	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2019-0006695 (43) 공개일자 2019년01월21일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 31/506 (2006.01) A61K 31/517 (2006.01) A61K 31/5377 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)		(71) 출원인 연세대학교 산학협력단 서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(52) CPC특허분류 A61K 31/506 (2013.01) A61K 31/517 (2013.01)		(72) 발명자 양재문 서울특별시 용산구 이촌로87길 21, 106동 1908호 (이촌동, 이촌아파트)
(21) 출원번호	10-2017-0087713	고윤우 서울특별시 강남구 봉은사로51길 40(논현동) (뒷면에 계속)
(22) 출원일자	2017년07월11일	(74) 대리인
심사청구일자	2018년07월26일	특허법인다나

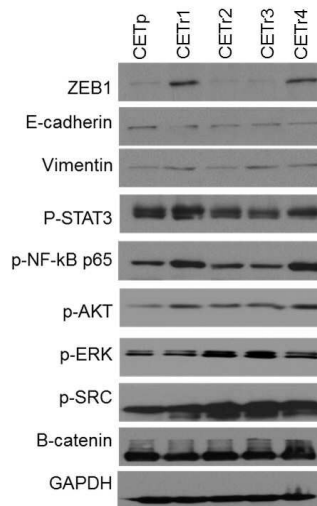
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 EGFR 과발현 두경부암에서 EGFR 억제제 사용 후 EMT 관련 단백질이 증가하는 기전을 근거로 한 약물 저항성 극복을 위한 약학 조성물 및 약물 선택의 정보 제공 방법

### (57) 요약

본 발명은 EGFR 과발현 두경부암의 치료에 있어서 EGFR 억제제 투여 후 EMT 관련 단백질의 발현이 증가하는 기전을 근거로 하여 EGFR 억제제의 저항성을 극복하기 위한 약학 조성물 및 약물 선택을 위한 정보 제공 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따르면 EGFR 억제제와 EMT 억제제를 병용 투여함으로써 EGFR 과발현 두경부암 치료 효과를 나타낼 수 있다.

### 대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

*A61K 31/5377* (2013.01)

*A61K 39/3955* (2013.01)

*G01N 33/68* (2013.01)

*A61K 2300/00* (2013.01)

*G01N 2333/71* (2013.01)

(72) 발명자

**변형권**

서울특별시 강남구 삼성로 151, 6동 306호(대치동,  
선경아파트)

**양연주**

서울특별시 은평구 백련산로 38, 210동 405호(응암  
동, 백련산 힐스테이트 2차)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI16C0179

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 질환극복기술개발, 질병중심 중개 중점 연구

연구과제명 항암제 저항성 극복을 위한 맞춤형 종양제어 및 다중표적 항체-약물 플랫폼 개발

기 여 율 1/1

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2016.04.01 ~ 2019.03.31

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

EMT 억제제 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 포함하는, EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제와 병용 투여하기 위한 약학 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

EMT 억제제와 EGFR 억제제는 병용 투여시 단일 약물로 각각 투여되는 것인, 약학 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

EMT 억제제와 EGFR 억제제는 병용 투여시 항체-약물 결합체의 형태로 투여되는 것인, 약학 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

EGFR 과발현 두경부암은 세록시맵에 내성을 갖거나 또는 내성을 갖지 않은 두경부암인 약학 조성물.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

EGFR 과발현 두경부암은 EGFR 억제제의 투여 후 EMT 관련 단백질의 발현이 증가되어 있는 상태인 약학 조성물.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,

EMT 억제제는 SRC 억제제, FAK 억제제, HDAC 억제제, 메트포르민(metformin), Wnt 억제제, TGF- $\beta$  억제제 및 CDK 억제제로 이루어진 군에서 선택된 것인 약학 조성물.

#### 청구항 7

제6항에 있어서,

SRC 억제제는 다사티닙(dasatinib), 사라카티닙(saracatinib), 보수티닙(bosutinib), 및 퀘르세틴(quercetin)로 이루어진 군에서 선택된 것인 약학 조성물.

#### 청구항 8

제6항에 있어서,

FAK 억제제는 데팍티닙(defactinib), PF-562271 및 PF-00562271로 이루어진 군에서 선택된 것인 약학 조성물.

#### 청구항 9

제6항에 있어서,

HDAC 억제제는 보리노스탯(Vorinostat), 트리코스타틴 A(Trichostatin A), 엔티노스탯(Entinostat), 발프로산(Valproic acid) 및 모세티노스탯(Mocetinostat)으로 이루어진 군에서 선택된 것인 약학 조성물.

#### 청구항 10

제1항에 있어서,

EGFR 억제제는 세툽시맙(cetuximab), 게피티닙(gefitinib) 및 아파티닙(afatinib)으로 이루어진 군에서 선택된 것인 약학 조성물.

#### 청구항 11

제10항에 있어서,

EGFR 억제제는 세툽시맙(cetuximab)인 약학 조성물.

#### 청구항 12

두경부암 환자에서 분리한 생물학적 시료로부터 EGFR 발현 정도를 확인하고,

EGFR이 과발현된 경우, EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제와 EMT 억제제를 병용 투여하도록 정보를 제공하는 것을 포함하는,

EGFR 과발현 두경부암의 치료용 약물 선택을 위한 정보 제공 방법.

