaactcc cccctccctc tectccagtc gggctgcacc 180  
 tctgccttgc actttgcaca gaggtagaga gcgcgcgagg gagagagagg aaagaaaaaa 240  
  
 aataataaag agagccaagc agaagaggag gcgagaagca tgaagtgtta actccccgt 300  
 gccaaaggccc gcgccgccc gacagacgcc cgcgcgcct ccagccccga gcggacgccc 360  
 cgcgcgcctt gcctgcagcc cgggcccggc aggcgagccc ttccttatgc aaagcgcgca 420  
 gcggagcggc gagcggggga ccccgcgac cgggcccggc tectccagct tcgcccccgc 480  
 agccaccacc gccgccaccg cagctcgcgg aggatcttcc cgagcctgaa gccgccggct 540  
 cggcgcgcaa ggagcgcgag gagcaaggag gggcccgggc gagcagagga gcacattggc 600  
 gtgagcaggg gggagggagg gcgggcgcgg ggggcgcggg cagggcgggg ggggtgtgtgt 660  
  
 gtgagcgcgc tcggaggttt cgggccagcc accgccgcgc aagctagaag cgccccagcc 720  
 cggcaagctg gctcaccgc tggccacca gcacagcccg ctggcccctc tctgcagcc 780  
 catctggcgg agcggcggcg gcggcggcgg cggcggcagg agaatggcat cagaactggc 840  
 aatgagcaac tccgacctgc ccaccagtcc cctggccatg gaatatgtta atgacttca 900  
 tctgatgaag tttgaagtga aaaaggaacc ggtggagacc gaccgatca tcagccagtg 960  
 cgccctctc atcgccggg gctcgtgtc ctccacccc atgagcacgc cgtgcagctc 1020  
 ggtgccccct tccccagct tctcggcgcc cagcccgggc tcgggcagcg agcagaaggc 1080  
  
 gcacctggaa gactactact ggatgaccgg ctaccgcag cagetgaacc ccgagcgcct 1140  
 gggcttcagc cccgaggacg cggctcagggc gctcatcagc aacagccacc agctccaggg 1200

cggttcgat ggctacgcg gcggggcgca gcagctggcc gcggcggccg gggccggtgc 1260  
 cggcgctcc ttggggcgca gcggcgagga gatgggcccc gccgcccgcg tgggtgccg 1320  
 cgtgatgcc gcggccgccc cgagagcgg gcggggcccc cactaccacc accaccacca 1380  
 ccacgccgc gccaccacc accaccggac ggccggcgcg cccggcgccc ggggcagcgc 1440  
 ggccgctcg gccggtggcg ctggggggcg gggcggcggg ggcccggcca gcgctggggg 1500  
  
 cgcgggcggc ggcggcgggc gcggaggcgg cggggggcgcg gcggggggcg ggggcgcctt 1560  
 gcaccgcac cagcccgcg gcggcctgca ctctgacgac cgcttctccg acgagcagct 1620  
 ggtgaccatg tctgtgcgag agctgaaccg gcagctgcgc ggggtcagca aggaggaggt 1680  
 gatccggctg aagcagaaga ggcggaccct gaaaaaccgc ggctatgcc agtcctgccg 1740  
 ctcaagagg gtgcagcaga gacacgtcct ggagtcggag aagaaccagc tgctgcagca 1800  
 agtcgaccac ctcaagcagg agatctccag gctggtgcgc gagagggacg cgtacaagga 1860  
 gaaatcagag aagtgtgtga gcagcggctt ccgagaaaac ggctcgagca gcgacaaccc 1920  
  
 gtctctccc gagtttttca taactgagcc cactcgcaag ttggagccat cagtgggata 1980  
 cgccacattt tggaagcccc agcatcgtgt acttaccagt gtgttcacaa aatgaaattt 2040  
 gtgtgagagc tgiacattaa aaaaaatcat cattattatt attatttgca gtcattggaga 2100  
 accacctacc cctgacttct gtttagtctc ctttttaaat aaaaattact gtgttagaga 2160  
 agaaggctat taaatgtagt agttaactat gcctcttgtc tgggggtttc atagagaccg 2220  
 gtaggaaagc gcactcctgc ttttcgattt atggtgtgtg caagtaaac ggtgcattgc 2280  
 tttcaacctg ccatactagt tttaaaaatt cactgaaatt acaaagatac atatatatgc 2340  
  
 atatatataa tggaagttt cccggaatgc aacaattagc attttaaat catatatagg 2400  
 catgcacatt ctaaatagta ctttttcatg ctctcattgt tctctggcag ataattttac 2460  
 taagaagaaa aatagatatt cgactccct tcctaaca aatccacggg cagaggctec 2520  
 agcggagccg agccccctgg ttttctgta ggccctagac ggtgttgcat ttatcagtga 2580  
 tgtcaaacgt gctcatttgc cagacatagc tgtaaatgaa aacaatgtgt ggcaaaatac 2640  
 aaagttaaaa aaaaaa 2656  
  
 <210> 3  
 <211> 6887  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 3  
 gaggccttaa aatctttttt catcttctag ctgtagctcg ggctgcttgc cggttggcc 60

tccccctccc ccctttgctc tctgctcgt ctttccccag gacttcgcta ttttgctttt 120  
 ttaaaaaag gcaagaaaga actaaactcc ccctccctc tcctccagtc gggctgcacc 180  
 tctgccttgc actttgcaca gaggtagaga gcgcgcgagg gagagagagg aaagaaaaaa 240  
 aataataaag agagccaagc agaagaggag gcgagaagca tgaagtgtta actccccgt 300  
 gccaaaggccc gcgccgccc gacagacgcc cgcgcgcct ccagccccga gcggacgcc 360  
 cgcgcgcct gctgcagcc cgggcccggc aggcgagccc ttccttatgc aaagcgcga 420  
  
 gcggagcggc gagcgggga cgcgcgcac cgggcccggc tcctccagct tcgccccc 480  
 agccaccacc gcccccacc cagctcgcgg aggatcttcc cgagcctgaa gccgccgct 540  
 cggcgcgcaa ggaggcagc gagcaaggag gggcccggc gagcagggga gcacattggc 600  
 gtgagcaggg gggaggagg gcgggcgcgg ggggcgcggg cagggcgggg ggtgtgtgt 660  
 gtgagcgcgc tcggagttt cgggccagcc accgccgcgc aagctagaag cccccagcc 720  
 cggcaagctg gtcaccgc tggccacca gcacagccc ctggcccctc tctgcagcc 780  
 catctggcg agcggcggc gcggcggcg cggcgcagc agaatggcat cagaactggc 840  
  
