

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6184733号
(P6184733)

(45) 発行日 平成29年8月23日 (2017. 8. 23)

(24) 登録日 平成29年8月4日 (2017. 8. 4)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 39/395 (2006. 01)

A 6 1 K 39/395 Z N A N

A 6 1 K 31/282 (2006. 01)

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 K 31/7068 (2006. 01)

A 6 1 K 31/282

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 K 31/7068

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 8 外国語出願 (全 65 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-94727 (P2013-94727)
 (22) 出願日 平成25年4月26日 (2013. 4. 26)
 (62) 分割の表示 特願2012-554084 (P2012-554084)
 の分割
 原出願日 平成23年2月22日 (2011. 2. 22)
 (65) 公開番号 特開2013-173775 (P2013-173775A)
 (43) 公開日 平成25年9月5日 (2013. 9. 5)
 審査請求日 平成26年2月24日 (2014. 2. 24)
 審判番号 不服2016-5657 (P2016-5657/J1)
 審判請求日 平成28年4月15日 (2016. 4. 15)
 (31) 優先権主張番号 61/439, 819
 (32) 優先日 平成23年2月4日 (2011. 2. 4)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/360, 059
 (32) 優先日 平成22年6月30日 (2010. 6. 30)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウ
 ス サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (73) 特許権者 306021192
 エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・アクチエン
 ゲゼルシャフト
 スイス、ツェハー 4070バーゼル、グ
 レンツァッハーシュトラッセ 124番
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 卵巣癌の治療のための抗血管新生治療

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

再発性白金感受性卵巣癌、原発腹膜癌または卵管癌と診断された患者を治療するための
 医薬であって、

以下のアミノ酸配列：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW

INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP

HYYGSSHWYF DVWGQGTLLV VSS (配列番号：1)

を含む重鎖可変領域と、以下のアミノ酸配列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF

TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ

GTKVEIKR (配列番号：2)

を含む軽鎖可変領域とを含む抗 V E G F 抗体、並びに、カルボプラチン及びゲムシタピン
 を含む化学療法レジメンを含み、

カルボプラチン及びゲムシタピンはサイクル 1 から開始して 10 サイクルまで投与され、
 抗 V E G F 抗体は、サイクル 1 から開始して、疾患が進行するまで投与され続け、1 サイ
 クルは 21 日であり、ゲムシタピンは 21 日サイクルの 1 日目と 8 日目に 1000 mg /
 m^2 で投与され、カルボプラチンは 21 日サイクルの 1 日目に AUC 4 で投与され、ペバ
 シズマブは 21 日サイクルの 1 日目に 15 mg / kg で投与される、医薬。

【請求項 2】

再発性白金感受性卵巣癌、原発腹膜癌または卵管癌と診断された患者を治療するための医薬であって、

以下のアミノ酸配列：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWRQA PGKGLEWVGW
INTYTGEPTY AADFRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
HYYGSSHWYF DVWGQGTLLV VSS (配列番号：1)

を含む重鎖可変領域と、以下のアミノ酸配列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF
TSSLHSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
GTKVEIKR (配列番号：2)

を含む軽鎖可変領域とを含む抗 V E G F 抗体を含み、

抗 V E G F 抗体は、カルボプラチン及びゲムシタピンを含む化学療法レジメンと組み合わせて投与され、カルボプラチン及びゲムシタピンはサイクル 1 から開始して 10 サイクルまで投与され、抗 V E G F 抗体は、サイクル 1 から開始して、疾患が進行するまで投与され続け、1 サイクルは 21 日であり、ゲムシタピンは 21 日サイクルの 1 日目と 8 日目に $1000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で投与され、カルボプラチンは 21 日サイクルの 1 日目に AUC 4 で投与され、ペバシズマブは 21 日サイクルの 1 日目に $15 \text{ mg} / \text{kg}$ で投与される、医薬

10

【請求項 3】

前記抗 V E G F 抗体が、ハイブリドーマ A T C C H B 10709 によって産生されるモノクローナル抗 V E G F 抗体 A 4 . 6 . 1 と同じエピトープに結合する請求項 1 又は 2 に記載の医薬。

20

【請求項 4】

抗 V E G F 抗体がヒト化抗体である請求項 1 又は 2 に記載の医薬。

【請求項 5】

抗 V E G F 抗体がヒト化 A 4 . 6 . 1 抗体又はその断片である請求項 4 に記載の医薬。

【請求項 6】

抗 V E G F 抗体がペバシズマブである請求項 5 に記載の医薬。

【請求項 7】

抗 V E G F 治療で治療されていない別の患者と比べた場合、患者の無進行生存が少なくとも約 3 ヶ月以上延長される請求項 1 又は 2 に記載の医薬。

30

【請求項 8】

以下のアミノ酸配列：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT NYGMNWRQA PGKGLEWVGW
INTYTGEPTY AADFRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCAKYP
HYYGSSHWYF DVWGQGTLLV VSS (配列番号：1)

を含む重鎖可変領域と、以下のアミノ酸配列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCSASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKVLIIYF
TSSLHSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSTVPWTFGQ
GTKVEIKR (配列番号：2)

を含む軽鎖可変領域とを有する抗 V E G F 抗体の、

白金感受性再発性卵巣癌、原発腹膜癌または卵管癌と診断された患者を治療するための医薬であって、

抗 V E G F 抗体が、カルボプラチン及びゲムシタピンを含む化学療法レジメンと組み合わせて投与され、カルボプラチン及びゲムシタピンはサイクル 1 から開始して 10 サイクルまで投与され、抗 V E G F 抗体は、サイクル 1 から開始して、疾患が進行するまで投与され続け、1 サイクルは 21 日間であり、ゲムシタピンは 21 日サイクルの 1 日目と 8 日目に $1000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で投与され、カルボプラチンは 21 日サイクルの 1 日目に AUC 4 で投与され、ペバシズマブは 21 日サイクルの 1 日目に $15 \text{ mg} / \text{kg}$ で投与される、医薬

40

50

の製造のための使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本出願は、2011年2月4日に出願された米国仮出願第61/439,819号、2010年6月30日に出願された米国仮出願第61/360,059号、2010年6月3日に出願された米国仮出願第61/351,231号、及び2010年2月23日に出願された米国仮出願第61/307,095の優先権を主張するものであり、その内容全体を本明細書中に援用する。

10

【0002】

(発明の分野)

この発明は一般にヒトの疾患及び病理症状の治療に関する。より具体的には、本発明は、単独か又は他の抗癌治療法との併用における、卵巣癌の治療のための抗血管新生療法に関する。

【背景技術】

【0003】

癌はなおもヒトの健康に対して最も死に至る脅威の一つである。合衆国では、およそ130万の新しい患者が毎年癌になっており、心臓疾患に次ぐ第二の死因で、4名の死亡のうちおよそ1名を占める。卵巣及び腹膜癌を有する女性に関し、最初の外科診断、病期診断及び細胞切除後の、進行上皮性卵巣、及び腹膜原発癌を有する女性に対する標準の一次全身性化学療法は白金及びタキサンを併用した化学療法から成り、通常はカルボプラチン及びパクリタキセルである。例えば、McGuire WP, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. N Eng J Med 334:1-6, 1996; Piccart MJ, et al. Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results. J Natl Cancer Inst 92:699-708, 20003; Alberts DS, et al. Improved therapeutic index of carboplatin plus cyclophosphamide versus cisplatin plus cyclophosphamide: final report by the Southwest Oncology Group of a phase III randomized trial in stages III and IV ovarian cancer. J Clin Oncol 10:706-17, 1992; du Bois A, et al. A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer. J Natl Cancer Inst Sep.3;95.(17):1320.-9. 95:1320, 2003; Ozols RF, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study. J Clin Oncol 21:3194-200, 2003; and, Swenerton K, et al. Cisplatin-cyclophosphamide versus carboplatin-cyclophosphamide in advanced ovarian cancer: a randomized phase III study of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. J Clin Oncol 10:718-26, 1992を参照のこと。患者管理において進展があったが、この疾患は未だ、米国で診断される全ての婦人科悪性腫瘍に対する高い致死率を持つ。2004には、25,580のケースが新たに診断され、16,090人の女性が該疾患により死亡するだろう。例えばJemal A, et al. Cancer statistics, 2004. CA Cancer J Clin 54:8-29, 2004を参照のこと。一次治療方法における改善が必要とされている。

20

30

40

【0004】

血管新生は、血管内皮細胞が増殖し、その不要部を切り詰め、再組織化して、既存の血管網から新生の血管が生成される重要な細胞性事象である。血管の供給の進行は正常なまた病理学的な増殖過程に必須であるとの有力な証拠がある(Folkman及びKlagsbrun (1987) Science 235:442-447)。酸素と栄養分を運搬し、また異化産物を除去することは、多細胞生物で起こる成長過程の大部分での律速段階となる。

50

【0005】

新血管の誘導は腫瘍血管新生の主要な態様であると考えられるところ、最近のデータは、ある種の腫瘍が既存の宿主血管を同時選択することによって増殖しうることを示している。ついで、同時選択された脈管構造が退行し、腫瘍縁部における低酸素誘導血管新生によって結局は逆転される腫瘍退行に至る。Holash等 Science 284:1994-1998 (1999)。

【0006】

正常な血管新生と異常な血管新生の双方の重要な正の調節因子の一つは血管内皮増殖因子 (VEGF) - Aである。VEGF - Aは、VEGF - B、VEGF - C、VEGF - D、VEGF - E、VEGF - F、及びPLGFを含む遺伝子ファミリーの一部である。VEGF - Aは主として二つの高親和性レセプターチロシンキナーゼVEGFR - 1 (Flt - 1) 及びVEGFR - 2 (Flk - 1 / KDR) に結合し、後者は、VEGF - Aの血管内皮細胞分裂促進シグナルの主要な伝達物質である。また、ニューロピリン - 1は、ヘパリン結合VEGF - Aアイソフォームのレセプターとして同定されており、血管発生において所定の役割を担っている可能性がある。

【0007】

血管新生及び脈管形成における血管形成因子であることに加えて、VEGFは多面発現性増殖因子として、内皮細胞生存、血管透過性及び血管拡張、単球化学走性及びカルシウム流入のような他の生理学的プロセスにおいて複数の生物学的効果を示す。上掲のFerrara及びDavis-Smyth (1997)。更に、最近の研究では、数種の非内皮細胞型、例えば網膜色素上皮細胞、膵管細胞及びシュワン細胞に対するVEGFの分裂促進効果が報告されている。Guerrin等 J. Cell Physiol. 164:385-394 (1995); Oberg-Welsh等 Mol. Cell. Endocrinol. 126:125-132 (1997); Sondell等 J. Neurosci. 19:5731-5740 (1999)。VEGFの発現が大部分の悪性腫瘍においてアップレギュレートされ、VEGFの過剰発現が、多くの固形腫瘍において、より進行した段階又はより乏しい予後としばしば関連している。

【0008】

卵巣癌はなおも最も致命的な脅威の一つであるので、患者に対する更なる癌治療が必要とされる。本発明は、次の開示を検討すると明らかになるように、これらや他の必要性に取り組むものである。

【発明の概要】

【0009】

提供されるのは、卵巣癌を治療するための抗VEGFアンタゴニストの使用である。例えば、新たに診断された未治療の卵巣癌、卵管癌又は原発腹膜癌又は白金感受性の再発 (又は既治療) の卵巣癌、原発、腹膜癌、又は卵管癌を有する女性を効果的に治療するための抗VEGF抗体の使用が提供される。データは、新たに診断された未治療のステージIIII (準最適に及び肉眼で最適にデバルキングの) 及びIVの上皮性卵巣癌、原発腹膜癌又は卵管癌を有する被験体 (例えば、女性) における、化学療法レジメンとの組合せにおけるペバシズマブ (AVASTIN (登録商標)) のランダム化第III相臨床治験から提供される (実施例1)。データはまた、新たに診断された高リスクステージのI及びIIa (グレード3又は明細胞癌のみ) 及びステージIIb - IVの上皮性卵巣癌、卵管癌又は原発腹膜癌を有し、最初の手術を受け、疾患進行の前に細胞減縮手術が検討されないであろう被験体 (例えば、女性) における、化学療法レジメンとの組合せにおけるペバシズマブ (AVASTIN (登録商標)) のランダム化第III相臨床治験からも提供される (実施例2)。データはまた、白金感受性の再発上皮性卵巣癌、原発腹膜癌、又は卵管癌を有する女性における、カルボプラチン (曲線下面積 [AUC] 4、1日目、21日毎) とゲムシタピン (1000 mg / m²、1日目及び8日目、21日毎) との組合せにおいて投与されるペバシズマブ (15 mg / kg、1日目、21日毎) の効果及び安全性を評価する、プラセボコントロールのランダム化多施設第III相試験からも提供される (実施例3)。このような化学療法レジメンは、タキサン治療 (例えば、パクリタキセル又はドセタキセル)、白金ベース化学療法 (例えば、カルボプラチン) 又はゲムシタピン、及びその組合せを含む。治験の成功は、抗VEGF抗体 (例えば、ペバシズマブ) が、化学

療法と組み合わせられ、また維持治療として継続される場合、統計的に有意で臨床的に重要な利益を卵巢癌患者に提供することを示す。

【 0 0 1 0 】

未治療及び再発性卵巢癌を有するヒト被験体における、併用及び維持治療双方におけるベバシズマブの使用の臨床試験において得られる結果は、無進行生存（PFS）によって評価される効果が、化学療法剤のみでの治療に対するPFSと比較した場合に特にポジティブであったことを示す。タキサン治療（例えば、パクリタキセル又はドセタキセル）、及び白金ベース化学療法（例えば、カルボプラチン）又は白金ベース化学療法（例えば、カルボプラチン）及びゲムシタピンとの組合せにおける併用治療のベバシズマブ及びベバシズマブを用いた維持治療を受けた臨床試験における被験体は、タキサン治療（例えばパクリタキセル又はドセタキセル）、及び白金ベース化学療法（例えば、カルボプラチン）のみ又は白金ベース化学療法（例えば、カルボプラチン）及びゲムシタピンのみによって治療された被験体と比較して、無進行生存が増加した。

10

【 0 0 1 1 】

このように、発明は、過去に未治療か又は再発性の卵巢癌と診断された患者を治療する方法であって、少なくとも一つの化学療法と有効量の抗VEGF抗体の投与とを組み合わせる治療レジメンを患者に受けさせ、次いで維持治療のための抗VEGFを投与することを含んでなり、ここで前記治療により患者の無進行生存が増加される方法を提供する。化学療法と抗VEGFの投与を組合せる治療レジメン及びその後の抗VEGF維持治療の実施は、患者の無進行生存（PFS）を効果的に延長させる。

20

【 0 0 1 2 】

ある実施態様では、PFSは、コントロールと比較して約1ヶ月、1.2ヶ月、2ヶ月、2.9ヶ月、3ヶ月、3.8ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、1年、約2年、約3年など延長される。一実施態様では、PFSは、コントロールと比較して、（例えば化学療法と抗VEGFの投与とを組み合わせる治療レジメン、その後の抗VEGF維持治療の実施を用いて）約2.9ヶ月～3.8ヶ月延長される。一実施態様では、PFSは、コントロールと比較して、（例えば化学療法と抗VEGFの投与とを組み合わせる治療レジメン、その後の抗VEGF維持治療の実施を用いて）少なくとも約3.8ヶ月延長される。別の実施態様では、PFSは、コントロールと比較して、（例えば化学療法と抗VEGFの投与とを組み合わせる治療レジメン、その後の抗VEGF維持治療の実施を用いて）約2.3ヶ月延長される。一実施態様では、コントロールと比較して、（例えば化学療法と抗VEGFの投与とを組み合わせる治療レジメン、その後の抗VEGF維持治療の実施を用いて）約6ヶ月延長される。

30

【 0 0 1 3 】

抗癌活性を示す任意の化学療法剤を、本発明に従って使用することができる。ある実施態様では、化学療法剤は、アルキル化剤、抗代謝産物、葉酸アナログ、ピリミジンアナログ、プリンアナログ及び関連阻害剤、ビンカアルカロイド、エポドフィロトキシン、抗生物質、L-アスパラギナーゼ、トポイソメラーゼ阻害剤、インターフェロン、白金配位化合物、タキサントラセンジオン置換ウレア、メチルヒドラジン誘導体、副腎皮質抑制薬、副腎皮質ステロイド、プロゲスチン、エストロゲン、抗エストロゲン、アンドロゲン、抗アンドロゲン、ゲムシタピン及び生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログからなる群から選択される。ある実施態様では、化学療法剤は、例えばタキサン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子（例えば、アブラキサン（登録商標））、ゲムシタピン、白金アナログ、カルボプラチン又はその組合せからなる群から選択される。例えばタキサン及び白金アナログ又はゲムシタピン及び白金アナログ等、二以上の化学療法剤を（例えばカクテルで）使用して、抗VEGF抗体の投与と組み合わせる投与することができる。一実施態様では、それはカルボプラチン及びパクリタキセルである。一実施態様では、それはカルボプラチン及びドセタキセルである。別の実施態様では、それはゲムシタピン及びカルボプラチンである。

40

【 0 0 1 4 】

50

本発明による治療の臨床的利益は、例えば、無増悪生存期間（PFS）、治療不成功までの期間、奏効率及び奏効期間によって測定することができる。

【0015】

キットも提供される。一実施態様では、キットは、ヒト患者における未治療卵巣癌を治療するために提供され、抗VEGF抗体組成物と、抗VEGF維持治療が続く、タキサン治療及びカルボプラチンとの組合せにおける抗VEGF抗体組成物の使用のための指示とを含んでなるパッケージを含んでなり、ここで、該指示はタキサン及びカルボプラチン治療及びペバシズマブを受ける患者の無進行生存が14.1ヶ月であり、ハザード比が0.717（ p 値<0.0001）であることを記載する。別の実施態様では、キットは、ヒト患者における未治療卵巣癌を治療するために提供され、抗VEGF抗体組成物と、抗VEGF維持治療が続く、パクリタキセル及びカルボプラチンとの組合せにおける抗VEGF抗体の使用のための指示とを含んでなるパッケージを含んでなり、ここで該指示はパクリタキセル、カルボプラチン及び抗VEGF抗体を受ける患者の無進行生存が18.3ヶ月であり、ハザード比が0.79であることを記載する。ある実施態様では、キットは、次のアミノ酸配列：

```
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTF  
NYGMNWVRQA PGKGLEWVGW INTYTGEPT  
AADFKRRTF SLDTSKSTAY LQMNSLR  
TAVYYCAKYP HYYGSSHWFYF DVWGQGT  
LVTVSS（配列番号．1）
```