#### 청구항 13

제12항에 있어서,

EGFR 과발현 두경부암 환자의 경우, EGFR 억제제의 투여 후 EMT 관련 유전자 또는 단백질의 발현 수준이 증가되어 있는 상태인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 14

제13항에 있어서,

EMT 관련 유전자 또는 단백질은 SRC, FAK, ZEB1, TGF- $\beta$ , 스네일(snail), 슬러그(slug), 비멘틴(vimentin), 베타-카테닌( $\beta$ -catenin), CDK4 및 CDK6으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 15

제12항에 있어서,

생물학적 시료는 혈액, 혈장, 혈청, 뇨, 변, 타액, 눈물, 척수액, 세포 또는 조직인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 16

제12항에 있어서,

EMT 억제제는 SRC 억제제, FAK 억제제, HDAC 억제제, 메트포르민(metformin), Wnt 억제제, TGF- $\beta$  억제제 및 CDK 억제제로 이루어진 군에서 선택된 것인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 17

제12항에 있어서,

EGFR 억제제는 세툽시맙(cetuximab), 게피티닙(gefitinib) 및 아파티닙(afatinib)으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 정보 제공 방법.

#### 청구항 18

제12항에 있어서,

EGFR 과발현 두경부암 환자는 세툽시맙에 내성을 갖거나 또는 내성을 갖지 않은 두경부암 환자인, 정보 제공 방법.

### 발명의 설명

## 기술분야

[0001] 본 발명은 EGFR 과발현 두경부암의 치료에 있어서, EGFR 억제제 투여 후 EMT 관련 단백질의 발현이 증가하는 기전을 근거로 하여 EGFR 억제제의 저항성 극복을 위한 약학 조성물 및 약물 선택의 정보 제공 방법에 관한 것이다.

## 배경기술

[0002] 두경부암(head and neck cancer)은 췌장보다 상부에 발생하고 뇌보다는 하부에 발생하는 암의 총칭을 의미한다. 두경부암은 세계적으로 6번째로 가장 흔한 암이며, 전 세계적으로 해마다 60만명의 신환이 발생하며, 이중 50% 미만이 완치된다.

[0003] 또한, 폐암 신환의 약 20-30%, 대장암 신환의 약 60-70% 및 두경부암 신환의 약 80-90%가 표피성장인자수용체(epidermal growth factor receptor; EGFR) 과발현 암종을 나타내며 유병율이 매우 높게 나타난다. 그리고 이러한 EGFR 과발현 여부가 상기 암의 치료성적과 긴밀한 관련이 있음이 밝혀져 왔다.

[0004] 현재 두경부암의 치료를 위해 미국식품의약국(FDA)에서 승인된 EGFR 표적 치료제로는 세특시맙(Cetuximab; 제품명 Erbitux<sup>®</sup>)이 유일하나, 상기 EGFR 표적 치료제의 우수한 초기 효과에도 불구하고 대부분의 환자에게서 평균 6-8개월 후 획득 내성(저항성)이 발생하여 사망에 이르게 되기도 한다.

[0005] 이에, EGFR 표적 치료제의 약제 내성 극복을 위한 새로운 치료제의 개발이 시급한 실정이다.

## 선행기술문헌

### 비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) Wang D et al. Clin Cancer Res. HER3 Targeting Sensitizes HNSCC to Cetuximab by Reducing HER3 Activity and HER2/HER3 Dimerization: Evidence from Cell Line and Patient-Derived Xenograft Models. 2017 Feb 1;23(3):677-686.

(비특허문헌 0002) Braunholz D et al. (2016) Spheroid Culture of Head and Neck Cancer Cells Reveals an Important Role of EGFR Signaling in Anchorage Independent Survival, PLoS ONE 11(9):e0163149

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 EGFR 과발현 두경부암의 치료에 있어서 EGFR 억제제 투여 후 EMT 관련 단백질의 발현이 증가하는 기전을 근거로 하여 EGFR 억제제의 저항성 극복을 위한 약학 조성물 및 약물 선택을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

[0009] EMT 억제제 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 포함하는, EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제와 병용 투여하기 위한 약학 조성물을 제공한다.

[0010] 본 발명은 또한,

[0011] 두경부암 환자에서 분리한 생물학적 시료로부터 EGFR 발현 정도를 확인하고,

[0012] EGFR이 과발현된 경우, EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제와 EMT 억제제를 병용 투여하도록 정보를 제공하는 것을 포함하는,

[0013] EGFR 과발현 두경부암의 치료용 약물 선택을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.