 aatgagcaac tccgacctc ccaccagtcc cctggccatg gaatatgtta atgacttca 900  
 tctgatgaag ttigaagtga aaaaggaacc ggtggagacc gaccgcatca tcagccagt 960  
 cggccgtctc atcgccggg gctcgtgtc ctccacccc atgagcacgc cgtgcagtc 1020  
 ggtgccccct tcccagct tctcggcgc cagcccgggc tcgggcagcg agcagaaggc 1080  
 gcacctgaa gactactact ggatgaccgg ctaccgcag cagctgaacc ccgagcgct 1140  
 gggcttcagc cccgaggac cggtcgagc gctcatcagc aacagccacc agctccagg 1200  
 cggcttcgat ggctacgc gcggggcgca gcagctggcc gcggcggcc gggccggtgc 1260  
  
 cggcgcctcc ttggcgga gcggcgagga gatgggccc gcccccgc tggtgtccgc 1320  
 cgtgatgcc gcggcggc gcagagcgg cgcgggccc cactaccacc accaccacca 1380  
 ccacccgcc gccaccacc accaccgac ggccggcgc cccggcggc gggcagcgc 1440  
 gggcgcctc gccggtggc ctgggggcgc gggcggcgg ggcccggca gcgctgggg 1500  
 cggcggcggc gccggcggc gcggaggcg cgggggcgc gcggggcgg gggcgcct 1560  
 gcaccgcac cagcccgc gcggcctgca ctctgacgac cgcttctcc acgagcagct 1620  
 ggtgacctg tctgtcgc agctgaacc gcagctgcgc ggggtcagca aggaggagt 1680  
  
 gatccgctg aagcagaaga ggcggaccct gaaaaaccgc ggctatgcc agtcctgcc 1740  
 cttaagagg gtgcagcaga gacacgtct ggagtcggag aagaaccagc tgctgcagca 1800  
 agtcgaccac ctcaagcagg agatctccag gctggtgcgc gagagggacg cgtacaagga 1860  
 gaaatcagag aagtgtgtga gcagcggctt ccagaaaaac ggctcagca gcgacaacc 1920

gtcctctccc gagtttttca tgtgagctcg acacgcgatt ccagctagcc accctgataa 1980  
 gtgctccgcg ggggtccggc tccgggtgtgg gcttgctagt tctagagcca tgctcgccac 2040  
 cacctacca cccccaccc caccgagttt ggcccccttg gccccctaca cacacacaaa 2100

cccgcacgca cacaccacac acacacacac acacacacac acaccccaca ccttgctcga 2160  
 gtttggtgtg gtggtggctg ttttaaacctg gggaggggaat ggggtgtctgg ctcatggatt 2220  
 gccaatctga aattctccat aacttgctag cttgtttttt tttttttttt acaccccccc 2280  
 gccccacccc cggacttgca caatgttcaa tgatctcagc agagtcttc atgtgaaacg 2340  
 ttgatcacct ttgaagcctg catcattcac atattttttc ttcttcttcc ctttcagttc 2400  
 atgaactggt gttcattttc tgtgtgtgtg tgtgttttat tttgtttgga tttttttttt 2460  
 taattttact ttagagctt gctgtgttgc ccacctttt tccaacctcc accctcactc 2520

cttctcaacc catctcttcc gagatgaaag aaaaaaaaa gcaaagtttt ttttcttct 2580  
 cctgagttct tcatgtgaga ttgagcttgc aaaggaaaaa aaaatgtgaa atgttataga 2640  
 cttgcagcgt gccgagttcc atcgggtttt ttttttagca ttgttatgct aaaatagaga 2700  
 aaaaaatcct catgaacctt ccacaateca gctgcatca accttctggg tgtgacttgt 2760  
 gagttttggc ctigtgatgc caaatctgag agtttagtct gccattaaaa aaactcattc 2820  
 tcatctcatg cattattatg cttgctactt tgtcttagca acaatgaact ataactgttt 2880  
 caaagacttt atggaaaaga gacattatat taataaaaaa aaaaagcctg catgctggac 2940

atgtatggtg taattatfff ttcctttttt ttccttttg gcttggaat ggacgttcga 3000  
 agacttatag catggcattc atacttttgt ttattgcct catgactttt ttgagtttag 3060  
 aacaaaacag tgcaaccgta gaccccttct cccatgaaat ttgcatctg ctccaaaact 3120  
 gctttgagtt actcagaact tcaacctccc aatgactga aggcattcct tgtcaaagat 3180  
 accagaatgg gttacacatt taacctggca aacattgaag aactcttaat gttttctttt 3240  
 taataagaat gacgccccac tttggggact aaaattgtgc tattgccgag aagcagtcta 3300  
 aaatftatft tttaaaaaga gaaactgccc cattatftft ggtttgtttt atftftatft 3360

tatatttttt ggcttttggf cattgtcaaa tgtggaatgc tctgggtttc tagtatataa 3420  
 ttttaattcta gttttataa tctgttagcc cagttaaaat gtatgctaca gataaaggaa 3480  
 tgttatagat aaatftgaaa gagttaggtc tgttttagct tagatftttt aaacgattga 3540  
 tgcactaaat tgtttactat tgtgatgtta aggggggttag agtttgcaag gggactgttt 3600  
 aaaaaagta gcttatacag catgtgcttg caacttaaat ataagttggg tatgtgtagt 3660  
 ctttgcata ccactgactg tattgaaaac caaagtatta agaggggaaa cgccccgtt 3720