を含んでなる重鎖可変領域、及び次のアミノ酸配列：

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT TCSASQDIS  
NYLNWYQQKPK GKAPKVLIFY TSSLHSGVPS  
RFGSGSGSGTD FTLTISSSLQP EDFATYYCQQ  
YSTVPWTFGQ GTKVEIKR（配列番号．2）
```

を含んでなる軽鎖可変領域を有する抗VEGF抗体を含む。ある実施態様では、キットにおける抗VEGF抗体はペバシズマブである。ある実施態様では、キットは、ステージII又はIVの卵巣癌を有する患者のためである。

【0016】

従って、本発明は、被験者の無増悪生存期間を増加させ、癌再発の被験者のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるように抗VEGF抗体での治療を受けるための指示を提供することによって、例えば卵巣癌のヒト被験者に指示をする方法とを特徴とする。ある実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤での治療を受けるための指示書を提供することを更に含む。ある実施態様では、方法は、少なくとも二種の化学療法剤での治療を受けるための指示書を提供することを更に含む。ある実施態様では、抗VEGF抗体での治療は、化学療法剤での治療と同時でありまた連続的である。ある実施態様では、被験者は、指示方法によって指示されるように治療される。

【0017】

本発明はまたヒト被験者における例えば卵巣癌の治療のために抗VEGF抗体の投与を宣伝することを含むプロモーション法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤の投与を宣伝することを更に含む。本発明のある実施態様では、抗VEGF抗体の投与は、化学療法剤（一又は複数）での治療と同時でありまた連続的である。プロモーションは利用可能な任意の手段によって実施されうる。幾つかの実施態様では、プロモーションは、抗VEGF抗体の商業的製剤に伴うパッケージ挿入物による。プロモーションは、化学療法剤（一又は複数）の商業的製剤に伴うパッケージ挿入物にまたよる場合がある。プロモーションは、医師又は医療提供者に文書又は口頭伝達による場合がある。幾つかの実施態様では、プロモーションは、パッケージ挿入物が抗VEGF抗体及び少なくとも一種の化学療法剤（一又は複数）での同時治療及び抗VEGF抗体での維持治療を受ける指示を提供するパッケージ挿入物による。幾つかの実施態様では、プロモーションには、化学療法剤を伴うか又は伴わないで抗VEGF抗体で被験者を治療する

ことが続く。幾つかの実施態様では、プロモーションの後に、一又は複数の化学療法剤を用いた抗 V E G F 抗体での被験体の治療、次いで抗 V E G F 抗体での維持治療がなされる。

【 0 0 1 8 】

本発明は、無増悪生存期間を増加させ、癌再発の被験者のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるために、抗 V E G F 維持治療が続く、少なくとも一化学療法剤との組合せにおけるヒト被験体における例えば卵巣癌の治療のための抗 V E G F 抗体をマーケティングすることを含んでなるビジネス方法を提供する。幾つかの実施態様では、マーケティングは、抗 V E G F 維持治療が続く、化学療法剤（一又は複数）を用いた抗 V E G F 抗体による被験体の治療が続く。幾つかの実施態様では、方法は、抗 V E G F 維持治療が続く、抗 V E G F 抗体との組合せにおける使用のための 2 つ以上の化学療法剤をマーケティングすることを更に含む。幾つかの実施態様では、マーケティングの後に、抗 V E G F 維持治療が続く、化学療法剤を用いた抗 V E G F 抗体による被験体の治療が続く。

10

【 0 0 1 9 】

また、無進行生存を増加するために、又は被験体の癌再発の可能性を低下させるために、又は被験体の生存の可能性を増加するために、ヒト被験体における例えば卵巣癌の治療に対し、抗 V E G F 維持治療が続く、抗 V E G F 抗体との組合せにおける化学療法剤をマーケティングすることを含んでなるビジネス方法が提供される。幾つかの実施態様では、該マーケティングは、抗 V E G F 維持治療が続く、化学療法剤及び抗 V E G F 抗体の組合せによる被験体の治療が続く。また、無進行生存を増加するために、又は被験体の癌再発の可能性を低下させるために、又は被験体の生存の可能性を増加するために、ヒト被験体における例えば卵巣癌の治療に対し、抗 V E G F 維持治療が続く、抗 V E G F 抗体との組合せにおける 2 つ以上の化学療法剤をマーケティングすることを含んでなるビジネス方法が提供される。幾つかの実施態様では、該マーケティングは、抗 V E G F 維持治療が続く、化学療法剤及び抗 V E G F 抗体の組合せによる被験体の治療が続く。

20

【 0 0 2 0 】

本発明の各方法において、抗 V E G F 抗体は、V E G F 特異的アンタゴニスト、例えば下に記載の V E G F レセプター分子又はキメラ V E G F レセプター分子で置換することができる。ある実施態様では、抗 V E G F 抗体はペバシズマブである。抗 V E G F 抗体、又はその抗原結合断片は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、完全なヒト抗体、又はヒト化抗体でありうる。本発明の方法において有用な例示的抗体は、ペバシズマブ（アバスチン（登録商標））、G 6 抗体、B 2 0 抗体、及びその断片を含む。ある実施態様では、抗 V E G F 抗体は、次のアミノ酸配列：

30

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T
N Y G M N W V R Q A P G K G L E W V G W I N T Y T G E P T Y
A A D F K R R F T F S L D T S K S T A Y L Q M N S L R A E D
T A V Y Y C A K Y P H Y Y G S S H W Y F D V W G Q G T L V T
V S S（配列番号．1）

を含んでなる重鎖可変領域、及び次のアミノ酸配列：

40

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C S A S Q D I S
N Y L N W Y Q Q K P G K A P K V L I Y F T S S L H S G V P S
R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q
Y S T V P W T F G Q G T K V E I K R（配列番号．2）

を含む軽鎖可変領域とを有する。

【 0 0 2 1 】

抗体又はその抗原結合断片は、また F c 部分、F（a b'）₂、F a b、又は F v 構造を欠く抗体でありうる。

【 0 0 2 2 】

一実施態様では、治療は V E G F 特異性アンタゴニスト、例えば抗 V E G F 抗体と少な

50

くとも一つの化学療法剤との組合せ、次いでV E G F アンタゴニスト維持治療である。一実施態様では、治療はV E G F 特異性アンタゴニスト、例えば抗V E G F 抗体と2つ以上の化学療法剤との組合せ、次いでV E G F アンタゴニスト維持治療である。

【0023】

本発明の各々の方法又は使用は、それぞれ、限定しないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病を含む癌の治療に関連して実施することができる。そのような癌のより特定の例は、卵巣癌、卵巣原発性腹膜癌、卵巣卵管癌、扁平細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、肺の扁平癌腫、腹膜の癌、肝細胞癌、胃腸癌、膵臓癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸管癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、肝臓癌、前立腺癌、腎癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌、胃癌、メラノーマ、及び様々なタイプの頭頸部癌を含む。幾つかの実施態様では、被験体は過去に治療されていない卵巣癌を有している。幾つかの実施態様では、被験体は、新たに診断された過去に未治療の卵巣癌を有した。幾つかの実施態様では、被験体は、新たに診断された過去に未治療のステージIII（準最適及び肉眼的に最適にデバルキング）及びIVの上皮性卵巣、原発腹膜又は卵管癌を有する。幾つかの実施態様では、被験体は白金感受性再発の上皮性卵巣、原発腹膜又は卵管癌を有する。

10

【0024】

上記態様の各々は、癌の再発について被験者をモニターすることを更に含みうる。モニターは、例えば無増悪生存期間（PFS）又は全生存（OS）又は奏効率（ORR）を評価することによって、達成することができる。一実施態様では、PFSは治療の開始後に評価される。

20

【0025】

疾患のタイプ及び重篤度に応じて、例えばベバシズマブのような抗V E G F 抗体の好ましい用量はここに記載されており、限定されないが、5 mg / kg、7.5 mg / kg、10 mg / kg 又は15 mg / kg を含む約1 µg / kg から約50 mg / kg、最も好ましくは約5 mg / kg から約15 mg / kg の範囲であり得る。投与の頻度は疾患のタイプと重篤度に応じて変動する。数日又はそれ以上にわたる繰り返し投与では、症状に応じて、治療は、ここに記載され又は当該分野で知られている方法によって測定して、癌が治療され又は所望の治療効果が達成されるまで維持される。一例では、抗V E G F 抗体は、毎週一回、2週毎、又は3週毎に、限定しないが、5 mg / kg、7.5 mg / kg、10 mg / kg 又は15 mg / kg を含む約5 mg / kg から約15 mg / kg の用量範囲で投与される。しかしながら、他の用量レジメンも有用であり得る。本発明の治療の進行は、常套的技術及びアッセイによって容易にモニターされる。本発明のある実施態様では、抗V E G F 治療は維持治療として提供される。更なる実施態様では、抗V E G F 治療は少なくとも14ヶ月（化学療法との併用抗V E G F 治療及び抗V E G F 維持治療を含む）提供される。他の実施態様では、抗V E G F 治療は少なくとも12ヶ月（化学療法との併用抗V E G F 治療及び抗V E G F 維持治療を含む）提供される。

30

【0026】

上記態様の各々の更なる実施態様では、V E G F 特異的アンタゴニスト、例えば、抗V E G F 抗体は、局所的に又は全身的に（例えば、経口又は静脈内）投与される。他の実施態様では、治療の一態様は、単独療法においてV E G F 特異的アンタゴニストを用いるもので、又は臨床医によりもしくはここに記載されたようにして評価されて、例えば拡張された治療相又は維持療法において、V E G F 特異的アンタゴニスト治療期間の間の単独療法である。ある実施態様では、抗V E G F 維持治療は少なくともサイクル7～22の間与えられる。他の実施態様では、抗V E G F 維持治療は少なくともサイクル7～18の間与えられる。

40

【0027】

他の実施態様では、V E G F 特異的アンタゴニストを用いた治療は、限定しないが、外科手術、放射線療法、化学療法、分化療法、バイオセラピー、免疫療法、血管新生抑制剤、細胞傷害剤及び抗増殖化合物を含む更なる抗癌療法と併用される。V E G F 特異的アン

50

タゴニストを用いた治療はまた上記タイプの治療レジメンの任意の組み合わせを含みうる。幾つかの実施態様では、化学療法剤及びVEGF特異性アンタゴニストが併用して投与され、抗VEGF維持治療が続く。幾つかの実施態様では、2つ以上の化学療法剤及びVEGF特異性アンタゴニストが併用して投与され、抗VEGF維持治療が続く。

【0028】

更なる抗癌療法を含む実施態様では、被験者は、VEGF特異的アンタゴニストの投与前、投与中（例えば同時）、又は投与後に更なる抗癌療法を用いて更に治療されうる。一実施態様では、単独で又は抗癌療法と共に投与されるVEGF特異的アンタゴニストは、維持療法として投与されうる。

【0029】

本発明の他の特徴及び利点は、次の詳細な説明、図面、及び特許請求の範囲から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】実施例1に記載される卵巢癌治療の試験デザインを示す。

【図2】様々な化学療法と共にベパシズマブ（BEV）又はプラセボを使用する卵巢癌治療の試験デザインの図表を示す。

【図3】図2に示す治療からの選択有害事象を示す。

【図4】図2に示す治療からの治療フェーズによる選択有害事象を示す。

【図5】図2に示す治療のアームI、アームII及びアームIIIの調査員の評価による無進行生存（PFS）を示す。

【図6】図2に示す治療のアームI及びアームIIIのPFS値、及び進行の決定因子としてCA-125マーカーを使用した場合の結果を示す。

【図7】図2に示す治療のアームIII対アームIにおける患者のサブグループ分析を示す。

【図8】実施例2に示す卵巢癌治療の試験デザインを示す。

【図9】図8に示す治療の無進行生存（PFS）分析の概要を示す。「CP」は図8のアームAに対応する。「CPB7.5+」は図8のアームBに対応する。

【図10】図8に示す治療からのPFSの結果のグラフを示す。「CP」は図8のアームAに対応する。「CPB7.5+」は図8のアームBに対応する。

【図11】実施例3に記載する卵巢癌治療の試験デザインを示す。

【0031】

（詳細な説明）

I. 定義

「VEGF」又は「VEGF-A」なる用語は、Leung等 Science, 246:1306(1989)、及びHouck等 Mol. Endocrin., 5:1806(1991)によって記載されているように、それらの天然に生じる対立遺伝子型及びプロセシング型と共に、165アミノ酸のヒト血管内皮増殖因子と、関連した121-、145-、189-、及び206-アミノ酸のヒト血管内皮増殖因子を意味する。VEGF-Aは、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F、及びPLGFを含む遺伝子ファミリーの一部である。VEGF-Aは主として二つの高親和性レセプターチロシキナーゼVEGFR-1（Flt-1）及びVEGFR-2（Flk-1/KDR）に結合し、後者は、VEGF-Aの血管内皮細胞分裂促進シグナルの主要な伝達物質である。また、ニューロピリン-1は、ヘパリン結合VEGF-Aアイソフォームのレセプターとして同定されており、血管発生において所定の役割を担っている可能性がある。また、「VEGF」又は「VEGF-A」なる用語は、非ヒト種、例えばマウス、ラット又は霊長類由来のVEGFも意味する。特定の種由来のVEGFは、ヒトVEGFではhVEGF、マウスVEGFではmVEGFなどの用語で表されることが多い。典型的には、VEGFはヒトVEGFを意味する。また、「VEGF」なる用語は、165-アミノ酸のヒト血管内皮細胞増殖因子のアミノ酸8から109、又は1から109を含むポリペプチドの切断型又は断片を指すためにも使用される

10

20

30

40

50

。そのような V E G F 型を指すときは、本出願では、例えば、「V E G F (8 - 1 0 9)」、「V E G F (1 - 1 0 9)」又は「V E G F 1 6 5」と特定されうる。「切断型の」天然 V E G F のアミノ酸位置は、天然の V E G F 配列に示される数で示す。例えば、切断型の天然 V E G F のアミノ酸位置 1 7 (メチオニン)は、天然の V E G F 中の位置 1 7 (メチオニン)でもある。切断型の天然 V E G F は天然の V E G F に匹敵する K D R 及び F l t - 1 レセプターへの結合親和性を有する。

【 0 0 3 2 】

「抗 V E G F 抗体」は十分な親和性と特異性をもって V E G F に結合する抗体である。選択される抗体は通常は V E G F に対して結合親和性を有しており、例えば抗体は 1 0 0 n M - 1 p M の間の K d 値で h V E G F に結合しうる。抗体親和性は、表面プラズモン共鳴ベースアッセイ (例えば P C T 出願公開番号 W O 2 0 0 5 / 0 1 2 3 5 9 に記載されたような B I A c o r e アッセイなど) ; 酵素結合免疫吸着アッセイ (E L I S A) ; 及び競合アッセイ (例えば R I A のもの) によって決定されうる。ある実施態様では、本発明の抗 V E G F 抗体は、V E G F 活性が関与する疾患又は症状を標的とし、それを妨害する際の治療剤として使用することができる。また、例えば治療剤としてのその有効性を評価するために、抗体に他の生物学的な活性アッセイを施してもよい。このようなアッセイは当該分野で知られており、標的抗原と抗体の意図される用途に依存する。例として、H U V E C 阻害アッセイ ; 腫瘍細胞増殖阻害アッセイ (例えば国際公開第 8 9 / 0 6 6 9 2 号に記載のもの) ; 抗体依存性細胞傷害性 (A D C C) 及び補体媒介性細胞傷害性 (C D C) アッセイ (米国特許第 5 5 0 0 3 6 2 号) ; 及びアゴニスト活性又は造血アッセイ (国際公開第 9 5 / 2 7 0 6 2 号を参照) などがある。抗 V E G F 抗体は、通常は、V E G F - B、V E G F - C などの他の V E G F ホモログにも、P l G F、P D G F 又は b F G F などの他の増殖因子にも結合しないであろう。

【 0 0 3 3 】

「V E G F アンタゴニスト」は、一又は複数の V E G F レセプターへのその結合を含む、V E G F 活性を中和し、遮断し、阻害し、抑止し、低減し又は妨害することが可能な分子を意味する。V E G F アンタゴニストには、抗 V E G F 抗体とその抗原結合断片、レセプター分子及び V E G F に特異的に結合して一又は複数のレセプターへのその結合を隔絶する誘導体、抗 V E G F レセプター抗体及び V E G F レセプターアンタゴニスト、例えば V E G F R チロシンキナーゼの小分子阻害剤が含まれる。

【 0 0 3 4 】

「天然配列」ポリペプチドは、天然由来の対応するポリペプチドと同じアミノ酸配列を有するポリペプチドを含んでなる。よって、天然配列ポリペプチドは任意の哺乳動物からの天然に生じるポリペプチドのアミノ酸配列を有し得る。このような天然配列ポリペプチドは、自然から単離することもできるし、あるいは組換え又は合成手段により生産することもできる。「天然配列」ポリペプチドという用語は、特にポリペプチドの天然に生じる切断型又は分泌型 (例えば細胞外ドメイン配列)、ポリペプチドの天然に生じる変異体型 (例えば、選択的スプライシング型) 及び天然に生じる対立遺伝子変異体を包含する。

【 0 0 3 5 】

ポリペプチド「変異体」は天然配列ポリペプチドと少なくとも約 8 0 % のアミノ酸配列同一性を有する生物学的に活性なポリペプチドを意味する。そのような変異体には、例えば一又は複数のアミノ酸残基が、ポリペプチドの N 又は C 末端に付加され、又は欠失されたポリペプチドが含まれる。通常は、変異体は天然配列ポリペプチドと少なくとも約 8 0 % のアミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも 9 0 % のアミノ酸配列同一性、更により好ましくは少なくとも 9 5 % のアミノ酸配列同一性を有する。

【 0 0 3 6 】

「抗体」なる用語は、最も広義に使用され、モノクローナル抗体 (完全長又は無傷のモノクローナル抗体を含む)、ポリクローナル抗体、多価抗体、多重特異性抗体 (例えば二重特異性抗体)、及びそれらが所望の生物活性を示す限り抗体断片 (以下を参照) も含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 7 】

本明細書と特許請求の範囲を通して、免疫グロブリン重鎖中の残基の番号付けは、ここに出典を明示して援用されるKabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)のE Uインデックスのものである。「KabatのE Uインデックス」とはヒトI g G 1 E U抗体の残基番号付けを意味する。

【 0 0 3 8 】

本発明に係る「K d」又は「K d値」は、一実施態様では、段階的な力価の非標識V E G Fの存在下で、最小濃度の(125 I)-標識抗原にてF a bを平衡にして、抗F a b抗体コートプレートと結合したV E G Fを捕獲することによってV E G Fに対するF a bの溶液結合親和性を測定する以下のアッセイで示されるような(Chen, 等, (1999) J. Mol Biol 293:865-881)、抗体のF a b型とV E G F分子を用いて実行される放射性標識したV E G F結合アッセイ(R I A)で測定される。一例では、アッセイの条件を決めるために、マイクロタイタープレート(Dynex)を5 μ g / mlの捕獲抗F a b抗体(Cappel Labs)を含む50 mM炭酸ナトリウム(p H 9 . 6)にて一晚コートし、その後2 % (w/v)のウシ血清アルブミンを含むP B Sにて室温(およそ23)で2 から5 時間、ブロックする。非吸着プレート(Nunc#269620)に、100 p M又は26 p Mの[125 I] V E G F (109)を、段階希釈した興味あるF a b、例えばF a b - 12 (Presta等, (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599)と混合する。ついで、興味あるF a bを一晩インキュベートする；しかし、インキュベーションは確実に平衡状態に達するまで65 時間かかるかもしれない。その後、混合物を捕獲プレートに移し、室温で1 時間インキュベートする。ついで、溶液を取り除き、プレートを0 . 1 %のT w e e n 20を含むP B Sにて8 回洗浄する。プレートが乾燥したら、150 μ l / ウェルの閃光物質(MicroScint-20; Packard)を加え、プレートをTopcount 計測器(Packard)にて10 分間計測する。最大結合の20 %か又はそれ以下の濃度のF a bを選択してそれぞれ競合結合アッセイに用いる。他の実施態様によると、~ 10 反応単位(R U)の固定したh V E G F (8 - 109) C M 5チップを用いて25 のB I A c o r e ^{T M} - 2000又はB I A c o r e ^{T M} - 3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)にて表面プラズモン共鳴アッセイを使用してK d又はK d値を測定する。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ(CM5, BIAcore Inc.)を、供給者の指示書に従ってN-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(E D C)及びN-ヒドロキシスクシンイミド(N H S)で活性化する。ヒトV E G Fを10 mMの酢酸ナトリウム(p H 4 . 8)で5 μ g / ml (~ 0 . 2 μ M)に希釈し、結合したタンパク質の反応単位(R U)がおよそ10 になるように5 μ l / 分の流量で注入する。ヒトV E G Fの注入後、反応していない群をブロックするために1 Mのエタノールアミンを注入する。動態測定のために、2 倍の段階希釈したF a b(0 . 78 nMから500 nM)を25 で、およそ25 μ l / 分の流量で0 . 05 %のT w e e n 20(P B S T)を含むP B Sに注入する。会合及び解離のセンサーグラムを同時にフィットさせることによる単純一対一ラングミュア結合モデル(simple one-to-one Langmuir binding model) (BIAcore Evaluationソフトウェアバージョン3.2)を用いて、会合速度(K_{on})と解離速度(K_{off})を算出した。平衡解離定数(K d)を K_{off} / K_{on} 比として算出した。例えば、Chen, Y. 等 (1999) J. Mol Biol 293:865-881を参照。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによる結合速度が 10^6 M⁻¹ S⁻¹を上回る場合、分光計、例えば、ストップフローを備えた分光光度計(Aviv Instruments)又は攪拌キュベットを備えた8000シリーズSLM-Aminco分光光度計(ThermoSpectronic)で測定される、増加濃度のヒトV E G Fショート型(8 - 109)又はマウスV E G Fの存在下にて、P B S(p H 7 . 2)、25 の、20 nMの抗V E G F抗体(F a b型)の蛍光発光強度(励起 = 295 nm ; 発光 = 340 nm、帯域通過 = 16 nm)における増加又は減少を測定する蛍光消光技術を用いて結合速度を測定することができる。

【 0 0 3 9 】

「ブロッキング」抗体又は抗体「アンタゴニスト」は、それが結合する抗原の生物機能

10

20

30

40

50

を抑制し又は低減するものである。例えば、VEGF特異的アンタゴニスト抗体はVEGFに結合し、血管内皮細胞増殖を誘導し、又は血管透過性を誘導するVEGFの能力を阻害する。ある実施態様では、ブロック抗体又はアンタゴニスト抗体は、抗原の生物活性を完全に又は実質的に阻害する。

【0040】

特に断らない限りは、本明細書全体を通して「多価抗体」という表現は3又はそれ以上の抗原結合部位を含む抗体を指すために使用される。例えば、多価抗体は3又はそれ以上の抗原結合部位を持つように遺伝子操作されており、一般には天然配列IgM又はIgA抗体ではない。

【0041】

「抗体断片」は、一般にはインタクトな抗体の抗原結合部位を含み、よって抗原に結合する能力を保持しているインタクトな抗体の一部のみを含む。本定義に包含される抗体断片の例には、(i)VL、CL、VH及びCH1ドメインを持つFab断片；(ii)CH1ドメインのC末端に一又は複数のシステイン残基を持つFab断片であるFab'断片；(iii)VH及びCH1ドメインを持つFd断片；(iv)CH1ドメインのC末端に一又は複数のシステイン残基とVH及びCH1ドメインを持つFd'断片；(v)抗体の単一アームのVL及びVHドメインを持つFv断片；(vi)VHドメインからなるdAb断片(Ward等, Nature 341, 544-546 (1989))；(vii)単離されたCDR領域；(viii)ヒンジ領域がジスルフィド架橋によって結合された2つのFab'断片を含む二価断片であるF(ab')₂断片；(ix)単鎖抗体分子(例えば単鎖Fv；scFv)(Bird等, Science 242:423-426 (1988)；及びHuston等, PNAS (USA) 85:5879-5883 (1988))；(x)同一のポリペプチド鎖中で軽鎖可変ドメイン(VL)に結合した重鎖可変ドメイン(VH)を含む、2つの抗原結合部位を持つ「ダイアボディー(diabodies)」(例えば、欧州特許出願公開第404097号；国際公開第93/11161号；及びHollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照)；(xi)相補的軽鎖ポリペプチドと共に一对の抗原結合領域を形成する一对のタンデムFdセグメント(VH-CH1-VH-CH1)を含む「線形抗体」(Zapata等, Protein Eng. 8(10):1057-1062(1995)；及び米国特許第5641870号)が含まれる。

【0042】

ここで使用される「モノクローナル抗体」なる用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味する。すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在しうる自然に生じる可能な突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。更に、異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を典型的には含むポリクローナル抗体調製物とは異なり、各モノクローナル抗体は抗原の単一の決定基に対するものである。「モノクローナル」との修飾語句は、抗体が何か特定の方法で生産しなければならないことを意味するものではない。例えば、本発明において使用されるモノクローナル抗体は、最初にKohler等, Nature, 256:495 (1975)に記載されたハイブリドーマ法によって作ることができ、あるいは組換えDNA法によって作ることができる(例えば米国特許第4816567号を参照)。また「モノクローナル抗体」は、例えば、Clackson等, Nature, 352:624-628 (1991)又はMarks等, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)に記載された技術を使用してファージ抗体ライブラリーから単離することもできる。

【0043】

「Fv」断片は、完全な抗原認識及び結合部位を含む抗体断片である。この領域は、例えばscFvにおいて、実際は共有結合性でありうる、密接に結合した1本の重鎖と1本の軽鎖の可変ドメインの二量体からなる。この配置において各可変ドメインの3つのCDRが相互作用してV_H-V_L二量体の表面に抗原結合部位を決定する。集散的に、6つのCDRs又はそのサブセットが抗体に対する抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン(又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含んでなるFvの半分)でさえ、結合部位全体よりは低い親和性であるが、抗原を認識し結合する能力を持つ。

【 0 0 4 4 】

ここで使用される場合、「抗体可変ドメイン」は、相補性決定領域(CDRs;すなわち、CDR1、CDR2、及びCDR3)、及びフレームワーク領域(FR)のアミノ酸配列を含む抗体分子の軽鎖及び重鎖の一部を意味する。 V_H は重鎖の可変ドメインを意味する。 V_L は軽鎖の可変ドメインを意味する。この発明に使用される方法に従い、CDR及びFRに割り当てられるアミノ酸位置は、Kabat(Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987及び1991))に従い定めることができる。また、抗体又は抗原結合断片のアミノ酸番号付けも、Kabatに従う。

【 0 0 4 5 】

ここで使用される場合、「相補性決定領域」(CDRs;すなわち、CDR1、CDR2、及びCDR3)なる用語は、その存在が抗原結合に必要である抗体可変ドメインのアミノ酸残基を意味する。各可変ドメインは、典型的には、CDR1、CDR2及びCDR3として同定される3つのCDR領域を有する。各相補性決定領域は、Kabatらにより定められる「相補性決定領域」(つまり、軽鎖可変ドメイン中の残基24-34(L1)、50-56(L2)及び89-97(L3)と、重鎖可変ドメイン中の残基31-35(H1)、50-65(H2)及び95-102(H3);Kabatら, Sequences of Polypeptides of Immunological Interest, 5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD(1991))からのアミノ酸残基、及び/又は「高頻度可変ループ」(つまり、軽鎖可変ドメイン中の残基26-32(L1)、50-52(L2)及び91-96(L3)と、重鎖可変ドメイン中の26-32(H1)、53-55(H2)及び96-101(H3);Chothia及び Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917(1987))からの残基を含む。幾つかの例において、相補性決定領域は、Kabatに従い定められたCDR領域と、高頻度可変ループの双方からのアミノ酸を含みうる。例えば、抗体4D5の重鎖のCDRH1は、アミノ酸26から35を含む。