- [0015] 이하, 본 발명의 구성을 상세하게 설명하기로 한다.
- [0017] 본 발명은 EGFR 과발현 두경부암 환자에서 SRC를 포함한 EMT 관련 단백질의 발현이 증가되는 것을 기초로, SRC 억제제를 포함한 EMT 억제제 또는 약제학적으로 허용가능한 그의 염을 포함하는, EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제와 병용 투여하기 위한 약학 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명에 있어서, "EGFR 과발현 두경부암"은 두경부암 중 표피성장인자수용체(EGFR)가 과발현되어 있는 경우로, 두경부암 세포로부터 확인한 EGFR의 발현양이 정상세포에 비해 1.5배 이상인 경우를 의미한다. 상기 EGFR 과발현 두경부암은 세툽시맙(cetuximab)에 내성을 갖거나 또는 내성을 갖지 않은 두경부암일 수 있다. 한 구체예에서, 상기 EGFR 과발현 두경부암은 EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제의 투여한 후 EMT 관련 유전자의 발현이 증가되어 있는 상태일 수 있으며, 예컨대 상기 EMT 관련 유전자는 SRC일 수 있다.
- [0019] 본 발명에 있어서, "EMT 억제제"는 EMT의 발현을 억제하는 약물을 의미하며, 예컨대 SRC 억제제, FAK 억제제, HDAC 억제제(ZEB1 억제제), 메트포르민(metformin), Wnt 억제제, TGF- $\beta$  억제제 또는 CDK 억제제일 수 있다.
- [0020] 본 발명에 있어서, "SRC 억제제"는 SRC를 억제함으로써 암 발생 단백질의 생성을 억제하는 약물을 의미하며, 예컨대 다사티닙(dasatinib), 사라카티닙(saracatinib), 보수티닙(bosutinib) 또는 퀘르세틴(quercetin) 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0021] 본 발명에 있어서, "FAK(focal adhesion kinase) 억제제"는 세포의 이동과 성장, 생존에 중요한 역할을 하는 FAK 효소를 억제함으로써 암 세포의 성장과 전이를 억제하는 약물을 의미하며, 예컨대 데팩티닙(defactinib), PF-562271 또는 PF-00562271일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 상기 "히스톤 탈아세틸화 효소 억제제(Histone deacetylase inhibitor)"는 히스톤 디아세틸라아제(histone deacetylase, HDAC)라는 효소에 작용하여 상기 효소 활성을 억제하는 약물로, 히스톤 단백질의 변형을 통해 유전자의 발현을 조절하는 히스톤 디아세틸라아제의 활성을 저해시키면 세포주기 정지, 혈관 형성 억제, 면역 조절, 세포사멸 등을 유도해 암세포 생성을 늦추거나 박멸시키는 약물을 의미한다.
- [0023] 본 발명에 있어서, 상기 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제는 보리노스탯(Vorinostat), 트리코스타틴 A(Trichostatin A), 엔티노스탯(Entinostat), 발프로산(Valproic acid) 또는 모세티노스탯(Mocetinostat) 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명에 있어서, "메트포르민(metformin)"은 AMPK의 활성화를 통해 암세포의 증식을 직접적으로 억제하는 약물을 의미한다.
- [0025] 본 발명에 있어서, "Wnt 억제제"는 다발성 암의 주요 종양원성 경로 중 하나인 Wnt 신호전달을 억제하는 약물을 의미하며, 예컨대 N-[5-(3-플루오로페닐)피리딘-2-일]-2-[5-메틸-6-(피리다진-4-일)피리딘-3-일]아세트아미드, 2-[5-메틸-6-(2-메틸피리딘-4-일)피리딘-3-일]-N-[5-(피라진-2-일)피리딘-2-일]아세트아미드, N-(2,3'-비피리딘-6'-일)-2-(2',3-디메틸-2,4'-비피리딘-5-일)아세트아미드, N-(5-(4-아세틸피페라진-1-일)피리딘-2-일)-2-(2'-메틸-3-(트리플루오로메틸)-2,4'-비피리딘-5-일)아세트아미드, N-(5-(4-아세틸피페라진-1-일)피리딘-2-일)-2-(2'-플루오로-3-메틸-2,4'-비피리딘-5-일)아세트아미드, 및 2-(2'-플루오로-3-메틸-2,4'-비피리딘-5-일)-N-(5-(피라진-2-일)피리딘-2-일)아세트아미드로 이루어진 군에서 선택된 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0026] 본 발명에 있어서, "TGF- $\beta$  억제제"는 세포 성장 및 분화, 배아 발달, 골 발달, 세포외 매트릭스 형성, 조혈작용, 면역반응 및 염증 반응의 다면발현성 조절인자인 단백질 TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 및 TGF- $\beta$ 3의 계열을 억제하는 약물을 의미한다. 상기 TGF- $\beta$  억제제로는 예컨대, 노긴(noggin) 또는 SB431542이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명에 있어서, "CDK 억제제"는 세포 분열과 성장을 조절하는 사이클린 의존성 키나아제(cyclin-dependent kinase; CDK)를 선별적으로 억제하는 약물을 의미하며, 예컨대, 팔보시클립(palbociclib), 아베마시클립(abemaciclib), 리보시클립(ribociclib) 또는 트릴라시클립(trilaciclib)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명에 있어서, EMT 억제제의 약제학적으로 허용 가능한 염은 환자에게 비교적 비독성이고 무해한 유효작용을 갖는 농도로서, 이 염에 기인한 부작용이 SRC 억제제의 이로운 효능을 떨어뜨리지 않는 유기 또는 무기 부가