tatatctgta ggggtatfff acattcaaaa atgtatgttt ffffftcttt tcaaaattaa 3780

agtatttggg actgaattgc actaagatat aacctgcaag catataatac aaaaaaaaaat 3840

tgcaaaactg tttagaacgc taataaaatt tatgcagtta taaaaatggc attactgcac 3900

agttttaaga tgatgcagat ffffftacag ttgtattgtg gtgcagaact ggattttctg 3960

taacttaaaa aaaaatccac agttttaaag gcaataatca gtaaatgtta ttttcagga 4020

ctgacatcct gtctttaaaa agaaatgaaa agtaaatcct accacaataa atataaaaaa 4080

atcttctcag ttacttttct tttacataat ttgctgtgca aaattgtttt atatcttgag 4140

ttactaacta accacgcgtg ttgttcctat gtgcttttct ttcattttca attctggtta 4200

tatcaagaaa agaataatct acaataataa acggcatfff tttttgattc tgtactcagt 4260

ttcttagtgt acagttaaac tgggccaac aacctcgta aaagtgtaaa atgcatcctt 4320

ttctccagtg gaaggattcc tggaggaata gggagacagt aattcagggt gaaattatag 4380

gctgtttttt gaagtgagga ggctggcccc atatactgat tagcaatatt taatatagat 4440

gtaaattatg acctcatttt tttctccca aagttttcag ttttcaaag agttgagcca 4500

taattgccct tggtaggaaa aacaaaacaa aacagtggaa ctaggcttcc tgagcatggc 4560

cctacacttc tgatcaggag caaagccatc catagacaga ggagccggac aaatatggcg 4620

catcagaggt ggcttgcgca catatgcatt gaacggtaaa gagaacagc gcttgccttt 4680

tcactaaagt tgactatfff tcttcttct cttacacacc gagatfffct tgttagcaag 4740

gcctgacaag atttaacata aacatgacaa atcatagtgt ttgttttgt tttgctttc 4800

tctttaacac tgaagatcat ttgtcttaaa taggaaaaag aaaatccact ccttacttcc 4860

atatttcaa gtacatatct ggtttaaact atgttatcaa atcatattc accgtgaata 4920

ttcagtggag aacttctcta cctggatgag ctagtaatga tttcagatca tgctatcccc 4980

agaaataaaa gcaaaaaata atacctgtgt ggaatatagg ctgtgctttg atttactggt 5040

atttacccha aaataggctg tgtatggggg ctgacttaaa gatcccttgg aaagactcaa 5100

aactaccttc actagtagga ctctaaagcg ctgacctatt tttaaatgac acaaattcat 5160

gaaactaatg ttacaaattc atgcagtttg cactcttagt catcttcccc tagcacacca 5220

atagaatgtt agacaaagcc agcactgttt tgaataatac gccaacacg atgacttttg 5280

ttttgttttc tgccttctt aaaaagaaaa aagataatat tgcaactctg actgaaagac 5340

ttatttttaa gaaaacaggt tgtgtttggt gctgctaagt tctggccagt ttatcatctg 5400

gccttctgc ctatttttta caaacacga agacagtgtg taacctcgac attttgacct 5460

tcctttatgt gctagtttag acaggctcct gaatccacac ttaatTTTgc ttaacaaaag 5520  
 tcttaatagt aaacctcccc tcatgagctt gaagtcaagt gttcttgact tcagatattt 5580  
 ctttcctttt tttttttttt tccatcac aactaagaga tacacaaact ctgaagaagc 5640  
 agaaatggag agaatgcttt taacaaaaaa gcatctgatg aaagatttta ggcaaacatt 5700  
 ctcaaaataa gagtgatatt ctggatgtag ttattgcagt tatctcatga caaatgagc 5760  
 ctggattgga aggaaaatat agttgtgtag aattaagcat tttgatagga atctacaagg 5820  
 tagttgaata taataagcag gtttgggcc ccaacttta gaaaatcaaa tgcaaaggtg 5880

ctggcaaaaa tgaggtttga gtggctggct gtaagagaag gttaactcct agtaaaagc 5940  
 attttagaa ataacaatta ctgaaaactt tgaagtatag tgggagtagc aaacaatac 6000  
 atgtttttt tttcttaaa agaactccta aatcctgagt aagtccatt cattacaata 6060  
 agtctctaaa tttaaaaaa aaaaaatcat atgaggaaat ctagctttcc cttttacgct 6120  
 gcgtttgatc tttgtctaaa tagtgtaaa attcctttca ttccaattac agaactgagc 6180  
 ccactcgcaa gttggagcca tcagtgggat acgccacatt ttggaagccc cagcatcgtg 6240  
 tacttaccag tgtgttcaca aaatgaaatt tgtgtgagag ctgtacatta aaaaaaatca 6300

tcattattat tattatttgc agtcatggag aaccacctac cctgacttc tgtttagtct 6360  
 ctttttaaa taaaattac tgtgttagag aagaaggcta ttaaatgtag tagttaacta 6420  
 tgcccttgt ctgggggttt catagagacc gtaggaaag cgactcctg cttttcgatt 6480  
 tatggtgtgt gcaagtaaac aggtgcattg cttcaacct gccatactag ttttaaaat 6540  
 tcaactgaaat tacaagata catatatatg catatatata atggaagtt tcccggaatg 6600  
 caacaattag cattttaaa tcatatatag gcatgcacat tctaaatagt actttttcat 6660  
 gcttcattgt ttctctggca gataatttta ctaagaagaa aaatagatat tcgactcccc 6720

ttccctaaac aaatccacgg gcagaggctc cagcggagcc gagccccctg gttttctcgt 6780  
 aggcctaga cgggtgttga tttatcagt atgtcaaag tgctcatttg tcagacatag 6840  
 ctgtaaatga aaacaatgtg tggcaaaata caaagttaaa aaaaaaa 6887

<210> 4

<211> 400

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Ala Ser Glu Leu Ala Met Ser Asn Ser Asp Leu Pro Thr Ser Pro

1                    5                    10                    15

Leu Ala Met Glu Tyr Val Asn Asp Phe Asp Leu Met Lys Phe Glu Val



Glu Leu Asn Arg Gln Leu Arg Gly Val Ser Lys Glu Glu Val Ile Arg  
 275 280 285

Leu Lys Gln Lys Arg Arg Thr Leu Lys Asn Arg Gly Tyr Ala Gln Ser  
 290 295 300

Cys Arg Phe Lys Arg Val Gln Gln Arg His Val Leu Glu Ser Glu Lys  
 305 310 315 320

Asn Gln Leu Leu Gln Gln Val Asp His Leu Lys Gln Glu Ile Ser Arg  
 325 330 335

Leu Val Arg Glu Arg Asp Ala Tyr Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Leu Val  
 340 345 350

Ser Ser Gly Phe Arg Glu Asn Gly Ser Ser Ser Asp Asn Pro Ser Ser  
 355 360 365

Pro Glu Phe Phe Ile Thr Glu Pro Thr Arg Lys Leu Glu Pro Ser Val  
 370 375 380

Gly Tyr Ala Thr Phe Trp Lys Pro Gln His Arg Val Leu Thr Ser Val  
 385 390 395 400

<210> 5

<211> 373

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Ala Ser Glu Leu Ala Met Ser Asn Ser Asp Leu Pro Thr Ser Pro