【 0 0 4 6 】

「フレームワーク領域」(以後FR)は、CDR残基以外の可変ドメイン残基である。各可変ドメインは、典型的にはFR1、FR2、FR3、及びFR4と同定される4つのFRを有する。CDRがKabatに従い定められたとすると、軽鎖FR残基は、ほぼ残基1-23(LCFR1)、35-49(LCFR2)、57-88(LCFR3)、及び98-107(LCFR4)に位置し、重鎖FR残基は、重鎖残基のほぼ残基1-30(HCFR1)、36-49(HCFR2)、66-94(HCFR3)、及び103-113(HCFR4)に位置する。CDRsが高頻度可変ループからのアミノ酸残基を含有しているならば、軽鎖FR残基は、軽鎖のほぼ残基1-25(LCFR1)、33-49(LCFR2)、53-90(LCFR3)、及び97-107(LCFR4)に位置し、重鎖FR残基は、重鎖残基のほぼ残基1-25(HCFR1)、33-52(HCFR2)、56-95(HCFR3)、及び102-113(HCFR4)に位置する。幾つかの例において、CDRが、Kabatにより定められたCDRと高頻度可変ループのものの双方からのアミノ酸を含有しているならば、FR残基はそれに応じて調節されるであろう。例えば、CDRH1がアミノ酸H26-H35を含んでいる場合、重鎖FR1残基は1-25位に存在し、FR2残基は36-49位に存在する。

【 0 0 4 7 】

「Fab」断片は、軽鎖の可変及び定常ドメインと重鎖の可変ドメインと第一定常領域(CH1)を有する。 $F(ab')_2$ 抗体断片は、間のヒンジシステインにより、それらのカルボキシ末端近傍で一般的に共有結合しているFab断片の対を含む。また、抗体断片の他の化学結合も当該分野で知られている。

【 0 0 4 8 】

「単鎖Fv」又は「scFv」抗体断片は、抗体の V_H 及び V_L ドメインを含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。一般的に、Fvポリペプチドは V_H 及び V_L ドメイン間にポリペプチドリッカーを更に含み、それはscFvが抗原結合に望ま

10

20

30

40

50

れる構造を形成するのを可能にする。s c F v の概説については、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol 113, Rosenberg及びMoore編 Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照。

【 0 0 4 9 】

「ダイアボディ(diabodies)」なる用語は、二つの抗原結合部位を持つ小さい抗体断片を意味し、その断片は同じポリペプチド鎖 (V_H 及び V_L) 内で軽鎖可変ドメイン (V_L) に結合した重鎖可変ドメイン (V_H) を含む。同じ鎖の二つのドメイン間に対形成するには短すぎるリンカーを用いることにより、ドメインは強制的に他の鎖の相補的ドメインと対形成して二つの抗原結合部位を生成する。ダイアボディは、例えば、欧州特許出願公開第 4 0 4 0 9 7 号 ; 国際公開第 9 3 / 1 1 1 6 1 号 ; 及び Hollinger ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993) により十分に記載されている。

【 0 0 5 0 】

「線形抗体」なる表現は、Zapata等, Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995) に記載された抗体を意味する。簡潔に述べると、これらの抗体は、相補的軽鎖ポリペプチドと共に、一对の抗原結合領域を形成する一对のタンデム型 F d 配列 ($V_H - C_H 1 - V_H - C_H 1$) を含む。線形抗体は二重特異性又は単一特異性でありうる。

【 0 0 5 1 】

ここでモノクローナル抗体は、特定の種由来又は特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体において、対応する配列に一致する又は類似する重鎖及び / 又は軽鎖の一部であり、残りの鎖は、他の種由来又は他の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体において、対応する配列に一致する又は類似する「キメラ」抗体 (免疫グロブリン)、並びに所望の生物学的活性を表す限り、このような抗体の断片を含む (米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号 ; 及び Morrison 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855(1984))。

【 0 0 5 2 】

非ヒト (例えばマウス) の抗体の「ヒト化」型は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ抗体である。大部分において、ヒト化抗体は、レシピエントの高頻度可変領域の残基が、マウス、ラット、ウサギ又は所望の特異性、親和性及び能力を有する非ヒト霊長類のような非ヒト種 (ドナー抗体) からの高頻度可変領域の残基によって置換されたヒト免疫グロブリン (レシピエント抗体) である。幾つかの例において、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域 (F R) 残基は、対応する非ヒト残基によって置換される。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、もしくはドナー抗体にも見出されない残基を含んでいてもよい。これらの修飾は抗体の特性を更に洗練するために行われる。一般に、ヒト化抗体は、全てあるいは実質的に全ての高頻度可変ループが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、全てあるいは実質的に全ての F R が、ヒト免疫グロブリン配列のものである少なくとも一又は典型的には 2 つの可変ドメインの実質的に全てを含むであろう。また、ヒト化抗体は、場合によっては免疫グロブリン定常領域 (F c) の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのもの少なくとも一部も含む。更なる詳細については、Jones ら, Nature 321:522-525(1986) ; Riechmann ら, Nature 332:323-329(1988) ; 及び Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596(1992) を参照。

【 0 0 5 3 】

「ヒト抗体」は、ヒトによって生産される抗体のアミノ酸配列に相当するアミノ酸配列を有するもの、及び / 又はここにおいて開示されたヒト抗体を作製する任意の技術を使用して製造されたものである。ヒト抗体のこの定義は、特に非ヒト抗原結合残基を含んでなるヒト化抗体を除く。ヒト抗体は当該分野で知られている様々な技術を使用して製造することができる。一実施態様では、ヒト抗体はファージライブラリーから選択され、そのファージライブラリーはヒト抗体を発現する (Vaughan 等 Nature Biotechnology 14:309-314(1996) ; Sheets 等 Proc. Natl. Acad. Sci. 95:6157-6162(1998)) ; Hoogenboom 及び Winter, J. Mol. Biol., 227:381(1991) ; Marks 等, J. Mol. Biol., 222:581(1991))。また、ヒト抗体は、その内在性免疫グロブリン遺伝子が部分的又は完全に不活性化されたトランスジェニック動物、例えばマウスに、ヒト免疫グロブリン座位を導入することによって

も作製可能である。誘発時、遺伝子の再配列、アセンブリ、及び抗体レパートリーを含む全ての観点において、ヒトに見られるものに非常に類似するヒト抗体産生が観察される。このアプローチは、例えば米国特許第5545807号；同5545806号；同5569825号；同5625126号；同5633425号；同5661016号、及び次の化学文献：Marks等，Bio/Technology 10: 779-783(1992)；Lonberg等，Nature 368: 856-859(1994)；Morrison，Nature 368:812-13(1994)；Fishwild等，Nature Biotechnology 14: 845-51(1996)；Neuberger，Nature Biotechnology 14: 826(1996)；Lonberg及びHuszar，Intern. Rev. Immunol. 13:65-93(1995)に記載されている。またヒト抗体は、標的抗原に対して産生される抗体を生成するヒトBリンパ球の不活化を介して調製することができる（このようなBリンパ球は個人から回収してもよく、またインビトロで免疫化される）。例えば、Cole等，Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77(1985)；Boerner等，J. Immunol., 147(1):86-95(1991)；及び米国特許第5750373号を参照。

10

【0054】

「親和成熟」抗体とは、変化を有しない親抗体と比較し、抗原に対する抗体の親和性に改善を生じせしめるその一又は複数のCDRにおける一又は複数の変化を伴うものである。好ましい親和成熟抗体は、標的抗原に対してナノモル又はピコモルの親和性を有する。親和成熟抗体は、当該分野において知られている手順によって産生される。Marks等 Bio/Technology, 10: 779-783(1992)は、VH及びVLドメインシャッフリングによる親和成熟について記載している。CDR及び/又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発は、例えばBarbas等，Proc Nat Acad. Sci, USA 91: 3809-3813(1994)；Schier等，Gene, 169: 147-155(1995)；Yelton等，J. Immunol. 155: 1994-2004(1995)；Jackson等，J. Immunol. 154(7): 3310-9(1995)；及びHawkins等，J. Mol. Biol. 226: 889-896(1992)に記載されている。

20

【0055】

抗体の「機能的抗原結合部位」は、標的抗原に結合可能なものである。抗原結合部位の抗原結合親和性は、抗原結合部位が誘導される親抗体ほど必ずしも強くはないが、抗原に結合する能力は、抗原への抗体結合性を評価するための様々な既知の方法の何れか一つを使用して測定可能なものでなくてはならない。更に、ここでの多価抗体の各抗原結合部位の抗原結合親和性は、定量的に同じである必要はない。ここでの多量体抗体について、機能的抗原結合部位の数は、米国特許出願公開第20050186208号の実施例2に記載されたように、超遠心分離分析を使用して評価することができる。この分析方法によれば、多量体抗体に対する標的抗原の様々な比率が組合せられ、複合体の平均分子量が、異なる数の機能的結合部位を仮定して、計算される。これらの理論値は、機能的結合部位の数を評価するために、得られた実際の実験値と比較される。

30

【0056】

指定された抗体の「生物学的特徴」を有する抗体は、同じ抗原に結合する他の抗体とは区別される抗体の一又は複数の生物学的特徴を有するものである。

【0057】

関心ある抗体が結合した抗原上のエピトープに結合する抗体をスクリーニングするために、常套的なクロスポッキングアッセイ、例えばA Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow及びDavid Lane(1988)に記載されたものを実施することができる。

40

【0058】

「種依存性抗体」は、第2の哺乳動物種からの抗原のホモログに対してよりも、第1の哺乳動物種からの抗原に対して、より強い結合親和性を有するものである。通常、種依存性抗体はヒト抗原に「特異的に結合する」（すなわち、約 1×10^{-7} M以下、好ましくは約 1×10^{-8} M以下、及び最も好ましくは約 1×10^{-9} M以下の結合親和性(Kd)値を有する)が、第2の非ヒト哺乳動物種からの抗原のホモログに対しては、ヒト抗原に対する結合親和性よりも、少なくとも約50倍、又は少なくとも約500倍、又は少なく

50

とも約1000倍弱い結合親和性を有する。種依存性抗体は、上述した様々な種類の抗体の何れであってもよいが、典型的には、ヒト化又はヒト抗体である。

【0059】

ここで使用される場合、「抗体突然変異体」又は「抗体変異体」は、種依存性抗体のアミノ酸配列変異体を意味し、ここで種依存性抗体の一又は複数のアミノ酸残基が修飾されている。このような突然変異体は、種依存性抗体と100%の配列同一性又は類似性を有する必要はない。一実施態様では、抗体突然変異体は、種依存性抗体の重鎖又は軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列と、少なくとも75%、より好ましくは少なくとも80%、更に好ましくは少なくとも85%、また更に好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%のアミノ酸配列同一性又は類似性を有するアミノ酸配列を含むであろう。この配列に関する同一性又は類似性は、最大パーセント配列同一性を達成するために、必要であるならば、配列を整列させ、間隙を導入した後に、種依存性抗体残基と同一(すなわち同じ残基)又は類似(すなわち、共通の側鎖特性に基づき、同じ群からのアミノ酸残基)である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。可変ドメインの外側の抗体配列への挿入、N末端、C末端、又は内部の伸長、欠失の何れも、配列の同一性又は類似性に影響を与えると解されるべきではない。

【0060】

この発明のアミノ酸配列を含む抗体又はポリペプチドの半減期を増加させるために、例えば米国特許第5739277号に記載されているように、抗体(特に抗体断片)にサルベージレセプター結合エピトープを結合させることができる。例えば、サルベージレセプター結合エピトープをコードする核酸分子を、遺伝子操作された核酸分子により発現される融合タンパク質が、サルベージレセプター結合エピトープと、この発明のポリペプチド配列を有するように、この発明のポリペプチド配列をコードする核酸にインフレームで結合させることができる。ここで使用される場合、「サルベージレセプター結合エピトープ」なる用語は、IgG分子のインビボ血清半減期を増加させる原因であるIgG分子(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、又はIgG₄)のエピトープを意味する(例えば、Ghetie等, Ann. Rev. Immunol. 18:739-766(2000)、表1)。また、そのFc領域で置換され、血清半減期が増加した抗体は、国際公開第00/42072号、国際公開第02/060919号; Shields等, J. Biol. Chem. 276:6591-6604 (2001); Hinton, J. Biol. Chem. 279:6213-6216(2004))に記載されている。他の実施態様では、血清半減期は、例えば他のポリペプチド配列を結合させることによっても増加させることができる。例えば、本発明の方法に有用な抗体又は他のポリペプチドは、血清ルアルブミン、又はFcRnレセプターに結合する血清アルブミンの一部、又は血清アルブミンが抗体又はポリペプチド、例えば国際公開第01/45746号に開示されているようなポリペプチド配列に結合するように、血清アルブミン結合ペプチドに結合可能である。一実施態様では、結合される血清アルブミンペプチドは、DICLP RWGCLWのアミノ酸配列を含む。他の実施態様では、Fabの半減期はこれらの方法によって増加させられる。また、血清アルブミン結合ペプチド配列については、Dennis等 J. Biol. Chem. 277:35035-35043(2002)を参照。

【0061】

「キメラVEGFレセプタータンパク質」は、少なくとも2の異なるタンパク質から誘導されたアミノ酸配列を有するVEGFレセプター分子であり、その少なくとも一方はVEGFレセプタータンパク質である。ある実施態様では、キメラVEGFレセプタータンパク質は、VEGFに結合可能で、その生物活性を阻害することができる。

【0062】

「単離された」抗体とは、その自然環境の成分から同定され分離され及び/又は回収されたものである。その自然環境の汚染成分とは、抗体の診断又は治療への使用に干渉する物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質様又は非タンパク質様溶質が含まれる。ある実施態様では、抗体は、(1)ローリー法で測定して抗体の95重量%を越え、最も好ましくは99重量%を越えるまで、(2)スピニングカップシークエネーターを使っ

たN末端又は内在するアミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度まで、又は(3)クーマシーブルー又は銀染色を用いた還元又は非還元条件下でのSDS-PAGEにより均一になるまで、精製される。単離された抗体は、抗体の自然な環境の少なくとも一成分が存在しないことから、組換え細胞内におけるインサイツでの抗体を含む。しかしながら、通常は、単離された抗体は少なくとも一の精製工程によって調製されるであろう。

【0063】

「断片」は、好ましくは参照核酸分子又はポリペプチドの全長の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又はそれ以上を含むポリペプチド又は核酸分子の一部を意味する。断片は、10、20、30、40、50、60、70、80、90、又は100、200、300、400、500、600、又はそれ以上のヌクレオチドあるいは10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、190、200のアミノ酸又はそれ以上を含むうる。

【0064】

「抗血管新生剤」又は「血管新生阻害剤」は、直接的か間接的かの何れかで、血管新生、脈管形成又は望ましくない血管透過を阻害する小分子量の物質、ポリヌクレオチド、ポリペプチド、単離されたタンパク質、組換えタンパク質、抗体、又はそれらのコンジュゲート又は融合タンパク質を意味する。抗血管形成剤には、結合して血管形成因子又はそのレセプターの血管形成活性をブロックする作用剤が含まれることが理解されなければならない。例えば、抗血管形成剤は、本明細書を通じて定義され又は当該分野で知られている血管新生剤に対する抗体又は他のアンタゴニスト、例えば、限定しないがVEGF-Aに対するか又はVEGF-Aレセプター(例えばKDRレセプター又はFlt-1レセプター)に対する抗体、VEGF-トラップ、GleevecTM(イマチニブメシレート)などの抗PDGFR阻害剤である。また、抗血管新生剤には、天然の血管新生阻害剤、例えばアンジオスタチン、エンドスタチンなどが含まれる。例えば、Klagsbrun及びD'Amore, Ann u. Rev. Physiol., 53:217-39 (1991); Streit及びDetmar, Oncogene, 22:3172-3179 (2003) (例えば、悪性メラノーマの抗血管新生療法を列挙している表3); Ferrara及びAlitalo, Nature Medicine 5:1359-1364 (1999); Tonini等, Oncogene, 22:6549-6556 (2003) (例えば、既知の抗血管新生因子を列挙している表2); 及びSato, Int. J. Clin. Oncol., 8:200-206 (2003) (例えば、表1は臨床試験で使用されている抗血管新生剤を列挙)を参照のこと。

【0065】

ここで、「維持」用量は、治療期間にわたって又は治療期間後に患者に投与される治療剤の一又は複数の用量を指す。通常、維持用量は、間をおいた治療間隔、例えば、およそ毎週、およそ2週毎、およそ3週毎、又はおよそ4週毎に投与される。一実施態様における維持用量が、ここの図1(延長治療)、図2又は図8又は図11に示されている。

【0066】

「生存」は、生存している患者を指し、無増悪生存期間(PFS)及び全生存(OS)を含む。生存はカプラン・マイヤー法によって推定され得、生存の違いは層別ロジック検定を使用して計算される。

【0067】

「無増悪生存期間(PFS)」は、治療(又は無作為化)から最初の疾患進行又は死亡までの時間を指す。本発明の一態様では、PFSは固形腫瘍の治療効果判定基準(RECIST)によって評価することができる。本発明の一態様では、PFSは、進行の決定要因としてCA-125レベルによって評価されることが出来る。。

【0068】

「全生存」は、治療の開始又は最初の診断から、定まった期間、例えば約1年、約1.5年、約2年、約3年、約4年、約5年、約10年等の間、患者が生存していることを指す。発明の基礎をなす試験においては、生存分析に使用される事象は全死因からの死亡で

10

20

30

40

50

ある。

【0069】

「生存を延長させる」又は「生存の可能性を増大させる」とは、未治療の患者と比較して（つまり、例えばVEGF抗体のようなVEGF特異的アンタゴニストで治療されていない被験者に対して）、又はコントロール処置プロトコル、例えば卵巣癌の標準治療に使用されるものなどの化学療法剤のみによる治療と比較して、治療された被験者においてPFS及び/又はOSが増加していることを意味する。例えば、延長されたPFSは、コントロール（例えば、同じVEGF特異性アンタゴニストで処置されていない患者）と比較して、例えば、治療の開始から又は最初の診断から例えば約1ヶ月、2ヶ月、2.3ヶ月、2.9ヶ月、3ヶ月、3.8ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、1年、約2年、約3年などの所定の期間、癌を再発することなく、患者が生存している時間である。一実施態様では、PFSは、コントロールと比較して約2.9ヶ月～3.8ヶ月延長される。一実施態様では、PFSは、コントロールと比較して少なくとも約3.8ヶ月延長される。別の実施態様では、PFSは、約2.3ヶ月延長される。一実施態様では、PFSは、コントロールと比較して約6ヶ月延長される。ある実施態様では、生存は、治療の開始後又は最初の診断後、少なくとも約1ヶ月、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、又は少なくとも約1年、又は少なくとも約2年、又は少なくとも約3年、又は少なくとも約4年、又は少なくとも約5年、又は少なくとも約10年などモニタされる。

10

【0070】

ハザード比(HR)はイベントの割合に対する統計的定義である。本発明の目的では、ハザード比は、実験的アームにおけるイベントの確率を、任意の特定の時点でのコントロールアームにおけるイベントの確率で割ったものを表すと定義される。無増悪生存期間解析における「ハザード比」は、2つの無増悪生存期間曲線の間の差のまとめであり、所定の追跡調査期間にわたるコントロールと比較した治療に対する死亡リスクの減少を表す。

20

【0071】

「同時に」なる用語は、投与の時間の少なくとも一部がオーバーラップしている、2以上の治療剤の投与を意味するためにここで使用される。従って、同時投与には、一又は複数の薬剤の投与が一又は複数の他の薬剤の投与をやめた後に続く場合の投薬計画を含む。

【0072】

「単独療法」は、治療期間の経過中に癌又は腫瘍の治療のために単一の治療剤のみを含む治療的投薬計画を意味する。VEGF特異的アンタゴニストを使用する単独療法は、VEGF特異的アンタゴニストが治療期間の間に更なる抗癌療法がない状態で投与されることを意味する。

30

【0073】

「維持療法」は、疾患再発又は進行の可能性を低減するために施される治療レジメンを意味する。維持療法は、患者の寿命まで延長された期間を含む任意の長さの時間の間、提供されうる。維持療法は、最初の療法の後又は、最初ないしは更なる療法と共に提供されうる。維持療法は、初期療法後に、又は最初のもしくは更なる治療法との関連で提供されうる。維持療法に使用される用量は、変化し得、他のタイプの治療法に使用される用量と比較して、減少した用量を含みうる。発明のある実施態様では、維持治療は、5サイクルの抗VEGF治療を併用した化学療法の終了後、少なくとも16サイクル与えられる。発明の他の実施態様では、維持治療は、6サイクルの抗VEGF治療を併用した化学療法の終了後、少なくとも12サイクル与えられる。一実施態様では、維持治療は図1、図2、図8又は図11に示す通りである。

40

【0074】

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には調節されない細胞増殖を特徴とする哺乳動物における生理学的状態を指すか又は記述する。この定義には良性及び悪性癌、並びに休止状態の腫瘍又は微小転移巣である。癌の例には、限定されるものではないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病が含まれる。このような癌のより特定の例には、卵巣癌、卵巣原発性腹膜癌、卵巣卵管がん、白金感受性再発性卵巣上皮癌、原発性腹膜、

50

又は卵管がん、扁平細胞癌、肺癌（小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、及び肺の扁平癌腫(squamous carcinoma)を含む）、腹膜の癌、肝細胞癌、胃(gastric)又は腹部(stomach)癌（胃腸癌を含む）、膵臓癌、神経膠芽細胞腫、子宮頸管癌、肝臓癌、膀胱癌、肝癌、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜又は子宮癌、唾液腺癌、腎臓(kidney)又は腎(renal)癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌及び様々なタイプの頭頸部癌、並びにB細胞リンパ腫（低級ノドリンパ性非ホジキンリンパ腫(NHL)；小リンパ球(SL)NHL；中級ノドリンパ性NHL；中級びまん性NHL；高級免疫芽細胞性NHL；高級リンパ芽球性NHL；高級小非分割細胞NHL；バルキー疾患NHL；外套細胞リンパ腫；エイズ関連リンパ腫；及びワルデンストロームのマクログロブリン病を含む）；慢性リンパ性白血病(CLL)；急性リンパ芽球白血病(ALL)；ヘアリー細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；及び移植後リンパ増殖性疾患(PTLD)、並びに母斑症に関連した異常な血管増殖、浮腫（例えば脳腫瘍に関連したもの）、メイグス症候群を含む。

【0075】

「転移」は、その原発部位から体の他の場所への癌の広がり意味着する。癌細胞は血流を通して原発性腫瘍から離れ、リンパ及び血管中に浸透し、血流を通して循環し、体の他の場所の正常組織における遠位の病巣で増殖（転移）しうる。転移は局所的又は遠位でありうる。転移は、原発性腫瘍から別れ、血流を移動し、遠位の部位で止まる腫瘍細胞に随伴性の連続的な過程である。新しい部位で、細胞は血液供給を樹立し、増殖して命を脅かす塊を形成しうる。腫瘍細胞内の刺激性及び阻害性分子経路の双方がこの挙動を調節し、遠位部位での腫瘍細胞と宿主細胞の間の相互作用がまた顕著である。

【0076】

「被験者」とは、限定しないが、ヒト又は非ヒト哺乳動物、例えばウシ、ウマ、イヌ、ヒツジ、又はネコを含む哺乳動物を意味する。好ましくは、被験者はヒトである。患者はまたここでの被験者である。典型的には、被験体はメスである。

【0077】

本発明の方法に対して、被験者に「指示する」という用語は、任意の手段、好ましくはパッケージ挿入物の形態又は他の文書でのプロモーション資料のように文書により、適用可能な治療法、医薬、治療、治療レジメン等に対する指示を提供することを意味する。

【0078】

本発明の方法に対して、「促進する」という用語は、パッケージ挿入物の形態の場合のように文書を含む任意の手段により、特定の薬剤、薬剤の組み合わせ、又は治療様式を提供し、宣伝し、販売し、又は記述することを意味する。ここでの促進は、卵巢癌の治療のような適応症に対しての、例えばVEGFアンタゴニスト、例えば抗VEGF抗体又は化学療法剤のような治療剤のプロモーションを意味し、ここで、促進は、被験者の集団において統計的に有意な治療効果及び許容可能な安全性を伴うことが証明されているとして、食品医薬品局(FDA)によって許可されている。

【0079】

「マーケティング」なる用語は、製品（例えば薬剤）のプロモーション、販売又は流通を記述するためにここで使用される。マーケティングは特に包装、宣伝広告、及び製品を市販する目的での任意のビジネス活動を含む。

【0080】

被験者の「集団」は、臨床試験におけるような、又は卵巢癌治療のような特定の適応症に対してFDAの承認後に腫瘍学者によって見られるような、癌の被験者のグループを意味する。

【0081】

「抗癌療法」なる用語は、癌の治療に有用な治療法を意味する。抗癌治療剤の例は、限定しないが、外科手術、化学療法剤、増殖阻害剤、細胞傷害剤、放射線療法で使用される薬剤、抗血管新生剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、及び癌を治療するための他の薬剤、例えば抗HER2抗体、抗CD20抗体、上皮増殖因子レセプター(EGFR)アンタゴニスト（例えばチロシンキナーゼ阻害剤）、HER1/EGFR阻害剤（例えば、

10

20

30

40

50

エルロチニブ(タルセバ(登録商標)、血小板由来増殖因子阻害剤(例えば、GleevecTM(イマチニブメシレート))、COX-2阻害剤(例えば、セレコキシブ)、インターフェロン、サイトカイン、次の標的ErbB2、ErbB3、ErbB4、PDGFR-、BlyS、APRIL、BCMA又はVEGFレセプターの一又は複数に結合するアンタゴニスト(例えば中和抗体)、TRAIL/Apo2、及び他の生理活性及び有機化学薬剤等々を含む。それらの組み合わせもまた本発明に含まれる。

【0082】

ここで用いられる「細胞傷害剤」なる用語は、細胞の機能を阻害又は抑制し、及び/又は細胞の破壊を生じせしめる物質を意味する。該用語は、放射性同位体(例えば、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²及びLuの放射性同位体)、化学療法剤、及び毒素、例えばその断片及び/又は変異体を含む、小分子毒素又は細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素的に活性な毒素を含むことが意図されている。