염을 의미한다. 예를 들어, 약제학적으로 허용 가능한 염은 유기산 또는 무기산을 이용하여 형성된 산 부가염일 수 있으며, 상기 유기산은, 예를 들면 포름산, 아세트산, 프로피온산, 락트산, 부티르산, 이소부티르산, 트리플루오로아세트산, 말산, 말레인산, 말론산, 푸마르산, 숙신산, 숙신산 모노아미드, 글루탐산, 타르타르산, 옥살산, 시트르산, 클리콜산, 글루쿠론산, 아스코르브산, 벤조산, 프탈산, 살리실산, 안트라닐산, 디클로로아세트산, 아미노옥시 아세트산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 및 메탄술폰산계 염을 포함하며 무기산은 예를 들면 염산, 브롬산, 황산, 인산, 질산, 탄산 및 붕산계 염을 포함한다. 바람직하게는 염산염 또는 아세트산염 형태일 수 있다. 또한, 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등) 및 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염) 등일 수 있다.

[0029] 본 발명에 있어서, "EGFR 억제제"는 EGFR을 억제함으로써 두경부암에 대해 항암 효과를 갖는 것으로 알려진 임의의 항암제를 의미하며, 단일클론항체 또는 티로신кина제 억제제가 있다. 단일클론항체로서 세툽시맙(Cetuximab), 마투주맙(Matuzumab), 파니투무맙(Panitumumab) 등이 있고, 티로신кина제 억제제로서 게피티닙(gefitinib), 엘로티닙(erlotinib) 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 한 구체예에서, 상기 EGFR 억제제는 단일클론항체로서 세툽시맙일 수 있다.

[0030] 한 구체예에서, 상기 약학 조성물은 EGFR 억제제 및 EMT 억제제를 각각 포함하는 약학 조성물로 제제화되어, 두 약물을 동시적 또는 순차적으로 투여하기 위한 형태일 수도 있다. 이 경우, 상기 약학 조성물은 유효성분으로 EGFR 억제제를 포함하는 제 1 약학 조성물 및 유효성분으로 EMT 억제제를 포함하는 제 2 약학 조성물을 포함하는, 동시적 또는 순차적 투여를 위한 약학 조성물일 수 있다. 상기 제 1 약학 조성물과 제 2 약학 조성물을 순차적으로 투여하는 경우, 제 1 약학 조성물과 제 2 약학 조성물 간의 투여 간격은 동시, 1초 내지 24시간, 1초 내지 12시간, 또는 1분 내지 60분 또는 1분 내지 10분일 수 있으며, 그 순서는 서로 바뀌어도 무방하다.

[0031] 상기와 같이 EGFR 억제제와 EMT 억제제를 각각 포함하는 약학 조성물로 제제화되어 투여되는 경우, 상기 약물들은 각각의 약물에 따른 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함할 수 있다. 본 발명에서 용어, "약제학적으로 허용가능한 담체"란 생물체를 상당히 자극하지 않고 투여 성분의 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 담체 또는 희석제를 말한다.

[0032] 먼저, EGFR 억제제를 포함하는 약학 조성물로 제제화되는 경우, 항체의 제제화에 통상적으로 이용되는 것으로서 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아 고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세결정성 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘, 미네랄 오일 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 약학 조성물은 상기 성분들 이외에 약학 조성물 제조에 통상적으로 사용되는 희석제, 부형제, 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 포함할 수 있다.

[0033] 상기 약학 조성물은 비경구로 투여될 수 있다. 비경구 투여인 경우에는 정맥내 주입, 피하 주입, 근육 주입, 복강 주입, 내피 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여 및 직장내 투여 등으로 투여할 수 있다.

[0034] 상기 약학 조성물 또는 EGFR의 적절한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성별, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있다. 상기 조성물의 바람직한 투여량은 성인 기준으로 0.001 내지 100mg/kg 범위 내이다. 예컨대, 상기 약학 조성물 또는 EGFR 억제제의 1일 투여량은 0.001 내지 1000mg/kg, 구체적으로 0.01 내지 100mg/kg, 보다 구체적으로 0.1 내지 50mg/kg 범위일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 1일 투여량은 단위 용량 형태로 하나의 제제로 제제화되거나, 적절하게 분량하여 제제화되거나, 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다.

[0035] 상기 약학 조성물은 당해 당업자가 용이하게 실시할 수 있는 방법에 따라, 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 부형제를 이용하여 제제화함으로써 단위 용량 형태로 제조되거나 또는 다용량 용기 내에 내입시켜 제조될 수 있다. 이때 제형은 오일 또는 수성 매질중의 용액, 현탁액, 시럽제 또는 유화액 형태이거나 액스제, 산제, 분말제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태일 수도 있으며, 분산제 또는 안정화제를 추가로 포함할 수 있다.

[0036] 예컨대, 상기 약학 조성물은 항체를 포함하므로, 면역 리포솜으로 제형화될 수 있다. 항체를 포함하는 리포솜은 당업계에 널리 알려진 방법에 따라 제조될 수 있다. 상기 면역 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 폴리에틸렌글리콜-유도체화된 포스파티딜에탄올아민을 포함하는 지질 조성물로서 역상 증발법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 항체의 Fab' 단편은 디설파이드-교체 반응을 통해 리포솜에 접합될 수 있다. 또한, 독소루비신과 같은 화학제가 추가로 리포솜 내에 포함될 수 있다.