1 5 10 15

Leu Ala Met Glu Tyr Val Asn Asp Phe Asp Leu Met Lys Phe Glu Val  
 20 25 30

Lys Lys Glu Pro Val Glu Thr Asp Arg Ile Ile Ser Gln Cys Gly Arg  
 35 40 45

Leu Ile Ala Gly Gly Ser Leu Ser Ser Thr Pro Met Ser Thr Pro Cys  
 50 55 60

Ser Ser Val Pro Pro Ser Pro Ser Phe Ser Ala Pro Ser Pro Gly Ser

65 70 75 80





auuugcaguc auggagaacc	20
<210> 10	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> c-MAF specific siRNA	
<400> 10	
caaggagaaa uacgagaagu	20
<210> 11	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> c-MAF specific siRNA	
<400> 11	
acaaggagaa auacgagaag	20
<210> 12	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> c-MAF specific siRNA	
<400> 12	
accuggaaga cuacuacugg	20
<210> 13	
<211> 13878	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 13	
aactatatat taaacacctc cggctcagaga ggccgtgttg ggtgtctttg tcaggtgaag	60
aaagagaaga aggtctggtac accttcccag gaattctcac tgaagaaaac atctggattt	120
tttacatctc ttgtgcaaaa caaacaaga ttccattaag tgatgtatat tgttttccaa	180
ggaagaaacc tgcagagaca aaaacaata agcaaataat tgaacaacaaa atatgataaa	240
cccccaaatt cttccagtc taatttactt gttatcatgg ttctctacaa aggcagagat	300

cactaattac aggtttttcc agaattcaca tttcacgtca agatcatcca atccaaacag 360  
  
 tgtacggaaa gcctagggcc ttcttcactt tgccccctac cccaccctac acacacgccc 420  
 ccatctaaat gatacccttg gaaagaaacc tacacatctc atttgtctat attttgcttc 480  
 ctccctcgcc tcccggtaac caaatgtgag ttgttctcta actgcactgg agaatcagaa 540  
 tttattgtac atatgtttgt gttccactta ataaaaaac ctatatttta agataaactt 600  
 tgttagtaat tcatgaggta agtgactatt tatgctaate aggcagaaat atattctcaa 660  
 gcataatgca ttacataaat ttgaatgtaa aatgttcaat tatgaagtaa atacaggtaa 720  
 tgcaaataat aaattacctc taataaaaaat tataaaagat gtgccttgaa agagagagcg 780  
  
 gctttaactt acaactgga attgcttaaa gagaaaagaa ttaataaatg ctgaattact 840  
 ctgatgatta tttagcacat aattcaccta ttcataacga ctcttagtaa tcagactgtt 900  
 gtttcacate ctccaacatg aggcaagact gtttctcag caattttgcc ctatcagat 960  
 tatctcgtct gattctatta attttcttcc atgaatctgc taacagtgat ttgtgattta 1020  
 cttaccctgc taactgaaga ctgttaaaag gatttatcta acactggacc taagaacagt 1080  
 gtacgctta tegttagtt actctgaaga actctttctc aaatcaattt agttggtttc 1140  
 atagtgaat ttagtgaca ctggtagtt ctgcccata aaatcagccc ctaaacaaag 1200  
  
 agtccagaca ccatacctga tgcattccat tctattcaga ttatggatgt ctgattccaa 1260  
 catgatatat ttgagttgct ataactcaca atcggggaaa atatattcct ttaagctttt 1320  
 aatctttgta atttggacat gaacaggggt tttgttttc attttgcat gaagtcatta 1380  
 tgtatgtact gacgtgaaac tataattgtg tttctgatgt tactgtgtca caatattcta 1440  
 tgcgatgtaa cccatgtcct cctccccctc acaaatctcc tataaatatt cattgctttc 1500  
 aaaaacttta atactactgg tccgaattgg tcaataatga caaatgcatg gtttctaaat 1560  
 tactgtatat tgttctacag agattactag agtatatata gcaaggggat gttaagcagt 1620  
  
 aagaaaacac agttcacatt gtatttggat tagattggct tggatagaag tgaacaaac 1680  
 aatgttagca aagaagtcta aagacatgtg gccactgta attgtacaga atcaaaaacc 1740  
 tgaatagtac tcattaaaat gagagagctc aattgttata aaagaaatgc tgctaacaga 1800  
 gaactgtaaa tgtttagaca cccctgtgaa tcactaaata ataatgtaa aaggataaaa 1860  
 atgagaatta agttataagc ctgagagcat tactgtctaca catctaaaaa aataattctg 1920  
 atcctctctt tttttttcc aagagaaaat gggcgactat aaaagacctt gcaataagag 1980  
 aaataaaaat accatgtctt cacagcagtg tacataaata aaccataaaa atgtgcagat 2040

aataatata ttagctgcc aaacatggc atttaatttc tagaaatgat atataacaat 2100  
gtaacaatta gatactcagc catgaatgtg tatggcacag tcttcatcat tagcaaactt 2160  
tgtgtataaa atattattta ttatttatta taatactgct ttcagaggca atgatcatac 2220  
cttacagctt ttaacacaaa tatgatgcaa aaggattaaa agtatatcat aaacaaacaa 2280  
taaattcttt ctaatacac ttaaattcat attttcatg aaaaataaa acttcctaca 2340  
tttgtgacta ctgactttta aaaagaccta gaaaactatt gttacgggca atgttaaatg 2400  
acataatgct tatgtaatgg aaagtgtgga ttttcctcta aataaactat aatcccttaa 2460  
  
cttcattact agggaaaata ttgttaaaga gaaggaaagc aagggaattc tgctaggttg 2520  
cataaatatt gacataatct tcactctttc tccccaaac tggtaataga catagtttat 2580  
tccaccaac aaaatgctct tataagacca aactacccct tattaacaac ttctctgcag 2640  
tcacgatgaa aagaacact acttgtctga aaaataccga cagcgtgcc cttttcagat 2700  
taggggtgtc ctacgaatct tttgggaagt cttccattaa ggattcctgg gtttgctgaa 2760  
actgaagtct actaggatca gagaaattaa cacaggtcta atatggtgca aggaacgagt 2820  
gagagacacc tgaggttata aatagcaaag catgctgcgg ggtggggaag accattctga 2880  
  
agtgcaatgt tcaagacgct ggcttaatat atgactaagt gtcagaagtc aggttttctg 2940  
agaattactt tccagataaa caactttata gcactgcact taatcttact tactagagac 3000  
atctcattha tcaactgaatt acaagtaact ttaatcctat tgatattgcc ataaagcccg 3060  
ttgaaaatcc atcctggcac ttttaaggg tttggggccc tgttacctgg ggatcctctt 3120  
gcaaaggctc cagccagaaa ttacacccc aggggtgctg tatcccctgg cctctttgtc 3180  
aacaatcaag gagaagagga ggggcaaaaa tgatctctgc atctgccagc actttcttcg 3240  
gcccctttcc tatagggtcg ggttctcca cttcagtcaa actaactttg tgtgtctctt 3300  
  