【0083】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化学化合物である。化学療法剤の例には、癌の治療に有用な化学化合物が含まれる。化学療法剤の例には、チオテパ及びCYTOXAN(登録商標)シクロスホスファミドのようなアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン及びピボスルファンのようなスルホン酸アルキル類；ベンゾドーパ(benzodopa)、カルボコン、メツレドーパ(meturedopa)、及びウレドーパ(uredopa)のようなアジリジン類；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド(triethylenethiophosphoramidate)及びトリメチローロメラミン(trimethylolomelamine)を含むエチレンイミン類及びメチラメラミン類；アセトゲニン(acetogenins)(特にプラタシン(bullatacin)及びプラタシノン(bullatacinone))；カンプトセシン(合成類似体トポテカン(topotecan)を含む)；プリオスタチン；カリスタチン(callystatin)；CC-1065(そのアドゼレシン(adozelesin)、カルゼレシン(carzelesin)及びバイゼレシン(bizelesin)合成アナログを含む)；クリプトフィシン(cryptophycin)(特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8)；ドラスタチン(dolastatin)；デュオカルマイシン(duocarmycin)(合成アナログ、KW-2189及びCBI-TM1を含む)；エリユテロピン(el eutherobin)；パンクラチスタチン(pancratistatin)；サルコディクチン(sarcodictyin)；スポンジスタチン(spongistatin)；ナイトロジェンマスタード、例えばクロランブシル、クロルナファジン(chlornaphazine)、クロロホスファミド(cholophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンピチン(novembichin)、フェネステリン(phenesterine)、ブレドニムスチン(prednimustine)、トロフォスファミド(trofosfamide)、ウラシルマスタード；ニトロスレア(nitrosureas)、例えばカルムスチン(carmustine)、クロロゾトシン(chlorozotocin)、フォテムスチン(fotemustine)、ロムスチン(lomustine)、ニムスチン、及びラニムスチン；エネジイン(enediyne)抗生物質等の抗生物質(例えば、カリケアマイシン(calicheamicin)、特にカリケアマイシンガンマ1I及びカリケアマイシンオメガI1、例えば、Agnew Chem Intl. Ed. Engl., 33:183-186(1994)を参照；ダイネミシンA(dynemicinA)を含むダイネミシン(dynemicin)；クロドロネート(clodronate)などのビスホスホネート(bisphosphonates)；エスペラマイシン(esperamicin)；並びにネオカルチノスタチン発光団及び関連色素蛋白エネジイン(enediyne)抗生物質発光団)、アクラシノマイシン(aclacinomysins)、アクチノマイシン、オースラマイシン(authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン(bleomycins)、カクチノマイシン(cactinomycin)、カラビシン(carabycin)、カルミノマイシン(carminomycin)、カルジノフィリン(carzinophilin)、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン(detorubicin)、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRIAMYCIN(登録商標)ドキシソルピシン(モルフォリノ-ドキシソルピシン、シアノモルフォリノ-ドキシソルピシン、2-ピロリノ-ドキシソルピシン及びデオキシドキシソルピシンを含む)、エピルビシン、エソルビシン(esorubicin)、イダルビシン、マセロマイシン(marcellomycin)、マイトマイシンCなどのマイトマ

10

20

30

40

50

イシン(mitomycins)、ミコフェノール酸(mycophenolic acid)、ノガラマイシン(nogalamycin)、オリボマイシン(olivomycins)、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン(potfiromycin)、ピューロマイシン、クエラマイシン(quelamycin)、ロドルビシン(rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン(tubercidin)、ウベニメクス、ジノスタチン(zinostatin)、ゾルビシン(zorubicin)；メトトレキセート及び5-フルオウラシル(5-FU)のような抗代謝産物；デノプテリン(denopterin)、メトトレキセート、プテロプテリン(pteropterin)、トリメトレキセート(trimetrexate)のような葉酸アナログ；フルダラビン(fludarabine)、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンのようなプリンアナログ；アンシタピン、アザシチジン(azacitidine)、6-アザウリジン(azauridine)、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン(enocitabine)、フロキシウリジン(floxuridine)のようなピリミジンアナログ；カルステロン(calusterone)、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン(testolactone)のようなアンドロゲン類；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンのような抗副腎剤；フロリン酸(frolinic acid)のような葉酸リプレニッシャー(replenisher)；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル(eniluracil)；アムサクリン(amsacrine)；ベストラブシル(bestrabucil)；ビスアントレン(bisantrene)；エダトラキセート(edatraxate)；デフォファミン(defofamine)；デメコルシン(demecolcine)；ジアジコン(diaziquone)；エルフォルニチン(elfornithine)；酢酸エリプチニウム(elliptinium acetate)；エポチロン(epothilone)；エトグルシド(etoglucid)；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン(lonidamine)；メイタンシン(maytansine)及びアンサマイトシン(ansamitocin)のようなメイタンシノイド(maytansinoid)；ミトグアゾン(mitoguazone)；ミトキサントロン；モピダモール(mopidamol)；ニトラクリン(nitracrine)；ペントスタチン；フェナメット(phenamet)；ピラルビシン；ラソキサントロン；ポドフィリン酸(podophyllinic acid)；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；P S K(登録商標)多糖類複合体(JHS Natural Products, Eugene, OR)；ラゾキサン(razoxane)；リゾキシン(rhizoxin)；シゾフィラン；スピロゲルマニウム(spirogermanium)；テニユアゾン酸(tenuazonic acid)；トリアジコン(triaziquone)；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン(trichothecenes)(特に、T-2トキシン、ベラキュリンA(verracurin A)、ロリデンA(rolidin A)及びアングイジン(anguidine))；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン(mannomustine)；ミトブロニトール；ミトラクトール(mitolactol)；ピボブロマン(pipobroman)；ガシトシン(gacytosine)；アラビノシド(「Ara-C」)；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えばタキソール(登録商標)パクリタキセル、(Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ)、ABRAXANE(登録商標)クレモフォール(Cremophor)を含まない、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤(American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois)及びタキソテア(登録商標)ドキセタキセル、(Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France)；クロランブシル；GEMZAR(登録商標)ゲンシタピン(gemcitabine)；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキセート；シスプラチン、オキサリプラチン及びカルボプラチンのようなプラチナアナログ；ビンブラスチン；プラチナ；エトポシド(VP-16)；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；NAVELBINE(登録商標)ビノレルピン；ノバントロン(novantrone)；テニポシド；エダトレキセート；ダウノマイシン；アミノプテリン；キセローダ(xeloda)；イバンドロネート(ibandronate)；イリノテカン(Camptosar, CPT-11)(5-FUとロイコボリンを用いたイリノテカンの治療レジメを含む)；トポイソメラーゼインヒビターRFS2000；ジフルオロメチロールニチン(DMFO)；レチノイン酸などのレチノイド類；カベシタピン(capecitabine)；コンプレタスタチン；ロイコボリン(LV)；オキサリプラチン治療レジメ(FOLFOLX)を含むオキサリプラチン；ラパチニブ(Tykerb(登録商標))；例えばPKC-、Raf、H-Ras、EGFR(例えば、エルロチニブ(タルセバ(登録商標))及び細胞増殖を低減するVEGF-A及び上述したものの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体が含まれる。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 4 】

また、この定義に含まれるものは、腫瘍に対するホルモン作用を調節し又は阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体調節物質 (S E R M) であり、例えば、タモキシフェン (N O L V A D E X (登録商標)タモキシフェンを含む)、ラロキシフェン (raloxifene)、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン (trioxifene)、ケオキシフェン (keoxifene)、L Y 1 1 7 0 1 8、オナプリストン (onapristone)、及び F A R E S T O N・トレミフェン；副腎のエストロゲン産生を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば 4 (5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE (登録商標)酢酸メゲストロール、A R O M A S I N (登録商標)エキセメスタン、フォルメスタン、ファドロゾール、R I V I S O R (登録商標)ボロゾール、F E M A R A (登録商標)レトロゾール、及び A R I M I D E X (登録商標)アナストロゾール；及び抗アンドロゲン、例えばフルタミド (flutamide)、ニルタミド (nilutamide)、ピカルタミド、ロイプロリド、及びゴセレリン；並びにトロキサシタピン (troxacitabine) (1 , 3 -ジオキソランヌクレオシドシトシンアナログ)；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常な細胞増殖に関連したシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば P K C - 、 R a l f、及び H - R a s；リボザイム、例えば V E G F 発現阻害剤 (例えば、A N Z I O Z Y M E (登録商標)リボザイム)及び H E R 2 発現阻害剤；遺伝子治療ワクチン等のワクチン、例えば A L L O V E C T I N (登録商標)ワクチン、L E U V E C T I N (登録商標)ワクチン、及び V A X I D (商品名)ワクチン；P R O L E U K I N (登録商標) r I L - 2；L U R T O T E C A N (登録商標) トポイソメラーゼ I 阻害剤；A B A R E L I X (登録商標) r m R H；及び上記のものの何れかの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体である。

【 0 0 8 5 】

「サイトカイン」なる用語は、一つの細胞集団から放出されるタンパク質であって、他の細胞に対して細胞間メディエータとして作用するものの包括的な用語である。そのようなサイトカインの例は、リンホカイン、モノカイン、及び伝統的なポリペプチドホルモンである。サイトカインに含まれるものは、成長ホルモン、例えばヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、及びウシ成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシニン；インスリン；プロインスリン；リラクシン；プロリラクシン；卵胞刺激ホルモン (F S H)、甲状腺刺激ホルモン (T S H)、及び黄体形成ホルモン (L H) のような糖タンパク質ホルモン；上皮増殖因子；肝増殖因子；線維芽細胞増殖因子；プロラクチン；胎盤ラクトゲン；腫瘍壊死因子 - 及び - ；ミューラー阻害物質；マウス性腺刺激ホルモン関連ペプチド；インヒピン；アクチピン；血管内皮増殖因子；インテグリン；トロンボポエチン (T P O)；神経成長因子、例えば N G F - ；血小板増殖因子；T G F - 及び T G F - のようなトランスフォーミング増殖因子 (T G F)；インスリン様成長因子 I 及び I I；エリスロポイエチン (E P O)；オステオインダクティブ因子；インターフェロン、例えばインターフェロン - 、 - 、 - ；コロニー刺激因子 (C S F)、例えばマクロファージ - C S F (M - C S F)；顆粒球 - マクロファージ - C S F (G M - C S F)；及び顆粒球 - C S F (G - C S F)；I L - 1、I L - 1、I L - 2、I L - 3、I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 7、I L - 8、I L - 9、I L - 1 0、I L - 1 1、I L - 1 2 のようなインターロイキン (I L)；T N F - 又は T N F - のような腫瘍壊死因子；及び L I F 及び キットリガンド (K L) を含む他のポリペプチド因子である。ここで使用される場合は、サイトカインなる用語は天然源由来あるいは組換え細胞培養由来のタンパク質及び天然配列サイトカインの生物的に活性な等価物を含む。

【 0 0 8 6 】

ここで用いられる際の「増殖阻害剤」は、細胞の増殖をインビトロ及び/又はインビボで阻害する化合物又は組成物を意味する。よって、増殖阻害剤は、S 期における細胞の割合を有意に減少させるものでありうる。増殖阻害剤の例は、細胞周期の進行を (S 期以外の位置で) 阻害する薬剤、例えば G 1 停止又は M 期停止を誘導する薬剤を含む。古典的な M 期ブロッカーは、ピンカス (ピンクリスチン及びピンブラスチン)、タキソール (登録商

10

20

30

40

50

標)、及びトポイソメラーゼⅡ阻害剤、例えばドキソルビシン、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンを含む。またG1を停止させる薬剤は、S期停止にも波及し、例えば、DNAアルキル化剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキサート、5-フルオロウラシル、及びアラ-Cである。更なる情報は、The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn 及びIsrael編, Chapter 1, 表題「Cell cycle regulation, oncogene, and antineoplastic drugs」, Murakami等, (WB Saunders: Philadelphia, 1995)、特に13頁に見出すことができる。

【0087】

この出願において使用される「プロドラッグ」なる用語は、親薬剤と比較して腫瘍細胞にそれほど細胞傷害性でなく、酵素的に活性化され得るか又はより活性な親形態に変換され得る薬学的に活性な物質の前駆体又は誘導体形態を意味する。例えば、Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986)及びStella等, "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt等(編.), pp. 247-267, Humana Press (1985)を参照のこと。本発明のプロドラッグとしては、限定しないが、ホスフェート含有プロドラッグ、チオホスフェート含有プロドラッグ、サルフェート含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、D-アミノ酸修飾プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、-ラクタム含有プロドラッグ、置換されていてもよいフェノキシアセトアミド含有プロドラッグ又は置換されていてもよいフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、より活性な細胞傷害性の遊離薬物に転換され得る5-フルオロシトシン及び他の5-フルオロウリジンプロドラッグが挙げられる。本発明において使用されるプロドラッグ形態に誘導体化され得る細胞傷害性薬物の例としては、上述の化学療法剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0088】

「放射線療法」とは、正常に機能するその能力を制限するように又は細胞と一緒に破壊するように細胞に十分な損傷を誘導する有向性の線又は線の使用を意味する。治療の用量及び継続期間を決定するためには当該分野で知られている多くの方法があることが理解される。典型的な治療は、1回の投与として与えられ、典型的な用量は、1日当たり10から200単位(グレイ)の範囲である。

【0089】

「低減又は阻害する」とは、好ましくは20%又はそれ以上、より好ましくは50%又はそれ以上、最も好ましくは75%、85%、90%、95%、又はそれ以上の全体的な減少を生じる能力を意味する。低減又は阻害は、治療されている疾患の症状、転移又は微小転移巣の存在又はサイズ、原発性腫瘍のサイズ、又は休止腫瘍のサイズ、又は血管新生疾患における血管のサイズ又は数を意味する。

【0090】

「静脈内注入」なる用語は、およそ5分以上、好ましくはおよそ30~90分の時間をかけて動物又はヒト患者の静脈への薬剤の導入を意味するものであるが、本発明では静脈内注入があるいは10時間未満かけて投与されることもある。

「静脈内ボーラス」又は「静脈内圧力(intravenous push)」なる用語は、動物又はヒトの静脈に薬剤を投与して、およそ15分以下、好ましくは5分以下に身体が薬剤を受け入れることを意味する。

【0091】

「皮下投与」なる用語は、比較的ゆっくりと、薬剤容器からの送達が維持されることによって、動物又はヒト患者の皮膚の下に、好ましくは皮膚及び皮下組織の間のポケット内に薬剤を投入することを意味する。ポケットは、皮膚を上につまむか又は引き上げ、皮下組織から離すことによりつくり出されうる。

【0092】

「皮下注入」なる用語は、動物又はヒト患者の皮下、好ましくは皮膚と皮下組織の間の

10

20

30

40

50

嚢内に、限定するものではないが30分以下ないし90分以下の時間をかけて、薬剤貯蔵物から相対的にゆっくりと、持続的に運搬されることによる薬剤の導入を意味する。場合によって、動物又はヒト患者の皮下にインプラントされる薬剤運搬ポンプを皮下移植することによって注入されてもよく、この場合のポンプは予め決まった量の薬剤を30分、90分又は治療レジメンの長さにあたる治療期間などの予め決まった期間の間運搬するものである。

【0093】

「皮下ポラス」なる用語は、動物又はヒト患者の皮下への薬剤の投与であって、ポラス薬剤運搬(ドラッグデリバリー)は好ましくはおよそ15分未満、より好ましくは5分未満、最も好ましくは60秒未満である。好ましくは、投与は皮膚と皮下組織の間の嚢内であり、その嚢は例えば皮膚をつまんだり引き上げたりして皮下組織を除去することによって作ったものである。

10

【0094】

「疾患」とは、抗体での治療が有益である任意の症状である。これには、慢性及び急性の疾患、又は対象疾患に哺乳動物がかかりやすい病的状態を含む疾病が含まれる。ここで治療される疾患の非限定的例には、癌；良性及び悪性腫瘍；白血病及びリンパ系悪性腫瘍；神経細胞、膠細胞、アストロサイト、視床下部及び他の腺性、マクロファージ、上皮、間質及び胚腔疾患；及び炎症性、血管新生及び免疫疾患が含まれる。

【0095】

「治療の有効量」という用語は、哺乳類の疾病や疾患を治療するために有効な薬剤の量を意味する。癌の場合は、治療の有効量の薬剤は、癌細胞の数を減少させ；腫瘍の大きさを小さくし；癌細胞の周辺器官への浸潤を阻害(すなわち、ある程度に遅く、好ましくは止める)し；腫瘍の転移を阻害(すなわち、ある程度に遅く、好ましくは止める)し；腫瘍の増殖をある程度阻害し；及び/又は疾患に付随する一又は複数の症状をある程度和らげることが可能である。ある程度、薬剤が増殖を妨げ及び/又は既存の癌細胞を殺しうる程度で、それは細胞分裂停止性及び/又は細胞傷害性である。癌治療の場合、インビボでの効力は、例えば、生存期間、無増悪生存期間(PFS)、無増悪生存の延長(PFS)、奏効率(RR)、奏効期間、及び/又は生活の質を評価することによ、り測定されうる。

20

【0096】

「治療」とは、既に疾患を有するものを含む、治療が必要なものに対する治療的処置を指す。

30

【0097】

「予防治療」とは、それにより疾患が防止されるものを指す。

【0098】

ここで使用される「標識」なる語句は、ポリペプチドに直接又は間接的にコンジュゲートされる検出可能な化合物又は組成物を意味する。標識は、それ自体検出可能(例えば、放射性同位体標識又は蛍光標識)であっても、あるいは酵素標識の場合には、検出可能な基質化合物又は組成物の化学変換を触媒してもよい。

【0099】

40

II. 抗VEGF抗体及びアンタゴニスト

卵巣癌を治療するための抗VEGF抗体の使用がここに提供される。血管新生は、固形腫瘍の浸潤及び転移を導く主要なプロセスの一つである。血管新生シグナル伝達経路は、腫瘍細胞から局所微小環境への、血管内皮増殖因子(VEGF)などの血管新生プロモーターの放出によりトリガされうる。血管新生が卵巣癌疾患の予後及びあるいは進行及び予後において役割を果たすことの累積証拠がある。例えば、Yoneda J, et al., Expression of angiogenesis-related genes and progression of human ovarian carcinomas in nude mice. J Natl Cancer Inst 90:447-54, 1998; Nakanishi Y, et al. The expression of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta associates with angiogenesis in epithelial ovarian cancer. Int J Gynecol Pathol 16:256

50

-62, 1997; Gasparini G, et al. Prognostic and predictive value of tumour angiogenesis in ovarian carcinomas. *Int J Cancer* 69:205-11, 1996; Hollingsworth HC, et al.,. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *Am J Pathol* 147:33-41, 1995; Paley PJ, et al. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer* 80:98-106, 1997; Alvarez AA, et al., The prognostic significance of angiogenesis in epithelial ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 5:587-91, 1999; Gasparini G. The rationale and future potential of angiogenesis inhibitors in neoplasia. *Drugs* 58:17-38, 1999; van Hinsbergh VW, et al.,. Angiogenesis and anti-angiogenesis: perspectives for the treatment of solid tumors. *Ann Oncol* 10 Suppl 4:60-3, 1999; Malonne H, et al.,. Mechanisms of tumor angiogenesis and therapeutic implications: angiogenesis inhibitors. *Clin Exp Metastasis* 17:1-14, 1999; Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 285:1182-6, 1971; Kim KJ, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 362:841-4, 1993; and, Luo JC, et al., Differential inhibition of fluid accumulation and tumor growth in two mouse ascites tumors by an anti vascular endothelial growth factor/permeability factor neutralizing antibody. *Cancer Res* 58:2594-600, 1998を参照のこと。

【 0 1 0 0 】

(i) V E G F 抗原

抗体の産生に使用される V E G F 抗原は例えば V E G F₁₆₅ 分子並びに V E G F の他のアイソフォーム又は所望のエピトープを含むその断片でありうる。本発明の抗 V E G F 抗体を産生するために有用な V E G F の他の形態は当業者には明らかであろう。

【 0 1 0 1 】

ヒト V E G F はハイブリダイゼーションプローブとしてウシ V E G F c D N A を使用して、ヒト細胞から調製された c D N A ライブラリーを最初にスクリーニングすることによって得られた。Leung等 (1989) *Science*, 246:1306。それによって同定された c D N A の一つはウシ V E G F に対して 95% を越える相同性を有する 165 アミノ酸のタンパク質をコードしている； この 165 アミノ酸のタンパク質は典型的にはヒト V E G F (h V E G F) 又は V E G F₁₆₅ と呼ばれる。ヒト V E G F の分裂促進活性は、哺乳動物宿主細胞中でヒト V E G F c D N A を発現させることによって確認された。ヒト V E G F c D N A が形質移入された細胞によって条件化された培地は毛細血管内皮細胞の増殖を促進する一方、コントロール細胞は促進しなかった。上掲の Leung等 (1989) *Science*。

【 0 1 0 2 】

血管内皮細胞増殖因子は引き続き治療用途のために天然源から単離・精製できるが、濾胞細胞中での比較的低い濃度と、労力と費用の双方の面での V E G F の回収の高いコストのため商業的には利用できないことが分かった。従って、組換え D N A 技術によって V E G F をクローニングし発現させるために更なる努力がなされている。(例えば Ferrara (1995) *Laboratory Investigation* 72:615-618 (1995)、及びそこに引用された文献を参照のこと)。

【 0 1 0 3 】

V E G F は選択的 R N A スプライシングから生じる複数のホモ二量体型 (単量体当たり 121、145、165、189 及び 206 個のアミノ酸) として様々な組織中に発現される。V E G F₁₂₁ はヘパリンに結合しない可溶性マイトジェンである； V E G F のより長い型は漸次的により高い親和性でヘパリンに結合する。V E G F のヘパリン結合型はプラスミンによってカルボキシ末端を切断して V E G F の拡散性形態を放出することができる。プラスミンでの切断後に同定されるカルボキシ末端ペプチドのアミノ酸配列決定は A r g₁₁₀ - A l a₁₁₁ である。ホモ二量体として同定された V E G F (1 - 110) のアミノ末端「コア」タンパク質は、中和モノクローナル抗体 (例えば 4.6.1 及び 3.2.E3.1.1 と呼ばれる抗体) と、インタクトな V E G F₁₆₅ ホモ二量体と比較して

同様の親和性を持つ V E G F レセプターの可溶型に結合する。

【 0 1 0 4 】

胎盤増殖因子 (P I G F)、V E G F - B、V E G F - C、V E G F - D 及び V E G F - E を含む、V E G F と構造的に関連する幾つかの分子がまた同定されている。上掲の Ferrara 及び Davis-Smyth (1987) Endocr. Rev. ; Ogawa 等 J. Biological Chem. 273:31273-31281 (1998) ; Meyer 等 EMBO J., 18:363-374 (1999)。レセプターチロシンキナーゼ F l t - 4 (V E G F R - 3) は V E G F - C 及び V E G F - D のレセプターとして同定された。Joukov 等 EMBO. J. 15:1751 (1996) ; Lee 等 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:1988-1992 (1996) ; Achen 等 (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:548-553。V E G F - C はリンパ性血管新生の調節に関与していることが最近示されている。Jeltsch 等 Science 276:1423-1425 (1997)。

10

【 0 1 0 5 】

(i i) 抗 V E G F 抗体

卵巣癌を治療するための本発明の方法において有用である抗 V E G F 抗体は、V E G F に十分な親和性と特異性をもって結合し、V E G F の生物学的活性を低減させ又は阻害することができる任意の抗体、又はその抗原結合断片を含む。抗 V E G F 抗体は通常は他の V E G F ホモログ、例えば V E G F - B 又は V E G F - C に結合せず、P l G F、P D G F、又は b F G F のような他の増殖因子にも結合しない。

【 0 1 0 6 】

本発明のある実施態様では、抗 V E G F 抗体は、限定しないが、ハイブリドーマ A T C C H B 1 0 7 0 9 により産生されるモノクローナル抗 V E G F 抗体 A 4 . 6 . 1 と同じエピトープに結合するモノクローナル抗体 ; Presta 等 (1997) Cancer Res. 57:4593-4599 に従って産生された組換えヒト化抗 V E G F モノクローナル抗体が含まれる。一実施態様では、抗 V E G F 抗体は、「r h u M A b V E G F」又は「アバスチン(登録商標)」としても知られている「ベバシズマブ(B V)」である。アバスチン(登録商標)は特定の国で市販されている。それは、そのレセプターへのヒト V E G F の結合をブロックするマウス抗 h V E G F モノクローナル抗体 A . 4 . 6 . 1 からの、抗原結合相補性決定領域及び変異したヒト I g G 1 フレームワーク領域を含む。フレームワーク領域の殆どを含む、ベバシズマブのアミノ酸配列のおよそ 9 3 % が、ヒト I g G 1 から誘導され、配列の約 7 % がマウス抗体 A 4 . 6 . 1 から誘導される。