[0037] 다음으로, EMT 억제제를 포함하는 약학 조성물로 제제화되는 경우, 약제학적으로 허용 가능한 담체는 예컨대, 경



구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체로는 락토스, 전분, 셀룰로오스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있고, 비경구 투여용 담체로는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 또는 1 성분 이상을 혼합하여 포함할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액 및 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가하여, 조직 또는 장기에 주입하기에 적합한 주사제의 형태로 제형화할 수 있다. 또한, 등장성 멸균 용액, 또는 경우에 따라 멸균수나 생리식염수를 첨가하여 주사 가능한 용액이 될 수 있는 건조 제제(특히 동결 건조제제)로 제형화할 수도 있다. 또한, 표적 기관에 특이적으로 작용할 수 있도록 표적 기관 특이적 항체 또는 기타 리간드를 상기 담체와 결합시켜 사용할 수 있다.

[0038] 또한 바람직하게 본 발명의 조성물은 증진제, 부형제, 붕해제, 결합제 및 활택제 등을 추가로 포함할 수 있다. 또한 본 발명의 조성물은 포유동물에 투여된 후 활성성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 사용하여 제형화 될 수 있다.

[0040] 또 다른 구체예에서, 상기 약학 조성물은 항체-약물 결합체의 형태인 EGFR 억제제 및 EMT 억제제를 포함하는, 두 약물의 동시 투여를 위한 형태일 수 있다.

[0041] 본 발명에서, "항체-약물 결합체(Antibody-drug conjugate, ADC)"는 본 발명의 단일클론항체와 약물이 연결된 접합체를 의미하며, 면역 접합체로도 불릴 수 있다. 상기 항체-약물 결합체는 당업계에 공지된 다양한 방법을 이용하여 제조할 수 있다.

[0042] 본 발명에서, "단일클론항체"는 실질적으로 동일한 항체 집단에서 수득한 단일 분자 조성의 항체 분자를 지칭하고, 이러한 단일클론항체는 특정 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타낸다.

[0043] 본 발명에서, "약물"은 본 발명의 항체에 결합하여 치료 항체 자체의 효율을 증가시키거나, 항체의 혈중 내의 반감기를 증가시킬 수 있거나, 항체가 표적으로 하는 위치에 도달하여, 상기 표적 내의 암 등을 사멸시켜서 질병의 치료에 사용할 수 있는 물질을 제한없이 포함하며, 본 발명에 있어서 EMT 억제제가 바람직하다.

[0044] 본 발명에 있어서, 상기 약학 조성물은 필요에 따라 약물의 제조, 사용 및 판매를 관장하는 정부 기관에 의해 지시된 형태로 포장과 연계된 지시서가 수반될 수 있으며, 상기 지시서는 조성물의 형태 또는 인간이나 동물 투여에 관하여 상기 기관의 승인을 나타내고 있고, 예를 들어, 약물의 처방에 대하여 미국 식품의약국에서 승인된 표지일 수 있다.

[0045] 본 발명에서 용어, "투여"는 어떠한 적절한 방법으로 환자에게 본 발명의 조성물을 도입하는 것을 의미하며, 본 발명의 조성물의 투여 경로는 목적 조직에 도달할 수 있는 한 경구 또는 비경구의 다양한 경로를 통하여 투여될 수 있다. 복강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 피하 투여, 피내 투여, 경구 투여, 국소 투여, 비내 투여, 폐내 투여, 직장내 투여 될 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0046] 본 명세서에서, "유효량"은 목적하는 치료되어야 할 특정 질환의 발병 또는 진행을 지연하거나 전적으로 중지시키는 데 필요한 양을 의미한다. 본 발명에서 조성물은 약학적 유효량으로 투여될 수 있다. 적합한 총 1일 사용량은 올바른 의학적 판단범위 내에서 처치의에 의해 결정될 수 있다는 것은 당업자에게 자명한 일이다.

[0047] 본 발명의 목적상, 특정 환자에 대한 구체적인 치료적 유효량은 달성하고자 하는 반응의 종류와 정도, 경우에 따라 다른 제제가 사용되는지의 여부를 비롯한 구체적 조성물, 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 구체적 조성물과 함께 사용되거나 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자와 의약 분야에 잘 알려진 유사 인자에 따라 다르게 적용하는 것이 바람직하다.

[0049] 또한, 본 발명은,

[0050] 두경부암 환자에서 분리한 생물학적 시료로부터 EGFR 발현 정도를 확인하고,

[0051] EGFR이 과발현된인 경우, EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제와 EMT 억제제의 병용 투여하도록 정보를 제공하는 것을 포함하는,

[0052] EGFR 과발현 두경부암의 치료용 약물 선택을 위한 정보 제공 방법을 제공한다.

[0053] 보다 구체적으로, 본 발명은 두경부암 환자로 부터 분리한 생물학적 시료에 존재하는 EGFR 발현 정도를 확인함으



로써, EGFR이 과발현된 경우 해당 시료의 환자에게 상기 두경부암의 치료를 위해 EGFR 억제제 및 EMT 억제제를 병용 투여하도록 정보를 제공하는 것이다.