tcctctccc aactgggta accagctgct tttcacttca tcgacaaaac tggacacgga 3360  
tcaatttcaa ctgaccttg ccgaaagggt gcgctgttga ggtaaaaacc aactcgtcc 3420  
aacaatagtt tcaactctc gatccttttg caggcttttc agaatttttt tttttttta 3480  
atgcaccctc ctacgctctc ccccttctca taaagtaaaa taaatcagat taaaaacacc 3540  
aatgcattt catlaattga aggaatcaac agtcccaact tctaagcaga cgggctggtc 3600  
ttccaaagge tgggtcgggt tcaggagctt tctctccaaa taaatctctg ctctctcgac 3660  
ttgcctatcg ctttaaaatc ttagaacag agttagtgtg tggtttccct cttttttctt 3720  
  
tttctttttt atttctttt tgcataaact tttagagaat caatctagaa atttgaacta 3780  
cttattagca ttgcaactg ggggtggggg gacgagctc ccccaccca cccccactc 3840  
tgcgtttccg gactagtcc agaaaccgcg gtttaaaatt taacccttcg agggtagctg 3900

gtgagggctg gggatttgtt tttccccctt gctccctgcc acgatcaagt ccgaaataat 3960  
 taaagaaac gtaaaagtgc aaagggcgcg cctgacctg ataacagag gtcagatttc 4020  
 gtaaggggac gggtagtgt gagtgtgtgt gtgtttgtgt gtgtgtgtgt aagagagaga 4080  
 gagagcgagc gcgcaatatg agtctcaaag gccaaactcc ggccagtcag gagccggaag 4140

gctgagcccc gctgacctga ctttgacctt ccccggagtt atctcgata ggcgctcgct 4200  
 ctgtccaagg gcacgcgacg ccagcgggca gccggtctcc gtgaagaatg gcctctaac 4260  
 aacttatttt acctcgttgt aaagagaggg ataaaatggg ctttccctct ccacggatgc 4320  
 ccagccttct gggcaggcgc atggccgggc ggcgccagc ccgcagcccc gatccggaca 4380  
 cccactgca tcctccctt cccggtccct tccccgcacg ggcgccgag agacggacaa 4440  
 agagtgggg ccaagttga gcgccgggca cggccaggct caggaagga aggtccccgg 4500  
 cagacacctg ggtaccagag ttggtgcgag gaggaaaagc tgggagcga attcacaatc 4560

ctgggggtgg agggcagca ggggagggga atcaggcaa tcccagcca gtgagcccc 4620  
 agcgagctgg ggctccgat gggaggcctg tctcgcgctc caaagaaaag caaacgccc 4680  
 tcccaggtcc gcccgattg ccgaagcccc tctggaaaaa ctccttcccc tettacacca 4740  
 aactttgcgc cggcctcgt tcctcccgg gtaggcagcg gcgcaggaag ggttaagcca 4800  
 gcccgtccca gctgacagtc agctgattgg gccctgattg acagctccga aaagtctct 4860  
 tgtttctata ctattatgct aatcgcgcc gctctcgcg cctccattg gcccgagtg 4920  
 ccagtcaatt tctcatttg acctgacgtc acgagtgcta taaaactcag caattgcttt 4980

aaactcttct tgetggatca gagcttttaaatctttttt catcttctag ctgtagctcg 5040  
 ggctgcttgt cggtttggcc tccccctccc ccttttctc tctgcctcgt ctttccccag 5100  
 gacttcgcta ttttgccttt ttaaaaaaag gcaagaaaga actaaactcc cccctcctc 5160  
 tcctccagtc gggctgcacc tctgccttgc actttgcaca gaggtagaga gcgcgcgagg 5220  
 gagagagagg aaagaaaaa aataataaag agagccaagc agaagaggag gcgagaagca 5280  
 tgaagtgtta actccccgt gccaaaggccc gcgccgccg gacagacgcc cgcgcgcct 5340  
 ccagccccga ggggacgccg cgcgcgcct gcctgcagcc cgggccggcg aggcgagccc 5400

ttccttatgc aaagcgcga gcggagcggc gagcggggga cgccgcgac gggccgggc 5460  
 tcctccagct tcgcccccgc agccaccacc gcccccacc cagctcgcgg aggatcttcc 5520  
 cgagcctgaa gcccccggct cggcgcgcaa ggaggcgagc gagcaaggag gggccggggc 5580  
 gagcgaggga gcacattggc gtgagcaggg gggaggagg gcgggcgcgg ggggcgcggg 5640  
 cagggcgggg gggtagtgtgt gtgagcgcgc tcggaggttt cgggccagcc accgccgcgc 5700  
 aagctagaag cgccccagcc cggcaagctg gctcacccgc tggccacca gcacagccc 5760