20

30

【 0 1 0 7 】

ベバシズマブ及び他のヒト化抗 V E G F 抗体は、2 0 0 5 年 2 月 2 6 日に発行された米国特許第 6 8 8 4 8 7 9 号に更に記載されている。更なる抗体は、これらの特許出願の内容が出典明示によりここに明示的に援用される P C T 公開番号 W O 2 0 0 5 / 0 1 2 3 5 9 号、P C T 公開番号 W O 2 0 0 5 / 0 4 4 8 5 3 号、及び米国特許出願第 6 0 / 9 9 1 3 0 2 号に記載されたような、G 6 又は B 2 0 シリーズ抗体 (例えば、G 6 - 3 1、B 2 0 - 4 . 1) が含まれる。更なる抗体については、米国特許第 7 0 6 0 2 6 9 号、同 6 5 8 2 9 5 9 号、同 6 7 0 3 0 2 0 号 ; 同 6 0 5 4 2 9 7 号 ; 国際公開第 9 8 / 4 5 3 3 2 号 ; 国際公開第 9 6 / 3 0 0 4 6 号 ; 国際公開第 9 4 / 1 0 2 0 2 号 ; 欧州特許第 0 6 6 6 8 6 8 B 1 号 ; 米国特許出願公開第 2 0 0 6 0 0 9 3 6 0 号、同 2 0 0 5 0 1 8 6 2 0 8 号、同 2 0 0 3 0 2 0 6 8 9 9 号、同 2 0 0 3 0 1 9 0 3 1 7 号、同 2 0 0 3 0 2 0 3 4 0 9 号、及び同 2 0 0 5 0 1 1 2 1 2 6 号 ; 及び Popkov 等, Journal of Immunological Methods 288:149-164 (2004) を参照のこと。他の抗体は、残基 F 1 7、M 1 8、D 1 9、Y 2 1、Y 2 5、Q 8 9、I 9 1、K 1 0 1、E 1 0 3、及び C 1 0 4 を含むか、又は残基 F 1 7、Y 2 1、Q 2 2、Y 2 5、D 6 3、I 8 3 及び Q 8 9 を含む、ヒト V E G F 上の機能的エピトープに結合するものを含む。

40

【 0 1 0 8 】

本発明の一実施態様では、抗 V E G F 抗体は、次のアミノ酸配列 :

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T N Y G M N W V R
Q A P G K G L E W V G W

50

INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLR
AED TAVYYCAKYP

HYYGSSHWYF DVWGQGT LVT VSS (配列番号1)

を含む重鎖可変領域と、次のアミノ酸配列:

DIQMTQSPSS LSASVGDRTVITCSASQDIS NYLNWYQQ
KP GKAPKVL IYF

TSSLHSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYC
QQ YSTVPWTFGQ

GTKVEIKR (配列番号2)

を含む軽鎖可変領域とを有する。

10

【0109】

この発明の「G6シリーズ抗体」は、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/012359の、図7、24-26、及び34-35の何れか一つのG6抗体又はG6-誘導抗体の配列から誘導された抗VEGF抗体である。更に、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/044853を参照。一実施態様では、G6シリーズ抗体は、残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、I83及びQ89を含むヒトVEGF上の機能的エピトープに結合する。

【0110】

この発明の「B20シリーズ抗体」は、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/012359の、図27-29の何れか一つのB20抗体又はB20誘導抗体の配列から誘導された抗VEGF抗体である。更に、その全開示が出典明示によりここに明示的に援用されるPCT出願WO2005/044853及び米国特許出願第60/991302号を参照。一実施態様では、B20シリーズ抗体は、残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、I91、K101、E103、及びC104を含むヒトVEGF上の機能的エピトープに結合する。

20

【0111】

この発明の「機能的エピトープ」は、抗体の結合性にエネルギー的に寄与する抗原のアミノ酸残基を意味する。抗原のエネルギー的に寄与する残基の任意の一つが変異することにより(例えば、アラニンによる野生型VEGFの変異又はホモログ変異)、抗体の相対的親和性比(IC50変異VEGF/IC50野生型VEGF)が5より大となるように、抗体の結合性が乱れるであろう(国際公開第2005/012359号の実施例2を参照)。一実施態様では、相対的親和性比は、溶液結合性ファージディスプレイELISAにより測定される。簡潔に述べると、96-ウェルMaxisorp免疫プレート(NUNC)を、4で一晩、抗体のFab型で被覆し、PBS中2ug/mlの濃度で試験し、室温で2時間、PBS、0.5%のBSA、及び0.05%のトウイン20(PBT)でブロックする。PBTにおいて、ファージディスプレイhVEGFアラニン点変異(残基8-109型)又は野生型hVEGF(8-109)の連続希釈物を、室温で15分、Fab-コーティングされたプレート上で最初にインキュベートし、プレートをPBS、0.05%のトウイン20(PBST)で洗浄する。結合したファージを、PBTにおいて1:5000に希釈された抗M13モノクローナル抗体西洋ワサビペルオキシダーゼ(Amersham Pharmacia)コンジュゲートで検出し、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB, Kirkegaard & Perry Labs, Gaithersburg, MD)基質で、約5分発現させ、1.0MのH3PO4でクエンチし、450nmで分光光度的に読み取る。IC50値の比率(IC50, a1a/IC50, wt)は、結合親和性における低減倍数(相対的結合親和性)を表す。

30

40

【0112】

(iii) VEGF受容体分子

Flt-1(VEGFR-1とも呼ぶ)とKDR(VEGFR-2とも呼ぶ)の二つのVEGFレセプターが同定されている。Shibuya等(1990) Oncogene 8:519-527; de Vries等(1992) Science 255:989-991; Terman等(1992) Biochem. Biophys. Res. Commun. 187:15

50

79-1586。ニューロピリン-1はヘパリン結合VEGFアイソフォームに結合可能な選択的VEGFレセプターであることが示されている(Soker等(1998) Cell 92:735-45)。Flt-1及びKDRは両方ともレセプターチロシンキナーゼ(RTKs)のファミリーに属している。RTKsは多様な生物学的活性を持つ膜貫通レセプターの大きなファミリーを含んでなる。少なくとも19の区別できるRTKサブファミリーが同定されている。レセプターチロシンキナーゼ(RTK)ファミリーには、様々な細胞型の増殖と分化に重要なレセプターが含まれる(Yarden及びUllrich(1988), Ann. Rev. Biochem. 57:433-478; Ullrich及びSchlessinger(1990), Cell 61:243-254)。RTKsの本来の機能はリガンド結合の際に活性化され、レセプター及び複数の細胞基質のリン酸化を生じ、続いて様々な細胞応答を生じる(Ullrich及びSchlessinger(1990) Cell 61:203-212)。よって、レセプターチロシンキナーゼ媒介シグナル伝達が、特異的増殖因子(リガンド)との細胞外相互作用によって開始され、それに典型的にはレセプターの二量体化、本来的なプロテインチロシンキナーゼ活性の刺激及びレセプタートランス-リン酸化が続く。それによって結合部位が細胞内シグナル伝達分子のために作り出され、適切な細胞応答を容易にするある範囲の細胞質シグナル伝達分子と複合体を形成する。(例えば細胞分裂、分化、代謝効果、細胞外微小環境の変化)Schlessinger及びUllrich(1992) Neuron 9:1-20を参照。構造的には、Flt-1とKDRの両方共、細胞外ドメインに7の免疫グロブリン様ドメイン、単一の膜貫通領域、及びキナーゼインサートドメインによって中断されているコンセンサスチロシンキナーゼ配列を有している。Matthews等(1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:9026-9030; Terman等(1991) Oncogene 6:1677-1683。

【0113】

VEGFに特異的に結合するVEGFレセプター分子又はその断片を、VEGFタンパク質に結合して封鎖させ、よってシグナル伝達を防止させるために、本発明の方法において使用することができる。ある実施態様では、VEGFレセプター分子、又はVEGF結合断片は可溶性形態、例えばsFlt-1である。可溶性形態のレセプターは、VEGFに結合することによりVEGFタンパク質の生物活性に阻害効果を及ぼし、よって、標的細胞の表面に存在するその天然レセプターへの結合が防止される。また、その実施例が以下に記載されるVEGFレセプター融合タンパク質が含まれる。

【0114】

キメラVEGFレセプタータンパク質は、少なくとも2の異なるタンパク質から誘導されたアミノ酸配列を有するレセプター分子であり、その少なくとも一は、VEGFに結合し、その生物活性を阻害可能なVEGFレセプタータンパク質(例えば、Flt-1又はKDRレセプター)である。ある実施態様では、本発明のキメラVEGFレセプタータンパク質は、2のみの異なるVEGFレセプタータンパク質から誘導されたアミノ酸配列からなる;しかしながら、Flt-1及び/又はKDRレセプターの細胞外リガンド結合領域からの、1、2、3、4、5、6又は7つ全てのIg様ドメインを含むアミノ酸配列は、他の関連しないタンパク質、例えば免疫グロブリン配列からのアミノ酸配列に結合可能である。Ig様ドメインが組合せられた他のアミノ酸配列は、当業者には容易に明らかであろう。キメラVEGFレセプタータンパク質の例には、例えば可溶性Flt-1/Fc、KDR/Fc、又はFlt-1/KDR/Fc(VEGFトラップとしても知られている)が含まれる。(例えば、PCT出願第97/44453号を参照)。

【0115】

本発明の可溶性VEGFレセプタータンパク質又はキメラVEGFレセプタータンパク質には、膜貫通ドメインを介して細胞表面に固定されないVEGFレセプターが含まれる。しかして、キメラレセプタータンパク質を含むが、VEGFに結合して不活性にする、可溶性型のVEGFレセプターは膜貫通ドメインを含まず、よって一般的に、分子が発現される細胞の細胞膜に結合しない。

【0116】

III. 抗VEGF抗体の治療使用

本発明は、腫瘍増殖を支援するための栄養を提供するのに必要とされる腫瘍血管の発生

を阻害することを目標とする新規な癌治療方策である抗血管新生治療法を包含する。血管新生は原発性腫瘍増殖及び転移の双方に関連しているので、本発明によって提供される抗血管新生治療法は、原発部位における腫瘍の新生物増殖を阻害することができ、また続発性部位における腫瘍の転移を防止でき、よって他の治療剤による腫瘍の攻撃を可能にする。更に、卵巣癌は、高濃度の循環血管内皮増殖因子（VEGF）、腫瘍増殖及び広がりに関連するタンパク質、に関連する。卵巣癌を有する女性の研究は、抗濃度のVEGFと予後不良との関連を示した(Alvarez A et al. 1999 Clin Cancer Res.; 5:587-591; Yamamoto S et al. 1997 Br J Cancer; 76:1221-1227)。

【0117】

具体的に、一実施態様では、本発明は、診断された（場合によっては、新たに診断された）、過去に未治療の卵巣癌を治療する方法であって、抗VEGF維持治療が続く、少なくとも化学療法を有効量の抗VEGF抗体の投与と併用して組み合わせる治療レジメンを患者に受けさせることを含んでなる方法を提供する。本発明のある実施態様では、患者は、ステージIII（準最適及び肉眼で最適にデバルキング）又はステージIVの上皮性卵巣、原発腹膜又は卵管癌を有する。他の実施態様では、患者は、ステージI及びIIa（グレード3又は明細胞のみ）又はステージIIb - IVの上皮性卵巣癌、卵管癌又は原発腹膜癌を有する。別の実施態様では、発明は、再発性又は既治療の卵巣癌と診断された患者を治療する方法であって、抗VEGF維持治療が続く、少なくとも化学療法を有効量の抗VEGF抗体の投与と併用して組み合わせる治療レジメンを患者に受けさせることを含んでなる方法を提供する。

【0118】

併用療法

本発明は、抗VEGF維持治療が続く、一又は複数の更なる抗癌療法との少なくとも一種のVEGF特異的アンタゴニストの組み合わせの使用を特徴とする。抗癌療法の例は、限定しないが、外科手術、放射線療法（照射療法）、バイオセラピー、免疫療法、化学療法、又はこれらの療法の組み合わせを含む。また、細胞傷害剤及び抗増殖剤を、VEGF特異的アンタゴニストと組み合わせ使用することができる。

【0119】

ある態様では、発明は、過去に未治療の卵巣癌又は再発性卵巣癌に感受性であるか又はそのように診断された患者に、有効量の抗VEGF抗体及び一又は複数の化学療法剤を投与することによって、卵巣癌を治療する方法を提供する。様々な化学療法剤を本発明の併用療法において使用することができる。考えられる化学療法剤の例示的及び非限定的リストは、「定義」の項でここに提供され、又はここに記載される。

【0120】

一例では、本発明は、一又は複数の化学療法剤（例えばカクテル）又はその任意の組み合わせを伴うVEGF特異的アンタゴニストの使用を特徴とする。ある実施態様では、化学療法剤は、例えば、タキサン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子（例えば、アブラキサン（登録商標））、白金アナログ、カルボプラチン、ゲムシタビン、又はその組合せ治療法である。一実施態様では、化学療法剤はカルボプラチン及びパクリタキセル又はドセタキセルである。別の実施態様では、化学療法剤はカルボプラチン及びゲムシタビンである。併用投与は、別個の製剤又は単一の薬学的製剤を使用する同時投与、及び双方（又は全ての）活性薬剤がその生物学的活性を同時に作用させる時間が好ましくは存在する何れかの順での連続投与、後に続く図1、図2、又は図8又は図11に概要するようなVEGF特異的アンタゴニストを用いた維持治療を含む。かかる化学療法剤に対する調製及び投薬計画は、製造者の指示書に従って又は熟練した医師が経験的に決定したようにして使用されうる。化学療法のための調製及び投薬計画はまたChemotherapy Service Ed., M. C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (1992)に記載されている。化学療法剤はVEGF特異的アンタゴニストの投与より前か又は後に続き、あるいはそれと同時に投与されうる。本発明のある実施態様では、投与のスケジュール及び量は図1、図2、又は図8又は図11に示す通りである。

【 0 1 2 1 】

何れかの所定の他の態様では、本発明の抗体を用いた併用腫瘍療法に有用な他の治療剤は、腫瘍増殖に関与する他の因子、例えばEGFR、ErbB2（Her2としても知られている）、ErbB3、ErbB4、又はTNFのアンタゴニストを含む。しばしば、一又は複数のサイトカインを患者に投与することもまた有益な場合がある。一実施態様では、VEGF 抗体は増殖阻害剤と同時投与される。例えば、増殖阻害剤が最初に投与され、続いてVEGF 抗体が投与されうる。しかしながら、同時投与又はVEGF 抗体の最初の投与もまた考えられる。増殖阻害剤に対する適した用量は、現在使用されているものであり、増殖阻害剤と抗VEGF 抗体の併用作用（相乗作用）のために低下させうる。

【 0 1 2 2 】

ここでの製剤はまた治療される特定の適応症に必要な一を越える活性化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものを含みうる。例えば、一製剤中に、EGFR、VEGF（例えばVEGFの異なったエピトープに結合する抗体）、VEGF R、又はErbB2（例えば、ハーセプチン（登録商標））に結合する抗体、又はがん適応症に使用される別の抗体を更に提供することが望ましい場合がある。あるいは、又は加えて、組成物は細胞傷害剤、サイトカイン、増殖阻害剤及び/又は小分子VEGFRアンタゴニストを含みうる。そのような分子は、好適には、意図される目的に対して効果的である量で併用されて存在する。ある実施態様では、VEGFアンタゴニスト（例えば抗VEGF 抗体）が卵巣癌のための治療である。ある実施態様では、VEGFアンタゴニスト（例えば抗VEGF 抗体）はカルボプラチン及びパクリタキセルと組み合わせられ、その後、抗VEG維持治療が続く。ある実施態様では、VEGアンタゴニスト（例えば抗VEGF 抗体）はシスプラチン及びパクリタキセルと組み合わせられ、その後、抗VEG維持治療が続く。ある実施態様では、VEGアンタゴニスト（例えば抗VEGF 抗体）はカルボプラチン及びドセタキセルと組み合わせられ、その後、抗VEG維持治療が続く。ある実施態様では、VEGアンタゴニスト（例えば抗VEGF 抗体）はカルボプラチン及びゲムシタピンと組み合わせられ、その後、抗VEG維持治療が続く。

【 0 1 2 3 】

ある態様では、本発明の抗体との併用癌療法に有用な他の治療剤は他の抗血管新生剤を含む。Carmeliet及びJain(2000)によって列挙されたものを含む多くの抗血管新生剤が同定されており、当該分野で知られている。一実施態様では、本発明の抗VEGF 抗体は、他のVEGFアンタゴニスト又はVEGFレセプターアンタゴニスト、例えばVEGF変異体、可溶性VEGFレセプター断片、VEGF又はVEGFRをブロックすることができるアプタマー、中和抗VEGFR抗体、VEGFRチロシンキナーゼの低分子量インヒビター及びその任意の組み合わせと組み合わせて使用される。あるいは、又は加えて、2以上の抗VEGF 抗体を患者に同時投与してもよい。

【 0 1 2 4 】

疾患の予防又は治療では、VEGF特異的アンタゴニストの適切な投薬量は、上述のように、治療される疾患のタイプ、疾患の重篤度及び過程、VEGF特異的アンタゴニストが予防目的か又は治療目的で投与されるかどうか、過去の療法、患者の臨床履歴及びVEGF特異的アンタゴニストに対する応答、及び主治医の裁量に依存する。VEGF特異的アンタゴニストは一度に又は一連の治療にわたって患者に適切に投与される。併用療法レジメンでは、本発明のVEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の抗癌治療剤は、治療的に有効な又は相乗的な量で投与される。ここで使用される場合、治療的に有効な量は、VEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の他の治療剤の同時投与、又は本発明の組成物の投与が、上述の癌の低減又は阻害を生じるようなものである。治療的に相乗的な量は、特定の疾患に関連する症状又は徴候を相乗的に又は有意に低減又は除去するのに、又は無進行生存を増加するのに必要なVEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の他の治療剤の量である。

【 0 1 2 5 】

VEGF特異的アンタゴニスト及び一又は複数の他の治療剤は、腫瘍、休止腫瘍、又は

10

20

30

40

50

微小転移巣の発生又は再発を低減させ又は除去するのに十分な量と時間、同時に又は連続して投与されうる。VEGF特異的アンタゴニストは、腫瘍の再発を防止し又はその可能性を低減するために、又は患者の無進行生存を増加するために維持療法として投与されうる。

【0126】

当業者によって理解されるように、化学療法剤又は他の抗癌剤の適切な用量は、例えば化学療法剤が単独で又は他の化学療法剤との併用で投与される場合のように、臨床治療において既に用いられているものと略同量である。投薬量における変動は治療される症状に応じて生じる可能性がある。治療を管理する医師が個々の被験者に対して適した用量を決定することができるであろう。

10

【0127】

上記治療計画に加えて、患者に放射線療法を施すことができる。

【0128】

ある実施態様では、投与されるVEGF抗体はインタクトなネイキッド抗体である。しかしながら、VEGF抗体に細胞傷害剤をコンジュゲートさせてもよい。ある実施態様では、コンジュゲート抗体及び/又はそれが結合する抗原は、細胞に内部移行し、それが結合する癌細胞の死滅化におけるコンジュゲートの治療効果を増加させる。一実施態様では、細胞傷害剤は癌細胞中の核酸を標的とし又はそれを妨害する。そのような細胞傷害剤の例は、メイタンシノイド、カリケアマイシン、リボヌクレアーゼ及びDNAエンドヌクレアーゼを含む。

20

【0129】

本発明は、無増悪生存期間を増加させ、被験者の癌再発のリスクを低減し又は被験者の生存の可能性を増加させるように抗VEGF抗体での治療を受けさせる指示を提供することによる、卵巢癌のヒト被験者に指示する方法をまた特徴とする。幾つかの実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤での治療、その後の抗VEGF維持治療を受けさせる指示を提供することを更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、2種以上の化学療法剤での治療、その後の抗VEGF維持治療を受けさせる指示を提供することを更に含む。抗VEGF抗体での治療は、化学療法剤での治療と同時でありうる。ある実施態様では、被験者は、指示方法によって指示されるように治療される。化学療法を伴うか伴わない抗VEGF抗体の投与による卵巢癌の治療は、癌再発又は死亡まで継続されうる。本発明のある実施態様では、患者は化学療法剤（一又は複数）での併用治療後、少なくとも16サイクルの抗VEGF治療で処置される。本発明の他の実施態様では、患者は化学療法剤（一又は複数）での併用治療後、少なくとも12サイクルの抗VEGF治療で処置される。

30

【0130】

本発明は、ヒト被験者における卵巢癌の治療のために抗VEGF抗体の投与を促進することを含むプロモーション方法を更に提供する。幾つかの実施態様では、方法は、少なくとも一種の化学療法剤の投与、その後の抗VEGF維持治療を促進することを更に含む。幾つかの実施態様では、方法は、2種以上の化学療法剤の投与、その後の抗VEGF維持治療を促進することを更に含む。抗VEGF抗体の投与は、化学療法剤（一又は複数）の投与と同時でありうる。促進は利用できる任意の手段により実施されうる。幾つかの実施態様では、プロモーションは、抗VEGF抗体の市販製剤に伴うパッケージ挿入物による。プロモーションは、また化学療法剤（一又は複数）の市販製剤に伴うパッケージ挿入物による。プロモーションは医師又は医療提供者への文書又は口頭による伝達によりうる。幾つかの実施態様では、プロモーションはパッケージ挿入物により、パッケージ挿入物が、抗VEGF抗体での卵巢癌治療を受けるための指示を提供する。更なる実施態様では、パッケージ挿入物は、実施例1又は実施例2又は実施例3の結果の幾つか又は全てを含む。幾つかの実施態様では、プロモーションには、化学療法剤（一又は複数）を伴うか又は伴わない抗VEGF抗体での被験者の治療が続く。

40

【0131】

50

本発明は、被験者の無増悪生存期間を増加させ、癌再発の被験者のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるようにヒト被験者における卵巣癌の治療のために抗 V E G F 抗体をマーケティングすることを含むビジネス方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、抗 V E G F 維持治療が続く、抗 V E G F 抗体と組み合わせた使用のための化学療法剤をマーケティングすることを更に含む。幾つかの実施態様では、マーケティングは、化学療法剤の有無での抗 V E G F 抗体による被験体の治療、その後の抗 V E G F 維持治療が続く。幾つかの実施態様では、方法は、抗 V E G F 維持治療が続く、抗 V E G F 抗体と組み合わせた使用のための 2 つ以上の化学療法剤をマーケティングすることを更に含む。幾つかの実施態様では、マーケティングは、化学療法剤の有無での抗 V E G F 抗体での被験者の治療、その後の抗 V E G F 維持治療が続く。

10

【 0 1 3 2 】

また提供されるのは、被験者の無増悪生存期間を増加させ、被験者の癌再発のリスクを減少させ、又は被験者の生存の可能性を増加させるようにヒト被験者における卵巣癌の治療のために抗 V E G F 抗体との併用で化学療法剤をマーケティングすることを含むビジネス方法である。幾つかの実施態様では、マーケティングは、抗 V E G F 維持治療が続く、化学療法剤と抗 V E G F 抗体の組合せによる被験者の治療が続く。また、被験体の無進行生存の時間を増加するため、被験体の癌再発の可能性を低減するため、又は被験体の生存の可能性を増加するために、ヒト被験体における卵巣癌の治療に対し、抗 V E G F 維持治療が続く、抗 V E G F 抗体との組合せにおける 2 つ以上の化学療法剤をマーケティングすることを含んでなるビジネス方法も提供される。幾つかの実施態様では、マーケティングは、抗 V E G F が続く、化学療法剤及び抗 V E G F 抗体の組合せによる被験体の治療が続く。

20

【 0 1 3 3 】

I V . 投薬量及び期間

V E G F 特異的アンタゴニスト組成物は、良好な医療実務に合致した形で製剤化され、用量決定され、投与される。この点で考慮される要因には、治療されている特定の疾患、治療されている特定の被験者、個々の患者の臨床状態、疾患の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与スケジュール、及び医療実務家に既知の他の要因が含まれる。投与される V E G F 特異的アンタゴニストの「治療的に効果的な量」はこのような考慮によって支配され、癌を予防し、寛解し、又は治療し、又は安定化させ；進行までの時間（無増悪生存期間）を増加させ又は腫瘍、休止腫瘍、又は微小転移巣の発生又は再発を治療し又は予防するのに必要な最小量である。V E G F 特異的アンタゴニストは、必要ではないが、場合によっては、癌を予防又は治療し、又は癌の発症のリスクを低減するために現在使用されている一又は複数の薬剤と共に製剤される。そのような他の薬剤の有効量は製剤中に存在する V E G F 特異的アンタゴニストの量、疾患又は治療のタイプ、及び上で検討した他の要因に依存する。これらは一般に上述のものと同じ用量及び投与経路で、あるいはこれまで用いられた用量の約 1 から 99 % で使用される。

30

【 0 1 3 4 】

疾患の種類及び重症度に応じて、例えば一又は複数の別個の投与又は連続注入の何れであれ、約 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ から $100 \text{mg} / \text{kg}$ (例えば $0.1 - 20 \text{mg} / \text{kg}$) の V E G F 特異的アンタゴニストが患者への最初の候補投与量である。上述した因子に応じて、典型的な一日の投与量は約 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$ から約 $100 \text{mg} / \text{kg}$ あるいはそれ以上の範囲であるかもしれない。特に望ましい投薬量は、例えば、 $5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $7.5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $10 \text{mg} / \text{kg}$ 、及び $15 \text{mg} / \text{kg}$ を含む。数日間又はそれ以上の繰り返し投与の場合、状態によっては、上述の又は当該分野で知られている方法によって測定して、癌が治療されるまで治療が維持される。しかしながら、他の投与計画が有用でありうる。一例では、V E G F 特異的アンタゴニストが抗体である場合、発明の抗体は、毎週一回、2 週毎、又は 3 週毎に、限定しないが、 $5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $7.5 \text{mg} / \text{kg}$ 、 $10 \text{mg} / \text{kg}$ 又は $15 \text{mg} / \text{kg}$ を含む約 $5 \text{mg} / \text{kg}$ から約 $15 \text{mg} / \text{kg}$ の範囲の用量で投与される。本発明の治療の経過は、常套的な技術及びアッセイによって、容易にモニターされる。他の実

40

50

施態様では、そのような投薬レジメンは、維持治療が続く、過去に未治療の卵巣癌を治療するためのファーストライン治療として、化学療法レジメン（限定するものではないが、一又は複数の化学療法剤を含む）と組み合わせて使用される。他の実施態様では、そのような投薬レジメンは、維持治療が続く、再発性卵巣癌を治療するためのセカンドライン治療として、化学療法レジメン（限定するものではないが、一又は複数の化学療法剤を含む）と組み合わせて使用される。適切な投薬量についての更なる情報は以下の実施例に提供される。

【 0 1 3 5 】

治療期間は、医療的に示されている限り、又は所望の治療効果（例えばここに記載のもの）が達成されるまで、継続される。ある実施態様では、V E G F 特異的アンタゴニスト療法は、1ヶ月、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、10ヶ月、1年、2年、3年、4年、5年、又は被験者の寿命までの何年かの期間、継続される。ある実施態様では、抗V E G F 治療は、化学療法剤との併用抗V E G F 治療後、少なくとも16サイクル継続される。他の実施態様では、抗V E G F 治療は、化学療法剤との併用抗V E G F 治療後、少なくとも12サイクル継続される。

【 0 1 3 6 】

本発明のV E G F 特異的アンタゴニストは、既知の方法に従って、例えば静脈内投与、例えばボーラス又は一定期間中の連続注入、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑膜内、クモ膜下腔内、経口、局所、又は吸入経路により、被験者、例えばヒト患者に投与される。広範な副作用又は毒性がV E G F アンタゴニストに伴う場合は局所投与が特に望ましい。エキソピボ方策がまた治療的用途に使用されうる。エキソピボ方策は、V E G F アンタゴニストをコードするポリヌクレオチドを用いて、被験者から得られた細胞をトランスフェクト又は形質導入することを含む。ついで、トランスフェクトされ又は形質導入された細胞を被験者に戻す。細胞は、限定するものではないが、造血細胞（例えば、骨髓細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、T細胞又はB細胞）、線維芽細胞、上皮細胞、内皮細胞、ケラチノサイト、又は筋細胞を含む広範囲のタイプの何れかでありうる。

【 0 1 3 7 】

例えば、V E G F 特異的アンタゴニストが抗体である場合、抗体は、非経口、皮下、腹腔内、肺内、及び鼻腔内、及び局所的免疫抑制治療が望まれるならば、病巣内投与を含む任意の適切な手段によって投与される。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与を含む。また、抗体は、パルス注入によって、特に減少用量の抗体で適切に投与される。好ましくは、投薬は、投与が短期か慢性であるかどうかにか部分的に依存して、注射、最も好ましくは静脈内又は皮下注射によってなされる。

【 0 1 3 8 】

他の例では、V E G F 特異的アンタゴニスト化合物は、局所的に、例えば疾患又は腫瘍の位置が許容する場合は、直接の注射によって投与され、注射は定期的に繰り返されうる。V E G F 特異的アンタゴニストはまた例えば休止腫瘍又は微小転移巣の局所的再発又は転移を防止又は減少させるために、腫瘍の外科的切除後に腫瘍又は腫瘍床まで、被験者に全身的に又は腫瘍細胞に直接的に送達されうる。