- [0054] 본 발명에 있어서, 상기 정보 제공 방법은 의사가 EGFR 과발현 두경부암을 치료하기 위해 EGFR 억제제와 EMT 억제제를 병용 투여하기 위한 병용 투여 대상을 선별하는 방법일 수 있다.
- [0055] 한 구체예에서, 상기 EGFR 과발현 두경부암의 경우 EGFR 억제제의 투여 후 EMT 관련 유전자 또는 단백질의 발현 수준이 증가되어 있는 상태일 수 있으며, 상기 EGFR 억제제는 세톡시맵(cetuximab)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 EMT 관련 유전자 또는 단백질은 SRC, ZEB1, FAK, HDAC, Wnt, TGF- $\beta$ , CDK4 또는 CDK6 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0056] 본 발명에 있어서, 상기 정보 제공 방법은 EGFR 과발현 두경부암 환자에서 EMT 관련 유전자 또는 단백질의 발현 수준의 증가 여부를 확인하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0057] 본 발명에 있어서, EMT 관련 유전자 및 단백질의 검출에는 당업계에서 알려진 다양한 방법들을 사용할 수 있다. 예를 들어, 역전사효소 증합효소반응(RT-PCR), 경쟁적 역전사효소 증합효소반응(competitive RT-PCR), 실시간 역전사효소 증합효소반응(real time quantitative RT-PCR), 노던 블랏팅(northern blotting), 현장혼성화 분석법(in situ hybridization assay) 유전자칩(DNA chip), 웨스턴 블랏팅(western blotting), RTK 분석(RTK array) 또는 마이크로어레이(microarray)를 이용해 측정할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0058] 한 구체예에서, 상기 생물학적 시료는 환자의 조직, 세포, 혈액, 혈청, 혈장, 타액 또는 뇨일 수 있으나, 시료가 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0059] 본 발명에 있어서, 상기 "EGFR 과발현 두경부암 환자"는 두경부암 환자 중 EGFR이 과발현된 상태의 환자를 말하며, 두경부암 환자로부터 분리한 생물학적 시료에서 EGFR의 발현량이 정상세포에 비해 1.5배 이상인 환자를 의미한다.
- [0060] 본 발명에 있어서, EGFR 억제제 및 EMT 억제제는 상기 약학 조성물에서 기술한 모든 내용을 그대로 적용할 수 있다.
- [0061] 본 발명에 있어서, EGFR 발현 정도는 상기 환자로부터 분리한 생물학적 시료에 존재하는 DNA를 분석하는 액체 생체검사(liquid biopsy) 등의 비침습적 검체 분석 방법을 이용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며 통상적으로 사용되는 모든 방법을 적용할 수 있다.
- [0062] 한 구체예에서, 상기 EGFR 과발현 두경부암은 세톡시맵에 대해 내성을 획득하거나 또는 내성을 획득하지 않은 경우를 모두 포함할 수 있다.
- [0063] 본 발명에 있어서, 상기 세톡시맵에 대한 내성 획득 여부는 세포 수준에서 확인할 수 있다. 한 구체예에서, 세톡시맵에 민감성을 보이는 EGFR 과발현 두경부암 세포주에 세톡시맵을 지속적으로 처리하여 내성을 획득한 세포주에 대해 MTT assay, phosphorylated RTK assay 등의 분석법을 이용하여 세톡시맵에 대한 내성 획득 여부를 확인할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0064] 본 발명에 있어서, EGFR 과발현 두경부암은 EMT 관련 유전자 또는 단백질의 발현이 증가된 상태일 수 있다. 상기 EMT 관련 유전자 또는 단백질은 SRC, FAK, ZEB1, TGF- $\beta$ , 스네일(snail), 슬러그(slug), 비멘틴(vimentin), 베타-카테닌( $\beta$ -catenin), CDK4 및 CDK6로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0065] 본 발명에 있어서, 시료에 존재하는 EMT 관련 유전자 또는 단백질의 발현 수준을 측정하기 위해서는, 이들을 검출할 수 있는 각종 제제들을 사용할 수 있다.
- [0066] 본 발명에 있어서, 상기 "발현 수준을 측정할 수 있는 제제"란, 환자의 시료 내에서 EMT 관련 유전자 또는 단백질의 존재를 검출하기 위하여 사용될 수 있는 물질을 의미한다. EMT 관련 유전자(예컨대, SRC, FAK, ZEB1, TGF- $\beta$ , 스네일(snail), 슬러그(slug), 비멘틴(vimentin), 베타-카테닌( $\beta$ -catenin), CDK4 또는 CDK6)의 경우, 상기 발현 수준을 측정할 수 있는 제제는 상기 유전자에 상보적으로 결합할 수 있는 프라이머, 프로브, 안티센스 올리고뉴클레오타이드 등이 될 수 있다. 상기 프라이머, 프로브, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 EMT 관련 유전자의 염기서열에 특이적으로 결합하고 다른 핵산물질의 염기서열에는 특이적 결합을 하지 않는 것이 바람직하다.
- [0067] 이때, 상보적으로 결합한다는 것은 소정의 혼성화 또는 어닐링 조건, 바람직하게는 생리학적 조건 하에서 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 EMT 관련 유전자 타겟에 선택적으로 혼성화할 정도로 충분히 상보적인 것을 의미

하며, 실질적으로 상보적(substantially complementary) 및 완전히 상보적(perfectly complementary)인 것을 모두 포함하는 의미를 가지며, 바람직하게는 완전히 상보적인 것을 의미한다.