ctggcccctc tctgcagcc catctggcgg agcggcggcg gcggcggcgg cggcggcagg 5820

agaatggcat cagaactggc aatgagcaac tccgacctgc ccaccagtcc cctggccatg 5880

gaatatgtta atgacttcca tctgatgaag ttggaagtga aaaaggaacc ggtggagacc 5940

gaccgcatca tcagccagtg cggccgtctc atcgccgggg gctcgtctgc ctccaccccc 6000

atgagcacgc cgtgcagctc ggtgccccct tccccagct tctcggcgcc cagccccggc 6060

tcgggcagcg agcagaaggc gcacctgga gactactact ggatgaccgg ctaccgcag 6120

cagctgaacc ccgaggcgtt gggcttcagc cccgaggacg cggtcgagcg gctcatcagc 6180

aacagccacc agctccaggg cggcttcgat ggctacgcgc gcggggcgca gcagctggcc 6240

gcggcggcgg gggccggctg cggcgcctcc ttgggcggca gcggcgagga gatgggcccc 6300

gccgccgccc tggigtccgc cgtgatcgcc gcggccgccc cgcagagcgg cgcgggcccc 6360

cactaccacc accaccacca ccacgccgc gccaccacc accaccgcag gcccgcgcg 6420

cccggcgccc cgggcagcgc gggccctcgc gccggtggcg ctggggcgcc gggcggcgg 6480

ggccccgcca gcgctggggg cggcggcggc ggccggcgcg gcggagggcg cggggcgcg 6540

gcggggggcg ggggcgcctt gcaccgcac caccgcccg gcggcctgca cttcagcag 6600

cgcttctccg acgagcagct ggtgaccatg tctgtgcgcg agctgaaccg gcagctgcgc 6660

ggggtcagca aggaggaggt gatccggctg aagcagaaga ggccggaccct gaaaaaccgc 6720

ggctatgccc agtccctgcc cttcaagagg gtgcagcaga gacacgtcct ggagtggag 6780

aagaaccagc tctgcagca agtcgaccac ctcaagcagg agatctccag gctgggtcgc 6840

gagagggagc cgtacaagga gaaatcagag aagtgtgtga gcagcgctt ccgagaaaac 6900

ggctcagca gcgacaacc gtcctctccc gagtttttca tgtgagtctg acacgcgatt 6960

ccagctagcc accctgataa gtgctccgcg ggggtccggc tcgggtgtgg gcttgctagt 7020

tctagagcca tgetcgcac cacctacca ccccccccc caccgagttt ggcccccttg 7080

gccccctaca cacacacaaa cccgcagca cacaccacac acacacacac acacacacac 7140

acaccccaca cctgctcga gtttgggtg gtggtggctg ttttaactg gggaggggat 7200

gggtgctgg ctcatggatt gccaatctga aattctccat aacttgctag cttgttttt 7260

ttttttttt acaccccc gccccccc cggacttga caatgttcaa tgatctcagc 7320

agagtcttc atgtgaaac ttgatcact ttgaagcctg catcattcac atatttttc 7380

ttctcttcc cctcagttc atgaactggt gttcattttc tgtgtgtgtg tgtgtttat 7440

ttgtttgga tttttttt taattttact tttagagctt gctgtgttgc ccacctttt 7500

tccaacctcc accctcactc cttctcaacc catctcttcc gagatgaaag aaaaaaaaaa 7560  
gcaaagtttt ttttcttct cctgagttct tcatgtgaga ttgagcttgc aaaggaaaaa 7620  
aaaatgtgaa atgttataga cttgcagcgt gccgagttcc atcgggtttt ttttttagca 7680  
ttgttatgct aaaatagaga aaaaaatcct catgaacctt ccacaatcaa gcctgcatca 7740  
accttctggg tgtgacttgt gagttttggc cttgtgatgc caaatctgag agtttagtct 7800  
gccattaaaa aaactcattc tcatctcatg cattattatg cttgctactt tgtcttagca 7860  
acaatgaact ataactgttt caaagacttt atggaaaaga gacattatat taataaaaaa 7920

aaaaagcctg catgctggac atgtatggta taattatfff ttcctttttt tttccttttg 7980  
gcttggaat ggacgttcca agacttatag catggcattc atacttttgt tttattgcct 8040  
catgactttt ttgagtttag aacaaaacag tgcaaccgta gagccttctt cccatgaaat 8100  
tttgcactcg ctccaaaact gctttgagtt actcagaact tcaacctccc aatgcactga 8160  
aggcattcct tgicaaagat accagaatgg gttacacatt taacctggca aacattgaag 8220  
aactcttaat gttttctttt taataagaat gacgccccac tttggggact aaaattgtgc 8280  
tattgccgag aagcagtcta aaatttattt tttaaaaaga gaaactgccc cattatffff 8340

ggttttgttt atfffftatt tatafffft ggcttttggg cattgtcaaa tgtggaatgc 8400  
tctgggttcc tagtatataa ttttaattcta gtttttataa tctgttagcc cagttaaaat 8460  
gtatgtaca gataaaggaa tgttatagat aaatttgaaa gagttaggtc tgttttagctg 8520  
tagatfffft aaacgattga tgcactaaat tgtttactat tgtgatgtta aggggggtag 8580  
agtttgcaag gggactgttt aaaaaaagta gcttatacag catgtgcttg caacttaaat 8640  
ataagttggg tatgtgtagt ctttctata ccactgactg tattgaaaac caaagtatta 8700  
agaggggaaa cgcccctgtt tatactgta ggggtatfff acattcaaaa atgtatgttt 8760

tttttcttt tcaaaattaa agtatttggg actgaattgc actaagatat aacctgcaag 8820  
catataatac aaaaaaaaaa tgcaaaactg tttagaacgc taataaaatt tatgcagtta 8880  
taaaaatggc attactgcac agttttaaga tgatgcagat tttttacag ttgtattgtg 8940  
gtgcagaact ggatfffft taacttaaaa aaaaatecac agttttaag gcaataatca 9000  
glaaatgtta tttcagga ctgacatcct gtctttaaaa agaaatgaaa agtaaatctt 9060  
accacaataa atataaaaaa atcttgtcag ttacttttct tttacatatt ttgctgtgca 9120  
aaattgtttt atatcttgag ttactaacta accacgcgtg ttgttctat gtgcttttct 9180

ttcattttca atcttggtta tatcaagaaa agaataatct acaataataa acggcatttt 9240  
tttttgatc tgtactcagt ttcttagtgt acagtttaac tgggccaac aacctcgtta 9300  
aaagtgtaaa atgcatcctt ttctccagtg gaaggattcc tggaggaata gggagacagt 9360

aattcagggt gaaattatag gctgtttttt gaagttagga ggctggcccc atatactgat 9420  
tagcaatatt taatatagat gtaaattatg acctcatfff ttctcccca aagttttcag 9480  
ttttcaaatg agttgagcca taattgcctt tggtaggaaa aacaaaaca aacagtggaa 9540  
ctaggcttcc tgagcatggc cctacacttc tgatcaggag caaagccatc catagacaga 9600  
  
ggagccggac aaatatggcg catcagaggt ggcttgcgca catatgcatt gaacggtaaa 9660  
gagaaacage gcttgccttt tcaactaaagt tgactatfff tccttcttct cttacacacc 9720  
gagatfffct tgitagcaag gcctgacaag atttaacata aacatgacaa atcatagttg 9780  
tttgttttgt tttgcttttc tctttaacac tgaagatcat ttgtcttaaa taggaaaaag 9840  
aaaatccact ccttacttcc atatttccaa gtacatatct ggtttaaaact atgttatcaa 9900  
atcatatfff accgtgaata ttcagtggag aacttctcta cctggatgag ctagtaatga 9960  
tttcagatca tgctatcccc agaaataaaa gcaaaaaata atacctgtgt ggaatatagg 10020  
  
ctgtgctttg atttactggt atttacccca aaataggctg tgtatggggg ctgacttaaa 10080  
gatcccttgg aaagactcaa aactaccttc actagtagga ctctaaagcg ctgacctatt 10140  
tttaaatgac acaaatcat gaaactaatg ttacaaattc atgcagtttg cactcttagt 10200  
catcttcccc tagcacacca atagaatgtt agacaaagcc agcactgttt tgaanaataca 10260  
gccaaacacg atgacttttg ttttgttttc tgccgttctt aaaagaaaa aagataatat 10320  
tgcaactctg actgaaagac ttatttttaa gaaaacaggt tgtgttttgt gctgctaagt 10380  
tctggccagt ttatcatctg gccttctctc ctatttttta caaacacga agacagtgtg 10440  
  