【 0 1 3 9 】

あるいは、V E G F 特異的アンタゴニストをコードする核酸配列を含む阻害性核酸分子又はポリヌクレオチドは、被験者の適切な細胞に送達されうる。ある実施態様では、核酸が腫瘍自体に向けられうる。

【 0 1 4 0 】

核酸は用いられるベクターに適した任意の手段によって細胞中に導入されうる。多くのそのような方法が当該分野でよく知られている（上掲のSambrook等、及びWatson等、Recombinant DNA, Chapter 12, 2版, Scientific American Books, 1992）。遺伝子デリバリーの方法の例は、リポソーム媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム / D E A E デキストラン法、遺伝子銃、及びマイクロインジェクションを含む。

【 0 1 4 1 】

V . 薬学的製剤

本発明に従って使用される抗体の治療製剤は、任意成分の薬学的に許容可能な担体、賦形剤又は安定剤と所望の純度を有する抗体を混合することによって (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16版, Osol, A編 (1980))、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で保存用に調製される。許容できる担体、賦形剤又は安定剤は、用いる投与量及び濃度では細胞に対して無毒性であり、リン酸、クエン酸及び他の有機酸等の緩衝液; アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤; 保存料(例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; 塩化ヘキサメトニウム; 塩化ベンザルコニウム; 塩化ベンゼトニウム; フェノール、ブチル又はベンジルアルコール; アルキルパラベン類、例えばメチル又はプロピルパラベン; カテコール; レゾルシノール; シクロヘキサノール; 3-ペンタノール; 及びm-クレゾール); 低分子量(残基数約10未満)ポリペプチド; 血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン等のタンパク質; ポリビニルピロリドン等の親水性重合体; グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリジン等のアミノ酸; グルコース、マンノース又はデキストリンを含む単糖類、二糖類及び他の炭水化物; EDTA等のキレート剤; スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール等の糖類、ナトリウム等の塩形成対イオン; 金属錯体(例えばZn-タンパク質錯体); 及び/又はTWEENTM、PLURONICSTM又はポリエチレングリコール(PEG)等の非イオン性界面活性剤を含む。好ましい凍結乾燥抗VEGF抗体製剤は、出典明示によりここに援用される国際公開第97/04801号に記載されている。

10

20

【 0 1 4 2 】

場合によっては、製剤は、薬学的に許容可能な塩、典型的には例えば塩化ナトリウムを、好ましくはおよそ生理的な濃度で含む。場合によっては、本発明の製剤は薬学的に許容可能な保存料を含みうる。幾つかの実施態様では、保存料の濃度は0.1から2.0%、典型的にはv/vの範囲である。好適な保存料は薬学の分野で知られているものを含む。ベンジルアルコール、フェノール、m-クレゾール、メチルパラベン、及びプロピルパラベンが保存料の例である。場合によっては、本発明の製剤は、0.005から0.02%の濃度で薬学的に許容可能な界面活性剤を含みうる。

【 0 1 4 3 】

典型的には、ペバシズマブは、4ml又は16mlのペバシズマブ(25mg/ml)を送達させるために100mg及び400mgの保存料無添加で一回使用のバイアルで治療的用途に対して供給される。100mgの製品は、240mgの、-トレハロース無水物、23.2mgのリン酸ナトリウム(一塩基、一水和物)、4.8mgのリン酸ナトリウム(二塩基、無水物)、1.6mgのポリソルベート20、及び注射用水、USPで処方されている。400mgの製品は、960mgの、-トレハロース無水物、92.8mgのリン酸ナトリウム(一塩基、一水和物)、19.2mgのリン酸ナトリウム(二塩基、無水物)、6.4mgのポリソルベート20、及び注射用水、USPで処方されている。ペバシズマブのレベルをまた参照のこと。

30

【 0 1 4 4 】

また、製剤は、治療される特定の適応症に必要な一を越える活性化合物、好ましくは互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有するものを含有しうる。例えば、一製剤中にEGFR、VEGF(例えばVEGF上の異なったエピトープに結合する抗体)、VEGFR、又はErbb2(例えばハーセプチン(登録商標))に結合する抗体を更に提供することが望ましい場合がある。あるいは、又は加えて、組成物は、細胞傷害剤、サイトカイン、増殖阻害剤及び/又は小分子VEGFRアンタゴニストを含有しうる。このような分子は、好適には、意図した目的に有効な量で組合せて存在する。

40

【 0 1 4 5 】

また活性成分は、例えばコアセルベーション法又は界面重合により調製されたマイクロカプセル、例えばそれぞれヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ-(メチルメタクリレート)マイクロカプセルに、コロイド状薬物送達系(例えば、

50

リポソーム、アルブミンミクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル)又はマクロエマルジョンに捕捉することができる。このような技術はRemington's Pharmaceutical Sciences, 16版, Oslo, A. 編(1980)に開示されている。

【0146】

徐放性調製物を調製してもよい。徐放性調製物の適切な例には、抗体を含む固体疎水性重合体の半透性マトリックスが含まれ、このマトリックスはフィルム又はマイクロカプセル等の成形品の形態である。徐放性マトリックスの例には、ポリエステル、ヒドロゲル(例えばポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)、又はポリ(ビニルアルコール)、ポリラクチド(米国特許第3773919号)、L-グルタミン酸とD-エチル-L-グルタマートのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、分解性の乳酸-グリコール酸コポリマー、例えばLUPRON DEPOSITTM(乳酸-グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドからなる注入可能なミクロスフィア)、及びポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。エチレン-酢酸ビニルや乳酸-グリコール酸等のポリマーは100日以上分子を放出できるが、ある種のヒドロゲルはより短い時間タンパク質を放出する。カプセル化された抗体は体内に長い間残る場合、37℃での水分に暴露される結果、変性し又は凝集して、生物活性を消失させ、免疫原性を变化させる可能性がある。関与する機構に応じて安定化のための合理的な方策を案出することができる。例えば、関連するメカニズムに応じて安定性を得るための合理的な処置が案出できる。例えば、凝集機構がチオ-ジスルフィド交換による分子間S-S結合の形成であることが分かったら、スルフヒドリル残基を改変し、酸性溶液から凍結乾燥し、水分量を調整し、適当な添加物を使用し、特定の重合体マトリックス組成物を開発することで、安定化を達成することができる。

【0147】

インビボ投与に使用される製剤は無菌であるべきである。これは、滅菌濾過膜を通した濾過により容易に達成される。

【0148】

VI. 治療の効果

発明の治療の主な効果は、患者が治療全体から恩恵を受けるように、有意な毒性又は副作用を生じることなくヒト患者に顕著な抗癌効果を生じせしめる能力である。本発明の治療の効果は、限定するものではないが、腫瘍退縮、腫瘍重さ又はサイズの縮み、腫瘍増殖停止時間、生存期間、無増悪生存期間、奏効率、奏効期間、及び生活の質を含む、癌治療の評価に一般的に使用される様々なエンドポイントによって測定されうる。本発明の抗血管新生剤は腫瘍脈管構造を標的とし、必ずしも腫瘍細胞自体を標的としないので、それらは抗癌薬の独特のクラスを表し、よって薬剤に対する臨床応答の独特の尺度及び定義が用いられうる。例えば、2次元解析で50%を越える腫瘍の縮みは応答を宣言するための標準的なカットオフである。しかしながら、本発明の抗VEGF抗体は、原発性腫瘍の縮みを伴わないで転移性広がりやの阻害を生じる場合があり、又は腫瘍抑制(tumouristatic)効果を単に生じる場合がある。従って、場合によっては、血管新生の血漿又は尿マーカーの測定及び放射線学的造影を通した応答の測定を含む例えば抗血管新生療法の効果を決定するための他のアプローチ法が用いられる。

【0149】

別の実施態様では、発明は、癌に感受性があるか又は癌と診断されたヒト患者の無進行生存を増加するための方法を提供する。疾患進行までの時間は、薬剤の投与から、疾患進行又は死亡までの時間として定義される。好ましい実施態様では、抗VEGF維持治療が続く、抗VEGF抗体及び一又は複数の化学療法剤を使用する本発明の組合せ治療は、抗VEGF抗体維持治療を行わない治療と比較した場合、無進行生存を、少なくとも約1ヶ月、2ヶ月、2.3ヶ月、2.9ヶ月、3.0ヶ月、3.8ヶ月、好ましくは約1~約6.1ヶ月、著しく増加させる。一実施態様では、PFS中央値(月)(95%CI)は、抗VEGF維持治療が続く、ペバシズマブ及びタキサン治療(例えば、ドセタキセル又はパクリタキセル)及びカルボプラチンによって治療された患者において、コントロールと比較して、3.8ヶ月(0.717(0.625, 0.824)、片側p値(ロ克蘭ク

) < 0.001) 増加される。別の実施態様では、パクリタキセル及びカルボプラチンのみを受けた患者と、抗 V E G F 維持治療が続く、パクリタキセル、カルボプラチン及び抗 V E G F 抗体を受けた患者との間での中央値 P F S (月) の差は (95% C I)、2.3 ヶ月、H R = 0.79、p 値 (ロクランク検定) = 0.0010 であった。

【0150】

V I I . 抗体生産

(i) ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体は、好ましくは、関連する抗原とアジュバントを複数回皮下 (s c) 又は腹腔内 (i p) 注射することにより動物において産生される。免疫化される種において免疫原性であるタンパク質、例えばキーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、又は大豆トリプシンインヒビターに関連抗原を、二官能性又は誘導体形成剤、例えばマレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル(システイン残基によるコンジュゲーション)、N-ヒドロキシスクシンイミド(リジン残基による)、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、S O C l₂、又は R と R¹ が異なったアルキル基である R¹ N = C = N R によりコンジュゲートさせることが有用である。

【0151】

動物を、例えばタンパク質又はコンジュゲート 100 µg 又は 5 µg (それぞれウサギ又はマウスの場合) を完全フロイントアジュバント 3 容量と混合し、その溶液を複数部位に皮内注射することによって、抗原、免疫原性コンジュゲート、又は誘導体に対して免疫化する。1 ヶ月後、その動物を、完全フロイントアジュバントに入れた初回量の 1/5 ないし 1/10 のペプチド又はコンジュゲートを用いて複数部位に皮下注射することにより、追加免疫する。7 から 14 日後に動物を採血し、抗体価について血清を検定する。動物は、力価がプラトーに達するまで追加免疫する。好ましくは、動物は、同じ抗原のコンジュゲートであるが、異なったタンパク質にコンジュゲートさせた、及び/又は異なった架橋剤によってコンジュゲートさせたコンジュゲートで追加免疫する。コンジュゲートはまたタンパク融合体として組換え細胞培養中で調製することもできる。また、ミョウバンのような凝集化剤が、免疫反応の増強のために好適に使用される。

【0152】

(i i) モノクローナル抗体

ここでのモノクローナル抗体を作製するための様々な方法は当該分野で利用できる。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler 等, Nature, 256:495 (1975) により最初に記載されたハイブリドーマ法を使用して、又は組換え D N A 法(米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号)によって作製することができる。

【0153】

ハイブリドーマ法においては、マウス又はその他の適当な宿主動物、例えばハムスター又はマカクザルを上記したようにして免疫し、免疫化に用いられるタンパク質と特異的に結合する抗体を生産するか又は生産することのできるリンパ球を誘発する。別法として、リンパ球をインビトロで免疫することもできる。次に、リンパ球を、ポリエチレングリコールのような適当な融剤を用いて骨髓腫細胞と融合させ、ハイブリドーマ細胞を形成する (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 59-103 頁 (Academic Press, 1986))。

【0154】

このようにして調製されたハイブリドーマ細胞を、融合していない親の骨髓腫細胞の増殖又は生存を阻害する一又は複数の物質を好ましくは含む適当な培地に蒔き、増殖させる。例えば、親の骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチンゲアニジンホスホリボシルトランスフェラーゼ (H G P R T 又は H P R T) を欠失するならば、ハイブリドーマのための培地は、典型的には、H G P R T 欠失細胞の増殖を妨げる物質であるヒポキサンチン、アミノプテリン及びチミジンを含むであろう (H A T 培地)。

【0155】

好ましい骨髓腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定な

高レベルの生産を支援し、H A T 培地のような培地に対して感受性である細胞である。これらの中でも、好ましい骨髓腫細胞株は、マウス骨髓腫株、例えば、ソーク・インスティテュート・セル・ディストリビューション・センター、サンディエゴ、カリフォルニア、U S A から入手し得る M O P C - 2 1 及び M P C - 1 1 マウス腫瘍、及びアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション、ロックヴィル、メリーランド、U S A から入手し得る S P - 2 又は X 6 3 - A g 8 - 6 5 3 細胞から誘導されたものである。ヒト骨髓腫及びマウス・ヒトヘテロ骨髓腫細胞株もまたヒトモノクローナル抗体の産生のために開示されている(K ozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984) ; Brodeur 等, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 51-63 頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987))。

【 0 1 5 6 】

10

ハイブリドーマ細胞が増殖している培地を、抗原に対するモノクローナル抗体の産生についてアッセイする。好ましくは、ハイブリドーマ細胞により産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降又はインビトロ結合アッセイ、例えばラジオイムノアッセイ (R I A) 又は酵素結合免疫吸着検定 (E L I S A) によって測定する。

【 0 1 5 7 】

所望の特異性、親和性、及び / 又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定された後、該クローンを限界希釈法によりサブクローニングし、標準的な方法により増殖させることができる (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 59-103 頁 (Academic Press, 1986))。この目的に対して好適な培地には、例えば、D - M E M 又は R P M I - 1 6 4 0 培地が含まれる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、動物において腹水腫瘍としてインビボで増殖させることができる。

20

【 0 1 5 8 】

サブクローンにより分泌されたモノクローナル抗体は、例えばプロテイン A - セファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、又はアフィニティークロマトグラフィーのような常套的な免疫グロブリン精製法により、培地、腹水、又は血清から適切に分離される。

【 0 1 5 9 】

モノクローナル抗体をコードしている D N A は、常法を用いて (例えば、モノクローナル抗体の重鎖及び軽鎖をコードしている遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを用いることにより) 直ぐに単離され配列決定される。ハイブリドーマ細胞は、このような D N A の好ましい供給源となる。ひとたび単離されたならば、D N A を発現ベクター中に入れ、ついでこれを、そうしないと免疫グロブリンタンパク質を産生しない大腸菌細胞、サル C O S 細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞、又は骨髓腫細胞のような宿主細胞中にトランスフェクトし、組換え宿主細胞中でモノクローナル抗体の合成を達成することができる。抗体の組換え生産は以下に更に詳細に記載する。

30

【 0 1 6 0 】

更なる実施態様では、抗体又は抗体断片は、McCafferty 等, Nature, 348:552-554 (1990) に記載された技術を使用して産生される抗体ファージライブラリーから単離することができる。Clackson 等, Nature, 352:624-628 (1991) 及び Marks 等, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) は、ファージライブラリーを使用したマウス及びヒト抗体の単離を記述している。続く刊行物は、鎖シャッフリングによる高親和性 (n M 範囲) のヒト抗体の生産 (Marks 等, Bio/Technology, 10:779-783 (1992))、並びに非常に大きなファージライブラリーを構築するための方策としてコンビナトリアル感染とインビボ組換え (Waterhouse 等, Nuc. Acids. Res., 21:2265-2266 (1993)) を記述している。従って、これらの技術はモノクローナル抗体の分離に対する伝統的なモノクローナル抗体ハイブリドーマ法に対する実行可能な代替法である。

40

【 0 1 6 1 】

D N A はまた、例えば、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメインのコード化配列を、相同的マウス配列に代えて置換することにより (米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号 ; Morrison 等, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 81:6851 (1984))、又は免疫グロブリンコード配列に非免疫グロブリン

50

ポリペプチドのコード配列の全部又は一部を共有結合させることで修飾できる。

【 0 1 6 2 】

典型的には、このような非免疫グロブリンポリペプチドは、抗体の定常ドメインに置換され、又は抗体の一抗原結合部位の可変ドメインに置換されて、抗原に対する特異性を有する一つの抗原結合部位と異なる抗原に対する特異性を有するもう一つの抗原結合部位を含むキメラ二価抗体を作り出す。

【 0 1 6 3 】

(i i i) ヒト化及びヒト抗体

ヒト化抗体には非ヒトである由来の一又は複数のアミノ酸残基が導入されている。これら非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、典型的には「移入」可変ドメインから得られる「移入」残基と呼ばれる。ヒト化は、本質的にはヒト抗体の対応する配列に齧歯類 C D R s 又は C D R 配列を置換することによりウィンターと共同研究者の方法(Jones等, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann等, Nature, 332:323-327 (1988); Verhoeyen等, Science, 239:1534-1536(1988))を使用して実施することができる。よって、このような「ヒト化」抗体は、無傷のヒト可変ドメインより実質的に少ない分が非ヒト種由来の対応する配列で置換されたキメラ抗体(米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号)である。実際には、ヒト化抗体は、典型的には幾らかの高頻度可変領域残基及び場合によっては幾らかの F R 残基が齧歯類抗体の類似部位からの残基によって置換されているヒト抗体である。

【 0 1 6 4 】

抗原性を低減するには、ヒト化抗体を作製する際に使用されるヒトの軽重両方の可変ドメインの選択が非常に重要である。いわゆる「ベストフィット法」では、齧歯動物抗体の可変ドメインの配列を既知のヒト可変ドメイン配列のライブラリー全体に対してスクリーニングする。次に齧歯動物のものに最も近いヒト配列をヒト化抗体のヒトフレームワーク領域(F R)として受け入れる(Sims等, J. Immunol., 151:2296 (1993); Chothia等, J. Mol. Biol., 196:901(1987))。他の方法では、軽又は重鎖の特定のサブグループのヒト抗体全てのコンセンサス配列から誘導される特定のフレームワーク領域を使用する。同じフレームワークを幾つかの異なるヒト化抗体に使用できる(Carter等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); Presta等, J. Immunol., 151:2623(1993))。

【 0 1 6 5 】

更に、抗体を、抗原に対する高親和性や他の好ましい生物学的性質を保持してヒト化することが重要である。この目標を達成するべく、好ましい方法では、親及びヒト化配列の三次元モデルを使用して、親配列及び様々な概念的ヒト化産物の分析工程を経てヒト化抗体を調製する。三次元免疫グロブリンモデルは一般的に入手可能であり、当業者にはよく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の推測三次元立体配座構造を図解し、表示するコンピュータプログラムが購入可能である。これら表示を調べることで、候補免疫グロブリン配列の機能における残基の可能な役割の分析、すなわち候補免疫グロブリンの抗原との結合能力に影響を及ぼす残基の分析が可能になる。このようにして、例えば標的抗原に対する親和性が高まるといった、望ましい抗体特性が達成されるように、F R 残基をレシピエント及び移入配列から選択し、組み合わせることができる。一般的に、C D R 残基は、直接的かつ最も実質的に抗原結合性に影響を及ぼしている。

【 0 1 6 6 】

ヒト化抗 V E G F 抗体及びその親和性成熟変異体は、例えば 2 0 0 5 年 2 月 2 6 日発行の米国特許第 6 8 8 4 8 7 9 号に記載されている。

【 0 1 6 7 】

内因性の免疫グロブリン産生がなくともヒト抗体の全レパートリーを免疫化することで産生することのできるトランスジェニック動物(例えば、マウス)を作ることが今は可能である。例えば、キメラ及び生殖系列突然変異体マウスにおける抗体重鎖結合領域(J_H)遺伝子の同型接合除去が内因性抗体産生の完全な阻害をもたらすことが記載されている。このような生殖系列突然変異体マウスにおけるヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子列の転移は、抗原投与時にヒト抗体の産生をもたらす。例えばJakobovits等, Proc.Natl.Acad.Sci

10

20

30

40

50

.USA, 90:2551 (1993); Jakobovits等, Nature 362:255-258 (1993); Bruggerman等, Year in Immuno., 7:33 (1993); 及びDuchosal等 Nature 355:258 (1992)を参照のこと。

【0168】

別法として、ファージディスプレイ技術(McCafferty等, Nature 348:552-553 (1990))を使用して、非免疫化ドナーの免疫グロブリン可変(V)ドメイン遺伝子レパートリーから、インビトロでヒト抗体及び抗体断片を産出させることができる。この技術によれば、抗体Vドメイン遺伝子を、糸状バクテリオファージ、例えばM13又はfdの主要又は微量コートタンパク質遺伝子の何れかにインフレームでクローニングし、ファージ粒子の表面に機能的抗体断片として表示させる。糸状粒子がファージゲノムの一本鎖DNAコピーを含むので、抗体の機能的特性に基づく選別を行ってもそれらの性質を表す抗体をコードする遺伝子が選別される。よって、ファージはB細胞の性質の幾つかを模倣している。ファージディスプレイは多様な形式で行うことができる; 例えばJohnson, Kevin S. 及びChiswell, David J., Current Opinion in Structural Biology 3:564-571 (1993)を参照のこと。V-遺伝子セグメントの幾つかの供給源を、ファージディスプレイのために使用できる。Clackson等, Nature, 352:624-628 (1991)は、免疫化したマウス脾臓由来のV遺伝子の小さいランダムなコンビナトリアルライブラリーから、抗オキサゾロン抗体の多様なアレイを単離した。非免疫化ヒトドナーのV遺伝子のレパートリーを構築することができ、抗原(自己抗原を含む)の多様なアレイに対する抗体は、Marks等, J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)、又はGriffith等, EMBO J. 12:725-734 (1993)に記載の技術にそのまま従うことで単離することができる。また、米国特許第5565332号及び同5573905号を参照のこと。

10

20

【0169】

上で検討されているように、ヒト抗体はまたインビトロで活性化されたB細胞によって産生されうる(米国特許第5567610号及び同第5229275号を参照)。

ヒトモノクローナル抗VEGF抗体は、1998年3月24日に発行された米国特許第5730977号に記載されている。

【0170】

(iv) 抗体断片

抗体断片を生産するために様々な技術が開発されている。伝統的には、これらの断片は、インタクトな抗体のタンパク分解性消化を介して誘導されていた(例えば、Morimoto等, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24:107-117 (1992)及びBrennan等, Science, 229:81(1985)を参照)。しかし、これらの断片は今は組換え宿主細胞により直接生産することができる。例えば、抗体断片は上において検討した抗体ファージライブラリーから分離することができる。別法として、Fab'-SH断片は大腸菌から直接回収し、化学的に結合させてF(ab')₂断片を形成することができる(Carter等, Bio/Technology 10:163-167(1992))。他のアプローチ法では、F(ab')₂断片を組換え宿主細胞培養から直接分離することができる。抗体断片の生産のための他の方法は当業者には明らかであろう。他の実施態様では、選択抗体は単鎖Fv断片(scFv)である。国際公開第93/16185号を参照。

30

【0171】

(v) 他のアミノ酸配列修飾

ここに記載の抗体のアミノ酸配列の修飾を考える。例えば、抗体の結合親和性及び/又は他の生物学的特性を改善することが望まれうる。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体核酸中に適当なヌクレオチド変化を導入することにより、又はペプチド合成により調製される。そのような修飾は、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基の欠失及び/又は挿入及び/又は置換を含む。最終コンストラクトが所望の特徴を有するとするならば、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせは、その最終コンストラクトに達するまでなされる。また、アミノ酸変化は、グリコシル化部位の数又は位置の変化などの、抗体の翻訳後プロセスを変更しうる。

40

【0172】

50

突然変異誘発の好ましい位置である抗体の所定の残基又は領域の特定のために有用な方法は、Cunningham及びWells, Science 244: 1081-1085 (1989)に記載されているように「アラニンスキャンニング突然変異誘発」と呼ばれる。ここで、標的残基の残基又は基が同定され（例えば、a r g、a s p、h i s、l y s、及びg l u等の荷電残基）、中性又は負荷電アミノ酸（最も好ましくはアラニン又はポリアラニン）に置換され、アミノ酸と抗原との相互作用に影響を及ぼす。ついで、置換に対する機能的感受性を示すこれらのアミノ酸の位置は、置換部位において又はそれに対して更なる又は他の変異体を導入することにより精製される。しかして、アミノ酸配列変異を導入する部位は予め決定されるが、変異自体の性質は予め決める必要はない。例えば、与えられた部位における変異の性能を分析するために、a l aスキャンニング又はランダム突然変異誘発を標的コドン又は領域で実施し、発現された抗体変異体を所望の活性についてスクリーニングする。

10

【0173】

アミノ酸配列挿入は、1残基から100以上の残基を含むポリペプチドの長さの範囲のアミノ-及び/又はカルボキシル末端融合物、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入物を含む。末端挿入物の例には、N末端メチオニル残基を持つ抗体又は細胞傷害性ポリペプチドに融合した抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えばA D E P T）又はポリペプチドへの抗体のN又はC末端への融合物を含む。

【0174】

他のタイプの変異体はアミノ酸置換変異体である。これらの変異体は、抗体中に異なった残基により置換される少なくとも一のアミノ酸残基を有する。置換突然変異について関心ある部位は高度可変領域を含むが、F R改変もまた考慮される。

20

【0175】

抗体の生物学的性質における実質的な修飾は、(a)置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシート又は螺旋配置、(b)標的部位の分子の電荷又は疎水性、又は(c)側鎖の嵩の維持についてのその効果が有意に異なる置換を選択することにより達成される。アミノ酸は、その側鎖の特性の類似性に従ってグループ化することができる(A. L. Lehninger, in Biochemistry, 2版, pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)):

(1) 無極性: A l a (A), V a l (V), L e u (L), I l e (I), P r o (P), P h e (F), T r p (W), M e t (M)