[0068] 한 구체예에서, 본 발명의 EMT 관련 유전자를 검출하는 데 사용되는 제제는, 안티센스 올리고뉴클레오타이드일 수 있다. 용어, "안티센스 올리고뉴클레오타이드"는 타겟으로 하는 miRNA, 특히 miRNA의 씨드 서열에 대한 상보적인 서열을 가지고 있어 miRNA와 이합체를 형성할 수 있는 핵산 기반의 분자를 의미하며, 본원의 miRNA 바이오마커를 검출하는 데 사용될 수 있다.

[0069] 다른 구체예에서, 본 발명의 miRNA 바이오마커를 검출하는데 사용되는 제제는, 프라이머일 수 있다. 용어, "프라이머"란, 주형 가닥에 상보적인 염기쌍(base pair)을 형성할 수 있고, 주형 가닥 복사를 위한 시작 지점으로 기능하는 7개 내지 50개의 핵산서열을 의미한다. 프라이머는 보통 합성하지만 자연적으로 생성된 핵산에서 이용할 수도 있다. 프라이머의 서열은 반드시 주형의 서열과 정확히 같을 필요는 없으며, 충분히 상보적이어서 주형과 혼성화될 수 있으면 된다. 프라이머의 기본 성질을 변화시키지 않는 추가의 특징을 혼입할 수 있다. 혼입할 수 있는 추가의 특징의 예로 메틸화, 캡화, 하나 이상의 핵산을 동족체로의 치환 및 핵산 간의 변형 등이 있으나, 이에 제한되지 않는다. 바람직하게, 본 발명의 프라이머는 miR-34 및/또는 miR-449의 miRNA를 증폭할 수 있는 프라이머일 수 있다.

[0070] 또 다른 구체예에서, 본 발명의 miRNA 바이오마커를 검출하는 데 사용되는 제제는, 프로브일 수 있다. 용어, "프로브"란 타겟 miRNA와 특이적 결합을 이룰 수 있는 짧은 수 염기 내지 길게는 수백 염기에 해당하는 RNA 또는 DNA 등의 핵산 단편을 의미한다. 바람직하게, 프로브는 표지(Labeling)되어 있어서 특정 miRNA의 존재 유무를 쉽게 확인할 수 있다. 적당한 프로브의 선택 및 혼성화 조건은 당업계에 공지된 것을 기초로 변형할 수 있다.

[0071] EMT 관련 단백질(예컨대, SRC, FAK, ZEB1, TGF- $\beta$ , 스네일(snail), 슬러그(slug), 비멘틴(vimentin), 베타-카테닌( $\beta$ -catenin), CDK4 또는 CDK6)의 경우, 상기 발현 수준을 측정할 수 있는 제제는 상기 단백질에 특이적으로 결합하는 다클론 항체, 단일클론 항체 및 재조합 항체 등의 항체; 또는 앵타머를 포함할 수 있다. 본 발명에 있어서, "항체"는 항원성 부위에 특이적으로 결합하는 단백질 분자를 의미한다. 상기 단백질들은 공지된 단백질이므로, 이를 이용하여 항체를 생성하는 것은 당해 기술분야의 일반적 기술자가 공지된 기술을 이용하여 용이하게 제조할 수 있다. 또한, 상기 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 완전한 형태뿐만 아니라, 항체 분자의 기능적인 단편을 포함한다. 항체 분자의 기능적인 단편이란, 적어도 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 뜻하며, Fab, F(ab'), F(ab')<sub>2</sub> 및 Fv 등이 있다. 예컨대, EMT 관련 단백질의 발현 수준을 측정하기 위한 제제는 상기 단백질을 특이적으로 인식하는 항체일 수 있다.

[0072] 또한, 본 발명에 있어서, "앵타머"는 소정의 표적 분자에 대한 결합 활성을 갖는 핵산 분자를 의미한다. 상기 앵타머는 RNA, DNA, 수식(modified) 핵산 또는 이들의 혼합물일 수 있으며, 직쇄상 또는 환상의 형태일 수 있는데, 대체로 상기 앵타머를 구성하는 뉴클레오타이드의 서열이 짧을수록 화학합성 및 대량 생산이 보다 용이하고, 비용면에서의 장점이 우수하며, 화학수식이 용이하게 생체 내 안정성이 우수하며, 독성이 낮다고 알려져 있다. 본 발명의 목적상 앵타머는 상기 EMT 관련 단백질에 결합함으로써, 상기 단백질의 발현 수준을 측정할 수 있는 수단으로 해석될 수 있다.

[0073] 따라서, 본 발명의 약물의 병용 투여 대상 선별을 위한 정보 제공 방법은 EGFR 과발현 두경부암 환자에게 EGFR 과발현 두경부암의 치료를 위한 약물 선택의 정보를 제공할 수 있고, 상기 EGFR 과발현 두경부암 환자에게 EGFR 억제제와 EMT 억제제를 병용 투여함으로써 치료 효과를 기대할 수 있다.