taacctcgac atttgacct tcctttatgt gctagtttag acaggctcct gaatccacac 10500  
ttaatfffgc ttaacaaaag tcttaatagt aaacctcccc tcatgagctt gaagtcaagt 10560  
gttcttgact tcagatattt ttttctttt ttttttttt tcctcatcac aactaagaga 10620  
tacacaaact ctgaagaagc agaaatggag agaatgcttt taacaaaaaa gcatctgatg 10680  
aaagatfff ggcaaacatt ctcaaaataa gagtgatatt ctggatgtag ttattgcagt 10740  
tatctcatga caaatgagcg ctggattgga aggaaaatat agttgtgtag aattaagcat 10800  
tttgatagga atctacaagg tagttgaata taataagcag gtttgggccc ccaacttta 10860  
  
gaaaatcaaa tgcaaagggt ctggcaaaaa tgaggtttga gtggctggct gtaagagaag 10920  
gttaactcct agtaaaagcg atfftttagaa ataacaatta ctgaaaactt tgaagtatag 10980  
tgggagtagc aaacaaatac atgttttttt ttcttaca aagaactccta aatcctgagt 11040  
aagtgccatt cattacaata agtctctaaa tttaaaaaaa aaaaaatcat atgaggaaat 11100  
ctagctttcc cctttacgct gcgtttgatc tttgtctaaa tagtgttaaa attcctttca 11160  
ttccaattac agaactgagc ccaactcgaa gttggagcca tcagtgggat acgccacatt 11220

ttggaagccc cagcatcgtg tacttaccag tgtgttcaca aaatgaaatt tgtgtgagag 11280  
  
 ctgtacatta aaaaaaatca tcattattat tattatttgc agtcatggag aaccacctac 11340  
 ccctgacttc tgtttagtct cctttttaaa taaaaattac tgtgttagag aagaaggcta 11400  
 ttaaatgtag tagttaacta tgcctcttgt ctgggggttt catagagacc ggtaggaaag 11460  
 cgcactcctg cttttcgatt tatggtgtgt gcaagtaaac aggtgcattg ctttcaacct 11520  
 gccatactag ttttaaaaat tcactgaaat tacaagata catatatatg catatatata 11580  
 atggaaagt tcccggaatg caacaattag cattttaaa tcatatatag gcatgcacat 11640  
 tctaataagt actttttcat gcttcattgt ttctctggca gataatttta ctaagaagaa 11700  
  
 aaatagatat tcgactcccc ttcctaacc aaatccacgg gcagaggctc cagcggagcc 11760  
 gagccccctg gttttctcgt aggcctaga cgggtttgca tttatcagt atgtcaaacg 11820  
 tgctcatttg tcagacatag ctgtaaatga aaacaatgtg tggcaaaata caaagttagt 11880  
 taaatacaca ccctctgtgt gatTTTTTgc tccttttct ttttTgctcc tactcaaaaa 11940  
 aaaaaaatc acctccttta catttccctg gcttcttga tgtttccctt ttcaaaaacc 12000  
 atgtaataat tttttacaat gtatctgaca cattaatata ttgacatcaa ataggcagac 12060  
 attctacttt tgcttgcaa ataaatctgc tacggagaca tcatttcctc actgtctcaa 12120  
  
 agccataact acctgggagt ctttcaacac agaccctcc gatgggaaat gctgtttatt 12180  
 actgaatgca ggatgctcac gctctgatct tttctcctt gtgcctttac cccagtcatt 12240  
 tttacttagc aacaccaatt ctagatactt ctgttctgaa gtagaaccac ccccttgcca 12300  
 cactgccagt tttctgcta aaagcagtgg acagaagaca gatcatggtc accctcacia 12360  
 acatggcaca cagctgtctc ggtagctgca ttcccagcat gtcctggtct aaatatctag 12420  
 agttgcctat gacacgttca aaggttcca agcacagtac attgggaggc ttttTgctgct 12480  
 gtggccgttg ttttcttta ggccaactta ctccgtatt cacatactct tggctttacg 12540  
  
 aaatacactc ctccagtcta ctaggccaat caatatattt aaaagtctga ttgccacata 12600  
 agtctctctc tctctctttt tgtttttgt ttgtttgtt ttttctgtt tggctgccgg 12660  
 tagttaaaga ctgagatagg ttggaagact aaaatacagg agtacctgag tgacaacctt 12720  
 cagccgtctg atttccatgc cggtaaaaca cacaaccaag ctcttcttag cgctgctaat 12780  
 ataaacattc actaagaggg aataggaagt gagatttacc agcttcaact tgcctgattg 12840  
 caaggtccc cactacgatt cactgtcatt tgattttga aaaataattt tgtccgtctc 12900  
 tttgaagaaa tgccttagtt cttttattt gtttTgttgg ttttttttag agaagtttta 12960

tctgcagtga taggctacaa tttttatctc cgctgattat ttgtcaggat gctgaatgaa 13020  
 taatttggtc ctgtgccttc cttgttgttc tgaggaaaat aagagaaact tggaaagttg 13080  
 tttcactctt agcccatcct aaatctaaaa gaagatgtcc caggfccagg caggccatgt 13140  
 agtagttata aaggagggtg tccagggtcca gccacctcaa tcaggatttg tttgttttga 13200  
 agcatttgc taaaagcga gcaagagtct taaccaact tgccataaca ctgcttttct 13260  
 cgcttttgat gtaaatectc aaaattcaga catcaaacag cccagaaaa ggggaattct 13320  
 ctccaggcat tgctccgcc cagctcctga acaaaccag ctctgtctag catttttttc 13380

cctagcgggg gtaggggaca gggtagagaga atttcagtct cccaggctgt ctcatgattg 13440  
 ttagggcata aagaaacaca gtcctgccac aaattgggag catctttacc ctttagagag 13500  
 aaacaaaaca aactaaaca aacaaatcaa attgctttgc atgaaggcgt agcaataaa 13560  
 atctcgggct cctgtttccc tgcaccattt gtaggaggtg agaaatgagg gaaacaagag 13620  
 aaaggggaac tttaaaagcg ggaggcccag aaataatccc tgttaccagt ctgaatttca 13680  
 cttgctccgt ggctaacgac agacctagtg tgcatgtatg ccagaagtaa actaggctcg 13740  
 gctgtccatt tctttaaata atgttcacat gtttcccttt tgaaaacaat tttggggact 13800

aaacccaaat ggagagattt gaggaaatcg ttaatgtctt aacatttgag tatatttata 13860  
 aatgtatcag tctgtgat 13878