30

(2) 無電荷極性: G l y (G), S e r (S), T h r (T), C y s (C), T y r (Y), A s n (N), G l n (Q)

(3) 酸性: A s p (D), G l u (E)

(4) 塩基性: L y s (K), A r g (R), H i s (H)

【0176】

別法では、天然に生じる残基は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる:

(1) 疎水性: ノルロイシン、M e t、A l a、V a l、L e u、I l e;

(2) 中性の親水性: C y s、S e r、T h r、A s n、G l n;

(3) 酸性: A s p、G l u;

40

(4) 塩基性: H i s、L y s、A r g;

(5) 鎖配向に影響する残基: G l y、P r o;

(6) 芳香族: T r p、T y r、P h e。

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。

【0177】

抗体の適切な高次構造を維持することに関与していない任意のシステイン残基も、一般的には、セリンと置換して、分子の酸化的安定性を改善し、異常な架橋を防ぐ。逆に、システイン結合をその抗体に付加して、その安定性を改善してもよい（特に抗体がFv断片などの抗体断片である場合）。

50

【 0 1 7 8 】

特に好ましい型の置換変異体は、親抗体（例えばヒト化又はヒト抗体）の一又は複数の高頻度可変領域残基の置換を含む。一般的に、更なる発展のために選択され、得られた変異体は、それらが作製された親抗体と比較して改善された生物学的特性を有している。そのような置換変異体を作製する簡便な方法は、ファージディスプレイを使用する親和性成熟を含む。簡潔に言えば、幾つかの高頻度可変領域部位（例えば6 - 7部位）を変異させて各部位においてあらゆる可能なアミノ酸置換を生成させる。このようにして生成された抗体変異体は、糸状ファージ粒子から、各粒子内に充填されたM 1 3の遺伝子I I I産物への融合物としてディスプレイされる。ファージディスプレイ変異体は、ついで、ここに開示されるようなそれらの生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。修飾のための候補となる高頻度可変領域部位を同定するために、アラニンスキャンニング突然変異誘発を実施し、抗原結合に有意に寄与する高頻度可変領域残基を同定することができる。別法として、又はそれに加えて、抗原-抗体複合体の結晶構造を分析して抗体とヒトV E G Fの間の接点を特定するのが有利である場合もある。このような接触残基及び隣接残基は、ここに述べた技術に従う置換の候補である。そのような変異体がひとたび生成されると、変異体のパネルにここに記載するようなスクリーニングを施し、一又は複数の関連アッセイにおいて優れた特性を持つ抗体を更なる開発のために選択することができる。

10

【 0 1 7 9 】

抗体のアミノ酸変異体の他の型は、抗体の元のグリコシル化パターンを変更する。変更とは、抗体に見い出される一又は複数の糖鎖部分の欠失、及び/又は抗体に存在しない一又は複数のグリコシル化部位の付加を意味する。

20

【 0 1 8 0 】

抗体のグリコシル化は、典型的には、N結合又はO結合の何れかである。N結合とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を意味する。アスパラギン-X-セリン及びアスパラギン-X-スレオニン（ここでXはプロリンを除く任意のアミノ酸）のトリペプチド配列は、アスパラギン側鎖への糖鎖部分の酵素的結合のための認識配列である。従って、ポリペプチド中にこれらのトリペプチド配列の何れかが存在すると、潜在的なグリコシル化部位が作出される。O結合グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリン又はスレオニンに、N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、又はキシロースの糖類のうち一つが結合することを意味するが、5-ヒドロキシプロリン又は5-ヒドロキシリジンもまた用いることができる。

30

【 0 1 8 1 】

抗体へのグリコシル化部位の付加は、アミノ酸配列を、上述のトリペプチド配列（N結合グリコシル化部位のもの）の一又は複数をそれが含むように変化させることによって簡便に達成される。該変化はまた元の抗体の配列への一又は複数のセリン又はスレオニン残基の付加、欠失、又は置換によってなされる（O-結合グリコシル化部位の場合）。

【 0 1 8 2 】

抗体がF c領域を含む場合、それに結合する炭水化物を変更してもよい。例えば、抗体のF c領域に結合したフコースを欠く成熟炭水化物構造を持つ抗体は、Presta, L.の米国特許出願公開第2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 A 1号に記載されている。また米国特許出願公開第2004/0093621 A1号(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)を参照のこと。抗体のF c領域に結合した炭水化物中に二分岐N-アセチルグルコサミン（G 1 c N A c）を有する抗体は、Jean-Mairet等の国際公開第0 3 / 0 1 1 8 7 8号、及びUmana等の米国特許第6 6 0 2 6 8 4号が参照される。抗体のF c領域に結合したオリゴ糖中に少なくとも一つのガラクトース残基を有する抗体は、Patel等の国際公開第9 7 / 3 0 0 8 7号に報告されている。またそのF c領域に結合した改変された炭水化物を有する抗体に関しては、国際公開第9 8 / 5 8 9 6 4号(Raju, S.)及び国際公開第9 9 / 2 2 7 6 4号(Raju, S.)を参照のこと。

40

【 0 1 8 3 】

50

エフェクター機能、例えば抗体の細胞依存性細胞媒介性細胞障害(ADCC)及び/又は補体依存性細胞障害(CDC)を向上させるように、本発明の抗体を修飾することが望ましい場合がある。このことは、抗体のFc領域に一又は複数のアミノ酸置換を導入することにより達成されうる。あるいは、又は付加的にシステイン残基をFc領域に導入し、それにより、この領域に鎖間ジスルフィド結合を形成させるようにしてもよい。そのようにして産生されたホモ二量体抗体は、改善された内部移行能力及び/又は増加した補体媒介性細胞殺傷及び抗体-依存性細胞性細胞障害(ADCC)を有しうる。Caron等, J. Exp. Med. 176: 1191-1195 (1992)及びShopes, B. J. Immunol. 148: 2918-2922 (1992)を参照のこと。向上した抗腫瘍活性を持つホモ二量体抗体はまたWolff等, Cancer Research 53: 2560-2565 (1993)に記載されたようなヘテロ二官能性架橋剤を用いても調製されうる。あるいは、抗体は、2つのFc領域を有するように加工して、それにより補体溶解及びADCC能力を向上させることもできる。Stevenson等, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989)を参照のこと。

【0184】

国際公開第00/42072号(Presta, L.)は、抗体がそのFc領域内にアミノ酸置換を含む場合のヒトエフェクター細胞の存在下で改善されたADCC機能を有する抗体を開示している。好ましくは、改善されたADCCを有する抗体はFc領域の位置298、333及び/又は334に置換を含む(残基のEu番号付け)。好ましくは、変更されたFc領域は、それらの位置のうちの1、2又は3つに置換を含むか又はそれらからなるヒトIgG1Fc領域である。そのような置換は、C1q結合及び/又はCDCを増加させる置換と場合によっては組み合わせられる。

【0185】

変更したC1q結合及び/又は補体依存性細胞障害(CDC)を有する抗体は、国際公開第99/51642号、米国特許第6194551B1号、米国特許第6242195B1号、米国特許第6528624B1号及び米国特許第6538124号(Idusogie等)に記載されている。抗体は、そのFc領域の一又は複数のアミノ酸位置270、322、326、327、329、313、333及び/又は334にアミノ酸置換を含む(残基のEu番号付け)。

【0186】

抗体の血清半減期を増加させるために、例として米国特許第5739277号に記載されているように抗体(特に抗体断片)内にサルベージレセプター結合エピトープを組み込んでもよい。ここで使用される場合、「サルベージレセプター結合エピトープ」なる用語は、IgG分子のインビボ血清半減期の増加の原因であるIgG分子(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃又はIgG₄)のFc領域のエピトープを表す。

【0187】

新生児Fcレセプター(FcRn)への結合が向上し、半減期が増加している抗体は、国際公開第00/42072号(Presta, L.)及び米国公開特許第2005/0014934号A1(Hinton等)に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を向上させる一又は複数の置換をそこに有するFc領域を含んでなる。例えば、Fc領域は、一又は複数の位置238、250、256、265、272、286、303、305、307、311、312、314、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428又は434(残基のEu番号付け)に置換を有しうる。改善したFcRn結合を有する好適なFc領域含有抗体変異体は、そのFc領域の位置307、380及び434(残基のEu番号付け)のうちの1、2又は3にアミノ酸置換を含んでなる。一実施態様では、抗体は307/434変異を有する。

【0188】

3以上(好ましくは4)の機能的抗原結合部位を有する操作抗体がまた考えられる(Miller等の米国特許出願公開番号US2002/0004587A1)。

【0189】

抗体のアミノ酸配列変異体をコードする核酸分子は、当該分野で知られている様々な方

10

20

30

40

50

法によって調製される。これらの方法は、限定するものではないが、天然源からの単離（天然に生じるアミノ酸配列変異体の場合）又はオリグヌクレオチド媒介（又は部位特異的）突然変異誘発、PCR突然変異誘発、及び抗体の先に調製された変異体又は非変異体型のカセット突然変異誘発による調製を含む。

【0190】

(vi) 免疫複合体

また、本発明は、化学療法剤、毒素（例えば、細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素、又はその断片）などの細胞傷害剤、あるいは放射性同位体（つまり、放射性コンジュゲート）とコンジュゲートしたここに記載の抗体を含む免疫複合体に関する。

【0191】

そのような免疫複合体の産生に有用な化学療法剤は上に記載した。使用可能な酵素活性毒及びその断片には、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性断片、外毒素A鎖（シュードモナス・アエルギノーサ（*Pseudomonas aeruginosa*）由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシン（modeccin）A鎖、アルファ-サルシン（sarcin）、アレウライツ・フォルディイ（*Aleurites fordii*）プロテイン、ジアンシン（dianthin）プロテイン、フィトラッカ・アメリカーナ（*Phytolacca americana*）プロテイン（PAP I、PAP II 及び PAP-S）、モモルディカ・キャランティア（*Momordica charantia*）インヒビター、クルシン（curcin）、クロチン、サパオナリア（*Saponaaria*）オフシナリスインヒビター、ゲロニン（gelonin）、マイトゲリン（mitogellin）、レストリクトシン（restrictocin）、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコセセス（*trichothecenes*）が含まれる。様々な放射性核種が放射性コンジュゲート抗体の生産に利用できる。例には、 ^{212}Bi 、 ^{131}I 、 ^{131}In 、 ^{90}Y 及び ^{186}Re が含まれる。

【0192】

抗体と細胞傷害剤のコンジュゲートは、種々の二官能性タンパク質カップリング剤、例えばN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオナート（SPDP）、イミノチオラン（IT）、イミドエステル類の二官能性誘導体（例えばジメチルアジピミダートHCL）、活性エステル類（例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル）、アルデヒド類（例えば、グルタルアルデヒド）、ビス-アジド化合物（例えば、ビス（p-アジドベンゾイル）ヘキサジアミン）、ビス-ジアゾニウム誘導体（例えば、ビス（p-ジアゾニウムベンゾイル）-エチレンジアミン）、ジイソシアネート（例えば、トリエン-2,6-ジイソシアネート）、及びビス活性フッ素化合物（例えば1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン）を使用して作製することができる。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta等、Science 238:1098(1987)に記載されているようにして調製することができる。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレン-トリアミン五酢酸（MX-DTPA）は抗体に放射性ヌクレオチドをコンジュゲートするためのキレート剤の例である。国際公開第94/11026号を参照。

【0193】

他の実施態様では、腫瘍の事前ターゲティングに利用するために、「レセプター」（例えばストレプトアビジン）に抗体をコンジュゲートすることができ、ここで抗体-レセプターコンジュゲートを患者に投与し、続いて清澄剤を使用し、循環から未結合コンジュゲートを除去し、細胞傷害剤（例えば放射性ヌクレオチド）にコンジュゲートする「リガンド」（例えばアビジン）を投与する。

【0194】

(vii) 免疫リポソーム

ここに開示されている抗体はまた免疫リポソームとして製剤化することもできる。抗体を含むリポソームは、例えばEpstein等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688(1985)；Hwang等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030(1980)；及び米国特許第4485045号及び同4544545号に記載されているような、当該分野で知られている方法により調製される。循環時間が改善されたリポソームは米国特許第5013556号に開示されている。

10

20

30

40

50

【 0 1 9 5 】

特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール及びPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)を含有する脂質組成物を用いた逆相蒸発法により作製することができる。リポソームは孔径が定められたフィルターを通して押し出され、所望の直径を有するリポソームが得られる。本発明の抗体のFab'断片は、ジスルフィド交換反応を介して、Martin等, J. Biol. Chem. 257:286-288(1982)に記載されているようにしてリポソームにコンジュゲートすることができる。場合によっては、化学療法剤(ドキシソルピシンなど)はリポソーム内に収容される。Gabizon等, J. National Cancer Inst. 81(19)1484(1989)を参照。

【 0 1 9 6 】

V I I I . 製造品

本発明の他の実施態様では、前述した疾患の治療に有用な物質を含む製造品が提供される。製造品は、容器、ラベル及びパッケージ挿入物を含んでなる。適切な容器には、例えばボトル、バイアル、シリンジ等が含まれる。容器はガラス又はプラスチックのような様々な材料で形成することができる。容器は症状の治療に有効な組成物を収容しており、滅菌したアクセスポートを有している(例えば、容器は皮下注射針により貫通可能なストッパーを具備する静脈溶液用のバック又はバイアルであってよい)。組成物中の少なくとも一種の活性剤は抗VEGF抗体である。容器上の又は容器に伴うラベルには、組成物が、選択された症状の治療に使用されることが示されている。製造品は、製薬的に許容可能なバッファー、例えばリン酸緩衝生理食塩水、リンガー液及びブドウ糖液を収容する第2の容器を更に含む。更に、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、シリンジを含む、市販及び使用者の観点から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。加えて、製造品は、例えば抗VEGF抗体組成物と化学療法剤、例えばタキサン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子(例えば、アブラキサン(登録商標))、白金アナログ、カルボプラチン、ゲムシタビン、又はその組合せを患者に投与すること、その後抗VEGF維持治療が続くことを組成物の使用者に指示することを含む、使用のための指示書を伴うパッケージ挿入物を含む。パッケージ挿入物は場合によっては実施例1又は実施例2又は実施例3に見出される結果の幾つか又は全てを含んでもよい。

【 0 1 9 7 】

VEGF特異的アンタゴニストは、単独で、又は他の抗癌治療化合物と組み合わせてキットとして包装されうる。キットは、患者に対する単位用量の投与を補助する任意的構成要素、例えば粉末形態を再構成するためのバイアル、注射のためのシリンジ、カスタマイズされた静脈内デリバリー系、インヘラー等を含む。加えて、単位投薬キットは、組成物の調製及び投与のための指示書を含む。ある実施態様では、指示書は、抗VEGF抗体組成物及び科学療法剤、例えば、タキサン、パクリタキセル、ドセタキセル、パクリタキセルタンパク質結合粒子(例えば、アブラキサン(登録商標))、白金アナログ、カルボプラチン、ゲムシタビン、又はその組合せを患者に投与すること、その後抗VEGF維持治療が続くことを組成物の使用者に例えば指示をすることを含む、使用のために指示を含む。指示書は実施例1に見出される結果の幾らか又は全てを場合によっては含んでもよい。キットは、ある患者に対しては一回使用の単位用量、特定の患者に対しては複数回使用(一定用量で又は個々の化合物が治療の進行に応じて作用強度が変化しうる)として製造することができ;又はキットは、複数の患者への投与に適した複数の用量を含む(「バルクパッケージング」)。キット構成成分は、カートン、ブリストアバック、ピン、チューブ等に組み込むことができる。

【 0 1 9 8 】

材料の寄託

次のハイブリドーマ細胞株を合衆国バージニア州マナッサスのアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション(ATCC)にブタペスト条約の規定に従って寄託した:

抗体標記

ATCC 番号

寄託日

A.4.6.1

ATCC HB-10709

1991年3月29日

10

20

30

40

50

【 0 1 9 9 】

以下の実施例は本発明の実施を例示するためにのみ提供されるものであって、限定するものではない。ここで引用した全ての特許と科学文献を、その全体について出典明示によりここに援用する。

【 0 2 0 0 】

実施例

実施例 1 . 新たに診断された過去に未治療の、ステージ I I I (準最適に及び肉眼で最適にデバルキング) 又は I V の、上皮性卵巣癌、腹膜原発癌又は卵管癌を罹患する女性における、カルボプラチン及びパクリタキセル + プラセボ対カルボプラチン及びパクリタキセル + 併用バシズマブに続くプラセボ、対カルボプラチン及びパクリタキセル + 併用及び延長バシズマブの第 I I I 相試験

10

結果は、International Federation of Gynecologic Oncology (F I G O) のステージ I I I 及び I V の、上皮性卵巣癌、腹膜原発癌又は卵管癌を有する患者のための新しい治療プログラムを評価するための第 I I I 相ランダム化試験から提示される。主目的は、新たに診断されたステージ I I I (何れかのグロス残存疾患を有する) 及びステージ I V の、上皮性卵巣癌、腹膜原発癌又は卵管癌を有する女性において、標準治療のみの 6 サイクル [アーム I] と比較した場合に、標準治療 (カルボプラチン及びパクリタキセル) の 6 サイクルへのバシズマブの 5 併用サイクルの追加 [アーム I I] が無進行生存 (P F S) の期間を増加するかを決定すること ; 及び新たに診断されたステージ I I I (何れかのグロス残存疾患を有する) 及びステージ I V の、上皮性卵巣癌、腹膜原発癌又は卵管癌を有する女性において、標準治療の 6 サイクル [アーム I] と比較した場合に、バシズマブの 5 併用サイクル + 標準治療 (カルボプラチン及びパクリタキセル) の 6 サイクル外の 1 6 サイクルの延長バシズマブの追加 [アーム I I I] が無進行生存を増加させるか決定することを含む。

20

【 0 2 0 1 】

G O G - 0 1 8 2 - I C O N 5 は、標準治療 (カルボプラチン及びパクリタキセル) を、ゲムシタピン、トポテカン及びリボソーマルドキソルピシンをパクリタキセル及びカルボプラチンと組合せか又は順番において組み入れた 4 つの調査アームと比較する 5 - アームランダム化臨床試験であった。世界中の主な卵巣癌臨床試験グループがこの研究に参加した。この国際協力は多くの患者をタイミング良く集めるまたとない機会を提供し、これは前向きランダム化試験における多剤の同時評価を容易にした。国際的参加により、集積は年あたり 1 , 2 0 0 の患者を超え、試験は 4 年の活動の内にその目標とした集積ゴールに達した。

30

【 0 2 0 2 】

G O G - 0 1 8 2 - I C O N 5 の結果は、進行性の卵巣癌及び腹膜原発癌を有する、過去に未治療の患者に対する最適な化学療法を確立するのを助けたが、臨床試験の次の世代は化学療法を併用した分子標的治療の影響を調査することだろう。特に、増殖因子シグナル伝達阻害剤及び抗血管新生剤は、単剤としてまた化学療法剤との組合せにおいて、これらの腫瘍を有する女性において現在試験が行われている。これらの薬剤の多くは、細胞増殖阻害効果を有することが示され、ヒト癌の実験モデルにおいて化学療法との相乗効果が示された。この第 I I I 相試験では、進行疾患の患者において、標準化学療法治療のみと比較した、標準化学療法治療との組合せにおける活性生物学的薬剤 ± 延長による単剤投与のアウトカムへの影響を評価した。

40

【 0 2 0 3 】

バシズマブは、マウス抗ヒト V E G F モノクローナル抗体の組換えヒト化型であり、r h u M A b V E G F と呼ばれる。バシズマブは、固形腫瘍を有する患者において腫瘍増殖阻害を誘導する単剤としての使用、及び転移性固形腫瘍を有する患者において疾患進行までの時間を遅延させるための細胞傷害性化学療法との組合せにおける使用に対し、臨床開発に進んだ。例えば、Presta LG, et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and o

50

ther disorders. Cancer Res 57:4593-9, 1997を参照。再発性上皮性卵巣癌及び腹膜原発癌を有する患者に対する、ベパシズマブの2つの単剤治験の結果が公開されている。例えば、Burger RA, et al., Phase II trial of bevacizumab in persistent or recurrent epithelial ovarian cancer or primary peritoneal cancer: a Gynecologic Oncology Group study. J Clin Oncol 25(33):5165-5171, 2007; and, Cannistra SA, et al., Phase II Study of Bevacizumab in Patients with Platinum Resistant Ovarian Cancer or Primary Peritoneal Serous Cancer. J Clin Oncol 25(33):5180-86, 2007を参照。GOG (GOG-0170-D) は2つの共主要有効性エンドポイントを使用した: NCI RECIST 基準による臨床応答及び少なくとも6ヶ月の無進行生存割合。62人の患者が、疾患進行の臨床又はX線検査エビデンス又は許容できない毒性の発生まで、21日ごとに15 mg / kg でベパシズマブを受けた。原疾患特性は再発性卵巣癌を有する患者の典型であり、患者のおよそ43%が原発性白金抵抗性であると考えられた。類似な臨床特性を有する集団における細胞傷害性薬物の過去のネガティブ第II相試験に基づくヒストリカルコントロールの1.8ヶ月と比較して、21%の奏効率が観察され、40%が少なくとも6ヶ月間無進行であり、中央値PFSは4.7ヶ月であった。Genentech AVF 2949は、疾患進行及び有害事象の可能性の観点から、高いリスクプロファイルを有する患者を調査し、一次又は二次的白金抵抗性と考えられ、過去に2又は3の細胞傷害性レジメンを受けていた患者のみを許可した。適格性におけるこれらの差は最終的にAVF集団における、より高いレベルの白金抵抗性、より多数の過去のレジメン及び若干悪いパフォーマンスステータスプロファイルに変換された。44人の患者を、GOG 170-Dにおいて使用されたのと同じベパシズマブに関する用量及びスケジュールで処置した。7人(16%)の応答が報告され、12人(27%)が少なくとも6ヶ月無進行であった。

【0204】

この研究では、2つの実験アームを、パクリタキセル及びカルボプラチンを用いた標準細胞傷害化学療法と比較するために選択した: 一つは、ベパシズマブを5サイクルを組み入れ(併用ベパシズマブ)、他方は、パクリタキセル及びカルボプラチンを用いた化学療法の完了後、ベパシズマブを更に16サイクル用いた(延長ベパシズマブ)。投与及び用量を図1及び2に示す。カルボプラチン(AUC)投与のCalvertの式:

$$\text{総投与量 (mg)} = \text{目標 AUC (mg / mL / 分)} * [\text{GFR (mL / 分)} + 25]$$

【0205】

主要エンドポイントの統計デザインとして、研究は90%の検出力に基づきPFSハザード比(HR) 0.77を検出した(中央値PFSシフト: 14.0ヶ月(ヒストリカル) 18.2ヶ月)。一次分析は、コントロールに対する各ベパシズマブアームの調査員評価PFSを比較した((分析1 RECIST(例えば、Therasse et al., J Natl. Cancer Inst., 92:205-16, 2000を参照)、世界的臨床的悪化(global clinical deterioration)、又はCA-125により; 又は分析2 RECIST又は世界的臨床的悪化、CA-125の観察)。患者のベースライン臨床特性を表1に示す。患者のベースライン外科病理学特性を表2に示す。

【0206】

適格患者: 上皮性卵巣癌、腹膜原発癌又は卵管癌; 何れかのグロス(肉眼的又は触知) 残存病変を有するFIGOステージIII又はFIGOステージIVの組織学的診断を有する患者であり、初回腹部手術の終了時に外科的に、組織学的評価が可能な適切な組織を用いて決定される。必要とされる最小限の手術は、組織学評価のための組織を提供し、原発部位及びステージを定め記録するための腹部手術、並びに腫瘍デバルキング時の最大努力であった。更なる手術が行われた場合、それは、GOG Surgical Procedures Manual (<https://www.gog.fccc.edu/manuals/pdf/surgman.pdf>) に記述されている卵巣又は腹膜癌に関する適切な手術に従ったはずである。しかしながら、外科医はGOG Surgical Procedures Manualのこのセクションに含まれている全項目を実施することを要求されていない。この初回手術の終了時に何れかの残存腫瘍インプラントの最大直径が1 cm以下であるステ

ージIIIの癌を有するそれらの患者が「最適」として定義され、他全てが「準最適」として定義されるだろう。術後画像診断における測定可能疾患は適格性に対して必要とされない。

【0207】

次の組織学上皮細胞タイプを有する患者は適格である：漿液性腺癌、類内膜腺癌、粘液腺癌、未分化癌、明細胞腺癌、混合型上皮癌、移行上皮癌、悪性ブレンナー腫瘍、又は特定不能（N.O.S.）の腺癌。しかしながら、腫瘍の組織学特性は、原発ミューラー上皮腺癌に適合しなければならない。浸潤癌の原発起源が卵巣、腹膜又は卵管であれば、患者は共在する卵管上皮内癌を有し得た。

【0208】

患者は以下に適切でなければならない：

（1）骨髓機能：1,500/ μ l以上の絶対好中球数（ANC）、有害事象共通用語規準v3.0（CTCAE）グレード1に相当。このANCは、顆粒球コロニー刺激因子によって誘導又は支援されていなかったはずである。

（2）100,000/ μ l以上の血小板。（CTCAEグレード0-1）。

（3）腎機能：クレアチニン 1.5×施設正常値上限（ULN）、CTCAEグレード1。

（4）肝機能：

（a）1.5×ULN以下のビリルビン（CTCAEグレード1）。

（b）2.5×ULN以下のSGOT及びアルカリホスファターゼ（CTCAEグレード1）。

（c）神経機能：CTCAEグレード1以下のニューロパシー（感覚及び運動）。

（5）血液凝固パラメーター：PTは、国際標準化比（INR）が1.5（又は、患者が、肺血栓塞栓を含む様々な血栓症の管理のための治療用ワルファリンの継続投与にある場合、範囲内INR、通常は2及び3の間）及びPTT<1.2×正常値上限。

（6）GOGパフォーマンスステータスが0、1、又は2である患者。

（7）患者は、診断、ステージ分類及び細胞切除の複合目的に対して実施される初回手術後1及び12週の間に入らなければならない。

（8）測定可能及び測定不能疾患を有する患者が適格である。患者は癌関連症状を有する場合もあるしそうでない場合もある。

（9）セクション7.0に記載されているブレントリー要件を満たした患者。

（10）承認されたインフォームドコンセント及び個人健康情報の公開を許可する同意書が患者又は保護者によって署名されなければならない。

（11）この治験の患者は、卵巣エストロゲン+/-プロゲスチン補充療法を、適応があればいつでも更年期障害のコントロールのために最小有効量で受けてもいいが、プロトコル指向治療の間、又は疾患進行の前の食欲不振の管理のためのプロゲスチンは不可である。

【0209】

不適格患者：現在の診断で境界上皮性卵巣腫瘍（以前の「低悪性度腫瘍」）、又は手術のみで治療される再発浸潤性上皮性卵巣癌、原発腹膜癌又は卵管癌を有する患者（ステージIa又はIbの低悪性度上皮性卵巣癌又は卵管癌の患者など）は適格ではない。過去に境界腫瘍と診断され手術で摘出され、その後、無関係の新しい浸潤性上皮性卵巣癌、腹膜原発癌又は卵管癌を発生した患者は適格であるが、ただし、彼らは何れかの卵巣腫瘍に対し過去に化学療法を受けていないことを条件とする。

【0210】

腹腔又は骨盤の何れかの部分に過去に放射線治療を受けた患者は除外する。胸、頭頸部、又は皮膚の限局性癌に対する過去の放射線は許可されるが、ただし、それが登録の3年より前に完了され、患者が再発性又は転移性疾患を依然として持たないことを条件とする。

【0211】

10

20

30

40

50

卵巣癌、原発腹膜癌又は卵管癌に対するネオアジュバント化学療法を含め、何れかの腹部又は骨盤腫瘍に対し過去に化学療法を受けた患者は除外される。患者は、過去に限局性乳癌に対するアジュバント化学療法を受けていてもよいが、ただし、それは登録の3年より前に完了し、患者は再発性又は転移性疾患を依然として持たないことを条件とする。

【0212】