### 발명의 효과

[0074] 본 발명은 EGFR 과발현 두경부암의 치료에 있어서 EGFR 억제제 투여 후 EMT 관련 단백질의 발현이 증가하는 기전을 근거로 하여 EGFR 억제제의 저항성을 극복하기 위한 약학 조성물 및 약물 선택을 위한 정보 제공 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따르면 EGFR 억제제와 EMT 억제제를 병용 투여함으로써 EGFR 과발현 두경부암 치료 효과를 나타낼 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0075] 도 1은 세톡시말의 농도에 따른 내성 획득 두경부암 세포주의 세포 생존율을 나타낸 것이다.

도 2는 EMT 관련 유전자의 발현 수준을 phosphorylated RTK 분석을 통해 나타낸 것이다.

도 3은 EMT 관련 유전자의 발현 수준을 immunoblot 분석을 통해 나타낸 것이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0076] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실험예 및 제조예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실험예 및 제조예에 한정되는 것이 아니라, 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이다.

### [0078] 제조예 1. 세록시맵(cetuximab) 내성 획득 두경부암 세포주의 구축

[0079] EGFR 과발현 두경부암 세포주인 Cal27(CETp이라 명명함) 세포주에 EGFR 억제제인 세록시맵(cetuximab; 제품명 엘비투스(Erbitux 마크, US)을 150nM에서 시작하여 1 $\mu$ M까지 농도를 6개월간 지속적으로 증량시키면서 살아남은 Cal27 세포주를 1 $\mu$ M 세록시맵이 첨가된 배지에서 1개월간 배양하여 내성 획득 두경부암 세포주를 구축하였다 (CETr이라 명명함).

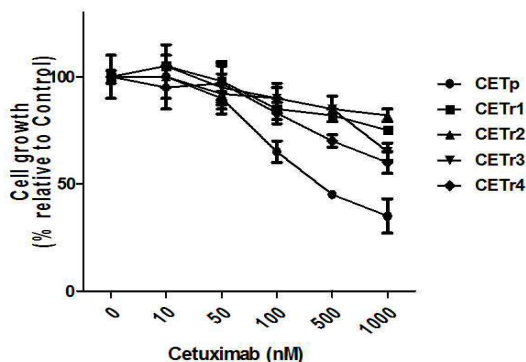
### [0081] 실험예 1. 세록시맵(cetuximab) 내성 획득 세포주의 특성 확인

[0082] 상기 제조예에서 제조한 CETr 세포주 및 CETp 세포주에 세록시맵(cetuximab)을 처리한 경우의 세포 생존율을 확인하였다. 도 1은 세록시맵의 농도에 따른 내성 획득 두경부암 세포주의 세포 생존율을 나타낸 것이다. 또한, 상기 세포주에 phosphorylated RTK assay를 통해 SRC의 발현 정도를 확인하였으며, 이를 도 2에 나타내었다. 도 3은 Immunoblot 분석을 통한 ZEB1, SRC 등의 발현 수준을 나타낸 것이다.

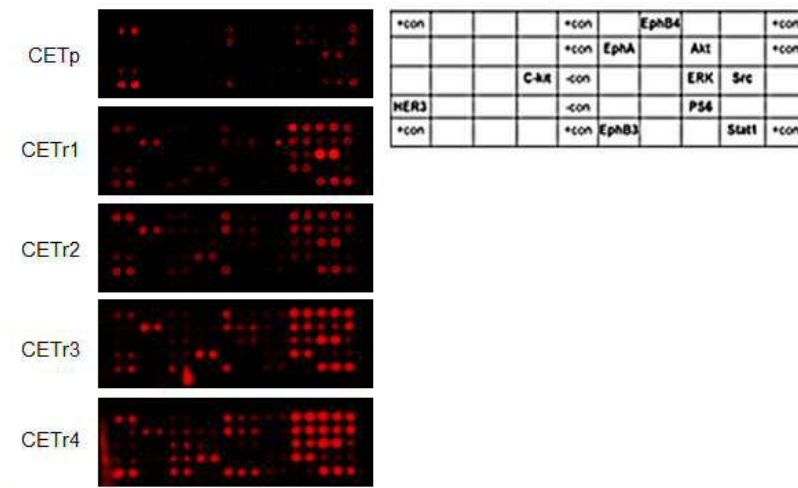
[0084] 도 1에서 볼 수 있는 바와 같이, 모세포(CETp)의 경우 세록시맵의 처리 농도가 증가함에 따라 세포 생존율이 감소하지만, 내성 세포주(CETr1, CETr2, CETr3 및 CETr4)의 경우 1 $\mu$ M의 세록시맵 농도에서도 세포 생존율이 크게 낮아지지 않은 것을 확인할 수 있었다. 또한, 도 2 및 3에서 보는 것과 같이, 모세포주에 비해 내성 세포주에서 EMT 관련 유전자인 SRC의 발현이 증가하는 것을 확인하였다. 이를 통해 SRC를 억제함으로써 세록시맵 내성 두경부암의 항종양 효과를 나타낼 수 있음을 예측할 수 있다.

### 도면

#### 도면1



도면2



도면3