<210> 14

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> INB-1-11-8 (H1) Heavy Chain

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(132)

<223> Variable Heavy Chain

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (133)..(138)

<223> Start of constant region

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (317)..(416)

<223> Variant

<400> 14

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1                    5                    10                    15  
 Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro  
                          20                    25                    30  
 Gly Thr Pro Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asn  
                          35                    40                    45  
 Asn Tyr Pro Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp  
                          50                    55                    60  
 Tyr Ile Gly Val Ile Asn Asn Ser Gly Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp  
  
 65                    70                    75                    80  
 Ala Lys Arg Arg Phe Thr Ile Ser Arg Thr Ser Thr Thr Leu Tyr Leu  
                          85                    90                    95  
 Lys Ile Ala Ser Pro Thr Ile Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala  
                          100                    105                    110  
 Arg Gly Gly Pro Val Ser Ser Asp Met Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val  
                          115                    120                    125  
 Ile Val Ser Ser Gly Gln Pro Lys Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
  
                          130                    135                    140  
 Pro Cys Cys Gly Asp Thr Pro Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu  
 145                    150                    155                    160  
 Val Lys Gly Tyr Leu Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly  
                          165                    170                    175  
 Thr Leu Thr Asn Gly Val Arg Thr Phe Pro Ser Val Arg Gln Ser Ser  
                          180                    185                    190  
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Ser Val Thr Ser Ser Ser Gln  
  
                          195                    200                    205  
 Pro Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp  
                          210                    215                    220  
 Lys Thr Val Ala Pro Ser Thr Cys Ser Lys Pro Thr Cys Pro Pro Pro  
 225                    230                    235                    240  
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
                          245                    250                    255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

260 265 270

Asp Val Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Thr Trp Tyr Ile Asn

275 280 285

Asn Glu Gln Val Arg Thr Ala Arg Pro Pro Leu Arg Glu Gln Gln Phe

290 295 300

Asn Ser Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Ala His Gln Asp

305 310 315 320

Trp Leu Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Lys Ala Leu

325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Pro Leu

340 345 350

Glu Pro Lys Val Tyr Thr Met Gly Pro Pro Arg Glu Glu Leu Ser Ser

355 360 365

Arg Ser Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Asn Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

370 375 380

Ile Ser Val Glu Trp Glu Lys Asn Gly Lys Ala Glu Asp Asn Tyr Lys

385 390 395 400

Thr Thr Pro Ala Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser

405 410 415

Lys Leu Ser Val Pro Thr Ser Glu Trp Gln Arg Gly Asp Val Phe Thr

420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

435 440 445

Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 15

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> INB-1-11-8 (H1) Variable Heavy Chain

<400> 15

Met Glu Thr Gly Leu Arg Trp Leu Leu Leu Val Ala Val Leu Lys Gly

1                    5                    10                    15

Val Gln Cys Gln Ser Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Thr Pro

                  20                    25                    30

Gly Thr Pro Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Leu Asn

                  35                    40                    45

Asn Tyr Pro Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp

                  50                    55                    60

Tyr Ile Gly Val Ile Asn Asn Ser Gly Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Lys Ile Ala Ser Pro Thr Ile Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

                  100                    105                    110

Arg Gly Gly Pro Val Ser Ser Asp Met Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val

                  115                    120                    125

Ile Val Ser Ser

                  130

<210> 16

<211> 236

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> INB-1-11-8 (L4) Light Chain

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(133)

<223> Variable Light Chain

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (134)..(139)

<223> Start of constant region

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (146)..(149)

<223> Variant

<400> 16

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 1                    5                    10                    15  
 Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro  
                   20                    25                    30  
 Val Ser Ala Val Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser  
                   35                    40                    45  
 Gln Ser Val Tyr Arg Gly Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro  
                   50                    55                    60

Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser  
 65                    70                    75                    80  
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr  
                   85                    90                    95  
 Leu Thr Ile Ser Asp Leu Asp Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys  
                   100                    105                    110  
 Ala Gly Gly Phe Ser Gly His Ile Tyr Asp Phe Gly Gly Gly Thr Glu  
                   115                    120                    125

Val Val Val Lys Gly Asp Pro Val Ala Pro Thr Val Leu Ile Phe Pro  
                   130                    135                    140  
 Pro Ala Ala Asp Gln Val Ala Thr Gly Thr Val Thr Ile Val Cys Val  
 145                    150                    155                    160  
 Ala Asn Lys Tyr Phe Pro Asp Val Thr Val Thr Trp Glu Val Asp Gly  
                   165                    170                    175  
 Thr Thr Gln Thr Thr Gly Ile Glu Asn Ser Lys Thr Pro Gln Asn Ser  
                   180                    185                    190

Ala Asp Cys Thr Tyr Asn Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Ser Thr  
                   195                    200                    205  
 Gln Tyr Asn Ser His Lys Glu Tyr Thr Cys Lys Val Thr Gln Gly Thr  
                   210                    215                    220  
 Thr Ser Val Val Gln Ser Phe Asn Arg Gly Asp Cys  
 225                    230                    235

<210> 17

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> INB-1-11-8 (L4) Variable Light Chain

<400> 17

Met Asp Thr Arg Ala Pro Thr Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1                    5                    10                    15  
 Leu Pro Gly Ala Thr Phe Ala Gln Val Leu Thr Gln Thr Ala Ser Pro

                  20                    25                    30  
 Val Ser Ala Val Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser

                  35                    40                    45  
 Gln Ser Val Tyr Arg Gly Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro

                  50                    55                    60  
 Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser

65                    70                    75                    80  
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr

                  85                    90                    95  
 Leu Thr Ile Ser Asp Leu Asp Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys

                  100                    105                    110  
 Ala Gly Gly Phe Ser Gly His Ile Tyr Asp Phe Gly Gly Gly Thr Glu

                  115                    120                    125  
 Val Val Val Lys Gly

                  130

<210>

> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1

<400> 18

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Arg Gly Asp Trp Leu Ala

1                    5                    10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2

<400> 19

Gly Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1                    5

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3

<400> 20

Ala Gly Gly Phe Ser Gly His Ile Tyr Asp

1                    5                    10

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR1

<400> 21

Asn Tyr Pro Met Thr

1                    5

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR2

<400> 22

Val Ile Asn Asn Ser Gly Glu Thr Ala Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Arg

1                    5                    10                    15

<210> 23

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDR3

<400> 23

Gly Gly Pro Val Ser Ser Asp Met

1                    5

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Glu Gln Lys Ala His Leu Glu Asp Tyr Tyr Trp Met Thr Gly Tyr Pro

1                    5                    10                    15

Gln Gln