上皮性卵巣癌又は腹膜原発癌の管理のための何れかの標的治療（限定するものではないが、ワクチン、抗体、チロシンキナーゼ阻害剤を含む）又はホルモン療法を受けた患者。

【0213】

同時原発子宮内膜癌を有するか、又は原発子宮内膜癌の既往歴がある患者は除外されるが、次の全ての条件を満たす場合は除く：I-B以下のステージ；表在性子宮筋層浸潤以下、血管又はリンパ管浸潤無し；非低分化サブタイプ（漿液性乳頭状、明細胞又は他のFIGOグレード3病変を含む）。

【0214】

非黒色腫皮膚癌及び上記される他の特定の悪性腫瘍を除き、過去5年以内の他の癌の存在を示す何れかのエビデンスがあった（又はある）他の浸潤性悪性腫瘍を有するか、又は過去の癌治療が本プロトコル治療に禁忌する患者は除外される。

【0215】

非経口抗生物質を必要とする急性肝炎又は活動性感染を有する患者。

【0216】

重篤な非治療性創傷、潰瘍、又は骨折を有する患者。これは、28日以内の腹癰、胃腸穿孔又は腹腔内膿瘍の経緯を含む。二次癒合による肉芽形成切開治療を有し、筋膜離解又は感染のエビデンスが無い患者は適格であったが、3週毎の創傷検査を必要とした。

【0217】

活動性出血、又は知られた出血性疾患、血液凝固障害、又は主要血管に關与する腫瘍などの出血のリスクが高い病理学的条件を有する患者。

【0218】

本試験の治療の最初の日の6ヶ月以内の原発脳腫瘍、標準的な医学療法ではコントロールされない発作、何れかの脳転移、又は脳血管発作（CVA、脳卒中）の病歴、一過性脳虚血発作（TIA）又はクモ膜下出血を含む、CNS疾患の身体検査によるエビデンス又は病歴を有する患者。

【0219】

臨床的に重大な心血管疾患を有する患者。これは、収縮期 $>150\text{ mmHg}$ 又は拡張期 $>90\text{ mmHg}$ とされる非コントロール化の高血圧；登録の6ヶ月未満の心筋梗塞又は不安定狭心症；ニューヨーク心臓協会（NYHA）のグレードII以上のうっ血性心不全；薬物療法を必要とする重篤な不整脈を含む。これは、コントロール化心室拍動数を有する無症候性心房細動；CTCAEグレード2以上の末梢血管疾患（at least brief ($<24\text{ hr}$ s) episodes of ischemia managed non-surgically and without permanent deficit）；6ヶ月以内のCVAの記録を含まない。

【0220】

チャイニーズハムスター卵巣細胞産物又は他の組換えヒト又はヒト化抗体に対する知られた過敏症を有する患者。

【0221】

臨床的に有意なタンパク尿を有する患者。尿中タンパク質は尿中タンパク質 - クレアチニン比（UPCR）によってスクリーニングされるべきである。UPCRは、24時間の採尿において排出されたタンパク質の量と直接相関することが分かっている。例えば、Ginsberg JM, et al., Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. N Engl J Med 309:1543-6, 1983; Rodby RA, et al., The urine protein to creatinine ratio as a predictor of 24-hour urine protein excretion in type 1 diabetic patients with nephropathy. The Collaborative Study Group. Am J Kidney Dis 26:904-9, 1995; Schwab SJ, et al., Quantitation of proteinuria by the use of

10

20

30

40

50

f protein-to-creatinine ratios in single urine samples. Arch Intern Med 147:943-4, 1987; Steinhauslin F, & Wauters JP. Quantitation of proteinuria in kidney transplant patients: accuracy of the urinary protein/creatinine ratio. Clin Nephrol 43:110-5, 1995; Wilson DM, & Anderson RL. Protein-osmolality ratio for the quantitative assessment of proteinuria from a random urinalysis sample. Am J Clin Pathol 100:419-24, 1993; and, Zelmanovitz T, et al.,. Proteinuria is still useful for the screening and diagnosis of overt diabetic nephropathy. Diabetes Care 21:1076-9, 1998を参照のこと。具体的に、U P C R の 1 . 0 は、24 時間の採尿における 1 . 0 グラムのタンパク質に相当する。患者は、試験に参加するためには U P C R < 1 . 0 でなければならない。

10

【 0 2 2 2 】

下に示す侵襲的処置が予測される患者：ペバシズマブ/プラセボ治療（サイクル 2）の初日の前 28 日以内の大手術、オープン生検又は大きな外傷。試験の経過中に予測される大手術。これは、限定するものではないが、疾患進行の前の腹部手術（開腹又は腹腔鏡）を含み、例えば、結腸瘻造設又は腸瘻造設回復、インターバル又は二次腫瘍縮小手術、又はセカンドルック手術を含む。ペバシズマブ/プラセボ治療（サイクル 2）の初日の 7 日前以内のコア生検。

G O G パフォーマンスグレードが 3 又は 4 である患者。

妊娠中又は授乳中の患者。

年齢が 18 未満の患者。

20

ペバシズマブを含む、何れかの抗 V E G F 剤で過去に治療を受けた患者。

胃腸管閉塞の臨床症状又は徴候を持ち、非経口水分及び/又は栄養を必要としている患者。

医者の見解において試験への参加を妨げうる他の病歴又は条件を有する患者。

【 0 2 2 3 】

応答及び進行は、固形がんの治療効果判定のためのガイドライン（R E C I S T）委員会により提唱されている国際基準を使用してこの研究において評価されるだろう。例えば、Therasse P, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. J Natl Cancer Inst 92:205-16, 2000を参照のこと。腫瘍病変の最大直径のみにおける変化（一次元測定）が R E C I S T 基準において使用される。

30

【 0 2 2 4 】

進行性疾患の生物学的マーカーとして C A - 1 2 5 : C A - 1 2 5、腫瘍関連糖タンパク質抗原、の血清レベルは上皮性卵巣癌を有する患者の 80% において上昇する。例えば、Bast et al., N. Engl. J. Med. 309:88307, 1983を参照のこと。C A - 1 2 5 は、治療への応答、残存疾患の存在を検証するために、また再発の早期エビデンスとして、多くの場合頻繁にモニターされた。しかしながら、C A - 1 2 5 は完全に腫瘍特異的ではなく、子宮内膜症、子宮筋腫、及び骨盤炎症などの様々な良性症状において上昇し得、これは閉経前の女性において特にあてはまる。更に、C A - 1 2 5 のレベルは、偽陽性及び偽陰性傾向双方として、腫瘍応答と不一致であり得、これらの不正確さにおける生物学的薬剤の影響は不明である。しかしながら、患者及び医師が、術後の C A - 1 2 5 の進行的な上昇を、再発性又は進行性疾患のエビデンスとして解釈するのは標準的慣例であり、C A - 1 2 5 に基づいて治療決定をするだろう。現在のランダム化試験は、C A - 1 2 5 の進行的な上昇に基づく疾患進行を決定するための一般的な式を使用するであろうが（固形腫瘍の管理における他の標準的な定義に加え）、最初の化学療法の完了の後にのみである。例えば、Guppy et al., Oncologists, 7:437043, 2002; Rustin et al., J. Clin. Oncol. 19:4054-7, 2001; Rustin, J. Clin. Oncol., 21:187-93, 2003; Rustin et al., Clin. Cancer Res. 10:3919-26, 2004; and, Rustin et al., J Natl. Cancer Inst., 96:487-8, 2004を参照のこと。In one example, progress based upon serum CA-125 can be determi

40

50

ned only during the period following completion of cytotoxic chemotherapy, if one of the three conditions are met: 1) patients with elevated CA-125 pretreatment and normalization of CA-125 must show evidence of CA-125 greater than or equal to two times the upper normal limited on two occasions at least one week apart; or 2) patients with elevated CA-125 pretreatment, which never normalizes must show evidence of CA-125 greater than or equal to two times the nadir value on two occasions at least one week apart; or 3) patients with CA-125 in the normal range pretreatment must show evidence of CA-125 greater than or equal to two times the upper normal limit on two occasions at least one week apart.

【 0 2 2 5 】

10

結果

試験の結果は、ペバシズマブが、化学療法と組み合わせられ、維持治療として継続された場合、ファーストライン卵巣癌に対して有効であることを実証する。この組合せはPFSを増大するのに有効であった。安全性の予備評価は、ペバシズマブが、過去の研究において示されている有害事象(AE)と関連することを示した。PFSの一次分析は、図2のアーム3における14.1ヶ月と比較して、10.3の無進行生存(ヶ月)中央値を示した(図2のアーム1)。HR(95%CI)は、図2のアームIIIにおける0.717(0.625, 0.824)、片側p値(ログランク)<0.001と比較して、図2のアームIにおいて0.908(0.795, 1.04)、片側p値(ログランク)0.08であった。図5を参照。差は統計的に有意であった。治療レジメンは概して耐性良好であり、有害事象(胃腸穿孔を含む)は過去のペバシズマブ試験と類似した。図3及び図4を参照。これは、この集団における利点を示すための最初の抗血管新生治療である。図6は進行の決定因子としてCA-125を使用することの結果を示す。CA-125は、モノクローナル抗体(OC-125)によって認識される高分子量糖タンパク質における抗原決定基であり、免疫原として卵巣癌細胞株を使用して産生される。CA-125は上皮性卵巣癌及び他の癌を有する患者をモニタするための血清マーカーとして評価されてきた。例えば、引例Gyn Oncol 38:373, 1990; Gyn Oncol 38:181, 1990; Amer J Ob Gyn 160:667, 1989; Amer J Ob Gyn 159:873, 1988; Amer J Ob Gyn 159:341, 1988; Ob Gyn 72:159, 1988; and, Gyn Oncol 36:299, 1990及び本明細書を参照のこと。図7はアームI対アームIIIのサブグループ分析を示す。

20

30

表 1:ベースライン臨床特性

特性	アーム I CP (n=625)	アーム II CP + BEV (n=625)	アーム III CP + BEV → BEV (n=623)
年齢中央値、年(範囲)	60 (25-86)	60 (24-88)	60 (22-89)
人種, n (%)			
非ヒスパニック系の白人	526 (84)	519 (83)	521 (84)
アジア人	41 (7)	37 (6)	39 (6)
非ヒスパニック系の黒人	25 (4)	28 (5)	27 (4)
ヒスパニック	21 (3)	28 (5)	25 (4)
他、特定	8 (1)	5 (<1)	4 (<1)
GOG PS, n (%)			
0	311 (50)	315 (50)	305 (49)
1	272 (44)	270 (43)	267 (43)
2	42 (7)	40 (6)	51 (8)

40

表 2:ベースライン外科病理学的特性

特性, n (%)	アーム I CP (n=625)	アーム II CP + BEV (n=625)	アーム III CP + BEV → BEV (n=623)
ステージ/残存サイ ズ			
III 最適(肉眼)	218 (35)	205 (33)	216 (35)
III 準最適	254 (41)	256 (41)	242 (39)
IV	153 (25)	164 (26)	165 (27)
組織学			
漿液性	543 (87)	523 (84)	525 (84)
類内膜	20 (3)	15 (2)	25 (4)
明細胞	11 (2)	23 (4)	18 (3)
粘液性	8 (1)	5 (<1)	8 (1)
腫瘍グレード			
3a	412 (66)	435 (70)	430 (69)
2	94 (15)	77 (12)	92 (15)
1	33 (5)	28 (4)	16 (3)
非特定/未決 定	86 (14)	85 (14)	85 (14)

10

20

【 0 2 2 6 】

実施例 2 . 上皮性卵巣癌を有する患者における、標準化学療法（カルボプラチン及びパクリタキセル）にベバシズマブを加える、ランダム化 2 アーム多施設婦人科癌群間試験

結果を、カルボプラチン及びパクリタキセルを用いる標準化学療法にベバシズマブを加えることの安全性及び効果を評価するために、第 I I I 相ランダム化試験（I C O N 7）から得た。主要エンドポイントは、新たに診断され組織学的に確認された高リスク International Federation of Gynaecology and Obstetrics（F I G O）ステージ I 及び I I a（グレード 3 又は明細胞癌のみ）及び F I G O ステージ I I b - I V（全グレード及び全組織型）の上皮性卵巣癌、卵管癌又は原発腹膜癌を有し、初回手術（患者が F I G O ステージ I V 疾患を有する場合、デバルキング腫瘍縮小手術又は生検）を受け、疾患進行の前に腫瘍縮小手術が検討されないと思われた女性において、標準化学療法のみと比較した場合、標準化学療法へのベバシズマブの追加が無進行生存（P F S）を改善するか決定することであった。二次エンドポイントは、全生存（O S）、奏効率、奏功期間、生物学的無進行期間（増加 C A 1 2 5 又は P F I B I O によって決定される）、安全性及び生活の質を含む。I C O N 7 は、標準治療（カルボプラチン及びパクリタキセル）と、パクリタキセル及びカルボプラチンとの組合せにおいてベバシズマブを組み入れる一調査アームとを比較する 2 アームランダム化臨床試験であった（図 8 を参照）。全体で 1 5 2 8 人の適格な女性が試験に参加した。

30

40

【 0 2 2 7 】

ベバシズマブはマウス抗ヒト V E G F モノクローナル抗体の組換えヒト化型であり、r h u M A b V E G F と呼ばれる。ベバシズマブは、固形腫瘍を有する患者において腫瘍増殖阻害を誘導する単剤としての使用、及び転移性固形腫瘍を有する患者において疾患進行までの時間を遅延させるための細胞傷害性化学療法との組合せにおける使用に対し、臨床開発に進んだ。例えば、Presta LG, et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. Cancer Res 57:4593-9, 1997 を参照のこと。

【 0 2 2 8 】

患者の選択

50

ICON 7 は、新たに診断され組織学的に確認された高リスクFIGOステージⅠ及びⅠⅠa（グレード3又は明細胞癌のみ）及びFIGOステージⅠⅠb - ⅠⅠⅤ（全グレード及び全組織型）の上皮性卵巣癌、卵管癌又は原発腹膜癌を有し、初回手術（患者がFIGOステージⅠⅠⅤ疾患を有する場合、デバルキング腫瘍縮小手術又は生検）を受け、疾患進行の前に腫瘍縮小手術が検討されないと思われる患者を含んだ。測定可能及び測定不能疾患の患者が適格である。下に記載する全ての選択基準を満たし、除外基準の何れにも該当しない場合に、患者はこの治験への登録に適格であるとみなされた：

患者選択基準：

- ・年齢 18歳の女性
- ・疾患部位からのコア生検を最低必要条件とする（細胞診断のみは診断には不十分）組織学的に確認された
- ・上皮性卵巣癌
- ・原発腹膜癌（漿液性乳頭状の組織学的タイプでなければならない）又は
- ・卵管癌
- ・及び表3の基準を満たすこと

明細胞癌の何れかのステージである患者は、このサブタイプに伴う予後不良により適格であった。手術のみで治療された早期の上皮性卵巣癌又は卵管癌を過去に有する患者は、更なるインターバル腫瘍縮小治療が疾患進行の前に予定されないならば、腹骨盤再発の診断の時点で適格であった。

この治験の目的に対し、明細胞癌は、50%の明細胞要素が存在するか、又は地域の病理学者によって明細胞癌として報告され決定された。

表 3:組織学適格基準

FIGO ステージ	適格		
	グレード 1	グレード 2	グレード 3
Ia	No ^E	No ^E	Yes
Ib	No ^E	No ^E	Yes
Ic	No ^E	No ^E	Yes
IIa	No ^E	No ^E	Yes
IIb	Yes	Yes	Yes
IIc	Yes	Yes	Yes
III	Yes	Yes	Yes
IV	Yes	Yes	Yes

グレードは1(高分化)、2(中分化)、3(低分化)を指す。

E= FIGO ステージを問わず適格である明細胞癌を有する患者を除く

・患者は、卵巣癌の処置に経験がある外科医によって、GCIG Conference Consensus Statementに従い、最大の腫瘍縮小術を目的として、既にデバルキング手術を受けているべきであった。疾患進行の前に予定されたデバルキング手術はあってはならない。

・最初のデバルキング手術が適切でなかったステージⅠⅠⅠ及びⅠⅠⅤの患者も適格であったが、ただし

- ・患者は組織学的に診断され
 - ・疾患進行の前のデバルキング手術が予測されなかったとする。
 - ・患者は、腫瘍縮小術の8週以内に全身治療の開始が可能であるべきであった。
- 患者が調査アームにランダムに割り付けられた場合、調査員が手術の4週以内に化学療法を開始することを決定した場合、ペバシズマブの初回投与は省かれなければならない。

・患者が2つの手術、例えば良性嚢胞と考えられるものを除去するための最初の

手術、その後の卵巣腫瘍の公式なステージ分類及び最大デバルキングのための二次婦人科腫瘍手術を受けた場合、二次手術の日付が手術の日として記録された；最初の全身治療はこの日付の8週間以内に開始された。診断の日付は、卵巣癌が診断された最初の手術の日付として記録された。

- ・ E C O G パフォーマンスステータス (P S) 0 - 2
- ・ 平均余命 > 1 2 週
- ・ 適切な骨髄機能 (全パラメーターを術後血液において検査 / 算出した) (ランダム化前 2 8 日以内)
 - ・ 絶対好中球数 (A N C) $1.5 \times 10^9 / l$
 - ・ 血小板 (P L T) $100 \times 10^9 / l$
 - ・ ヘモグロビン (H b) $9 g / d l$ (輸血後でありうる)
- ・ 適切な凝固パラメーター (全パラメーターを術後血液において検査 / 算出した) (ランダム化前 2 8 日以内)
 - ・ 活性化プロトロンビン時間 (A P T T) $1.5 \times U L N$; 又は、
 - ・ 国際標準化比 (I N R) 1.5 (患者がワルファリン治療を受けている場合、 I N R の測定は必須であった)
- ・ 適切な肝機能 (全パラメーターを術後血液において検査 / 算出した) (ランダム化前 2 8 日以内)
 - ・ 血清ビリルビン (B R) $1.5 \times U L N$
 - ・ 血清ビリルビン (B R) $2.5 \times U L N$
- ・ タンパク尿の尿ディップスティック < 2 + 。尿ディップスティックが 2 + の場合、2 4 時間の尿は、2 4 時間中に $1 g$ のタンパク質を示す。
- ・ 血清クレアチニン $2.0 m g / d l$ 又は $177 \mu m o l / l$ として定義される適切な腎機能

【 0 2 2 9 】

患者除外基準：

- ・ 悪性ミューラー管混合腫瘍を含む非上皮性卵巣癌
- ・ 境界型腫瘍 (低悪性度の腫瘍)
- ・ 予定された腹腔内細胞傷害性化学療法
- ・ 卵巣癌に対する過去の全身性抗癌治療 (例えば化学療法、モノクローナル抗体治療、チロシンキナーゼ阻害剤治療又はホルモン療法)
- ・ ベバシズマブの予定初回投与前 4 週以内の手術 (オープン生検を含む) (化学療法の初回サイクルからベバシズマブが省かれることを考慮に入れる)
- ・ 研究治療の開始から 5 8 週 (5 4 週間の治療 + ベバシズマブクリアランスのための更なる 4 週間) の期間中の何れかの予定された手術
- ・ 非コントロール化高血圧 (患者の血圧測定を、5 分の安静後、座位において記録した) (抗高血圧治療にもかかわらず $B P > 150 / 100 m m H g$ の持続的上昇)
- ・ 腹部又は骨盤への何れかの過去の放射線治療
- ・ ベバシズマブの潜在初回投与前 4 週間中における重大な外傷
- ・ 脳転移又は脊髄圧迫の病歴又は臨床上の疑い。脳転移が疑われる場合、脳の C T / M R I が必須である (ランダム化の前 4 週間以内) 。脊髄圧迫が疑われる場合、脊髄の M R I が必須である (ランダム化の前 4 週間以内)
- ・ 標準的な医学治療で適切に治療された場合を除き、神経学的検査における中枢神経系 (C N S) の病歴又はエビデンス、例えば非コントロール化発作。
- ・ ランダム化の前 6 ヶ月以内の過去の脳血管障害 (C V A) 、一過性脳虚血発作 (T I A) 又はくも膜下出血 (S A H)
- ・ 研究期間またその後少なくとも 6 ヶ月の間、適切な避妊 (経口避妊薬、子宮内避妊器具又は殺精子ゼリー又は手術による妊孕力の喪失と組み合わせた避妊のバリア法) の使用を好まない妊娠の可能性がある生殖能のある女性
- ・ 妊娠中又は授乳中の女性

- ・マウス C A 1 2 5 抗体への過去の曝露
- ・この治験に参加する前 3 0 日以内における何れかのほかの治験薬を用いた治療又は、別の臨床治験への参加
- ・下に示すような適切に治療された子宮頸部の上皮内癌及び / 又は基底細胞皮膚癌及び / 又は早期子宮内膜癌を除く、ランダム化の前 5 年以内の卵巣癌以外の悪性腫瘍。患者は、他の悪性腫瘍、例えば乳癌又は結腸直腸癌に対し過去にアジュバント化学療法を受けていてもよいが、5 年以上前に診断され、その後の再発のエビデンスがないとする。
- ・同時原発子宮内膜癌、又は原発子宮内膜癌の既往歴を有する患者は除外されたが、子宮内膜癌を記述する以下の基準の全てを満たす場合を除く
 - ・ステージ I b
 - ・表在性子宮筋層浸潤以下
 - ・リンパ管血管浸潤なし
 - ・非低分化 (すなわち、グレード 3 又は漿液性乳頭状又は明細胞ではない)
- ・ペバシズマブ及びその賦形剤又は化学療法 (cremophor を含む) に対する知られた過敏症
- ・非治癒創傷、潰瘍又は骨折二次癒合による肉芽形成切開治癒を有し、筋膜離解又は感染のエビデンスが無い患者は適格であったが、3 週毎の創傷検査を必要とした
- ・血栓疾患又は出血性疾患のエビデンスの記録
- ・臨床的に深刻な心血管疾患であり、
 - ・ランダム化の 6 ヶ月以内の心筋梗塞又は不安定狭心症
 - ・New York Heart Association (NYHA) グレード 2 のうっ血性心不全 (C H F)
- ・薬物治療にもかかわらずコントロール不良な心不整脈 (拍数コントロールされた心房細動を有する患者は適格とした)
- ・グレード 3 の末梢血管疾患 (すなわち、症候性であり、日常生活動作 [A D L] を干渉し、修復又は修正を必要とする) を含む
- ・現在又は最近 (サイクル 1 の治療前 1 0 日以内) のアスピリンの慢性使用 (> 3 2 5 m g / 日) (低用量アスピリン (< 3 2 5 m g / 日) はペバシズマブ + 化学療法を使用した場合、グレード 3 - 4 の出血のリスクを増加しないようであり、従って、動脈血栓塞栓イベントのリスクにある患者における予防的低用量アスピリンの使用は、この治験プロトコルにおいて禁止されなかった)
- ・現在又は最近 (サイクル 1 の治療前 1 0 日以内) の、治療目的のための経口又は非経口抗凝固剤又は血栓溶解剤の完全用量使用 (ライン開存の場合を除き、この場合は I N R は 1 . 5 未満に維持されなければならない)
- ・先在感覚性又は運動性ニューロパシー グレード 2
- ・治験薬の使用を禁忌させるか又は患者を治療関連合併症に対して高リスクにおく疾患又は状態の合理的な疑いを与える、何れかの他の疾患、代謝機能不全、身体検査所見又は検査所見のエビデンス

【 0 2 3 0 】

R E C I S T 基準を使用する測定を用いた C T 又は M R I スキャンによる腫瘍評価を、調査アームの患者に対し、3 及び 6 サイクルの化学療法後、及び一年目の 9 ヶ月及び 1 2 ヶ月あたり、又は治療の 1 2 サイクル目及び 1 8 サイクル目の後に実施した。治験の 2 年目及び 3 年目では腫瘍評価を 6 ヶ月毎に、その後は臨床的に必要であれば繰り返した。これらのスキャンを、患者が最適又は準最適にデバルキングされたかにかかわらず、また、ベースラインスキャンにおける測定可能な疾患の有無にかかわらず実施した。

【 0 2 3 1 】

全化学療法サイクルの開始時に、及び治験の 1 年目の間は 6 週毎に、患者を臨床評価し、C A 1 2 5 を測定した。治験の 2 年目及び 3 年目には、3 ヶ月毎に患者を評価し、C A 1 2 5 を測定した。4 年目及び 5 年目には、6 ヶ月毎に患者を臨床評価し、C A 1 2 5 を測定した。その後は、評価は年に 1 回であった。C A 1 2 5 基準のみに基づく進

10

20

30

40

50

行をＣＴスキャンを用いて検証した。これが陰性であった場合、それを、疑わしい臨床的進行の時点で繰り返した。

【 0 2 3 2 】

プロトコルのエビデンスが疾患進行を決定した後、患者を、治験における彼らのフォローアップの最初の５年間、６ヶ月毎に、生存及び卵巣癌のその後の治療について追跡した。

【 0 2 3 3 】

患者の安全性をモニタするために、定期検診及び定期血液検査を治療の間実施した。生活の質（ＱｏＬ）を、ＥＯＲＴＣＱＬＱＣ－３０＋ＯＶ－２８及びＥＱ－５Ｄ調査票を用いて、全ての化学療法サイクルの開始時に、最初の年の終わりまでは６週毎に、そして進行に対する治療が開始するまで、又は２年目の終わりまでは３ヶ月毎に評価した。更なるＱｏＬ用紙を、ランダム化の３年後にも生存している全患者によって作成した。有害事象及び医療資源の使用を、試験治療及びフォローアップ期の間、記録した。

【 0 2 3 4 】

結果

研究の結果は、ベバシズマブが、化学療法と併用され、そして維持治療として全部で１２ヶ月の継続された場合、ファーストライン卵巣癌に効果的であることを示す。この併用は無進行生存（ＰＦＳ）を増加させるのに効果的であった。ＰＦＳの主要分析は、化学療法アーム（ＣＰ）において１６．０ヶ月のＰＦＳ中央値、及び化学療法＋ベバシズマブアーム（ＣＰＢ７．５＋）において１８．３ヶ月の中央値、０．００１０のｐ値（ログランク検定）を示した。ハザード比（ＨＲ）（９５％ＣＩ）は０．７９（０．６８； ０．９１）であった。差は有意であった。ＰＦＳ分析を図９及び１０に概要する。

【 0 2 3 5 】

ベースライン特性は次の通りであった：

表 4:

ベースライン特性－人口統計

	CP (N=764)	CPB7.5+ (N=764)
年齢: 平均 (SD)	56.7 (10.6)	56.5 (10.4)
人種: 白人 (%)	737 (96%)	730 (96%)
パフォーマンスステータス (ECOG)		
0 (%)	333 (44%)	307 (41%)
1 (%)	375 (49%)	391 (52%)
2 (%)	54 (7%)	55 (7%)

表 5:

ベースライン特性 - 卵巣癌の病歴

	CP (N=764)	CPB7.5+ (N=764)
癌の起源		
卵巣 (上皮性) (%)	667 (87%)	673 (88%)
卵管 (%)	29 (4%)	27 (4%)
原発腹膜 (%)	56 (7%)	50 (7%)
複数位置 (%)	12 (2%)	14 (2%)
FIGO ステージ分類		
I (%)	65 (8%)	54 (7%)
II (%)	80 (11%)	83 (11%)
III (%)	522 (68%)	523 (68%)
IV (%)	97 (13%)	104 (14%)

10

表 6:

ベースライン特性 - 卵巣癌の病歴

	CP (N=764)	CPB7.5+ (N=764)
分化の程度		
グレード 1 (%)	56 (7%)	41 (5%)
グレード 2 (%)	142 (19%)	175 (23%)
グレード 3 (%)	556 (74%)	538 (71%)
組織学サブタイプ		
漿液性 (%)	529 (69%)	525 (69%)
粘液性 (%)	15 (2%)	19 (2%)
類内膜 (%)	57 (7%)	60 (8%)
明細胞 (%)	60 (8%)	67 (9%)
他 (%)	55 (7%)	53 (7%)
混合 (%)	48 (6%)	40 (5%)

20

30

40

表 7:
ベースライン特性 - 卵巣癌の手術

	CP (N=764)	CPB7.5+ (N=764)
デバルキング手術の実施:Yes (%)	747 (98%)	751 (98%)
デバルキング手術のアウトカム:最適 (%)	552 (74%)	559 (74%)
手術と最初の治験治療の間の時間 [日]:平均 (SD)	35.6 (10.2)	35.9 (9.9)

10

ベバシズマブに対する有害事象の予備評価は過去の研究と一致した。

表 8:有害事象(AE)の概要

	CP (N=763)	CPB7.5+ (N=746)
重篤な AE の患者	154 (20.2%)	279 (37.4%)
グレード 3/4/5 の AE の患者	385 (50.5%)	479 (64.2%)
何れかの治療を中断した患者	98 (12.8%)	293 (39.3%)
AE により何れかの治療を中断した患者	68 (8.9%)	162 (21.7%)
全死亡	131 (17.2%)	107 (14.3%)
全関連死亡	1 (0.1%)	5 (0.7%)
進行に起因しない死亡	16 (2.1%)	19 (2.5%)

20

【 0 2 3 6 】

30

実施例 3 . 白金感受性再発性卵巣癌、原発腹膜癌、又は卵管癌を有する患者における、カルボプラチン及びゲムシタピン + ベバシズマブの第 I I I 相多施設ランダム化盲検プラセボコントロール治験

上皮性卵巣癌 (E O C) 及びその組織学的及び臨床的に同等なもの、原発腹膜癌 (P P C) 及び卵管癌は米国で年におよそ 2 5 , 0 0 0 ケース生じ、年におよそ 1 4 , 0 0 0 の死者をだす。この疾患は初期においては無症候性の傾向があり、患者の大部分は初期に進行性 (ステージ I I I 又は I V) 疾患を有する。多くの化学療法剤、特にタキサン及び白金化合物に対する E O C 、 P P C 、 及び卵管癌の感受性にもかかわらず、ステージ I I I 又は I V の疾患を有する患者の 2 0 % - 3 0 % のみが 5 年後生存しているだろう。白金感受性再発性癌を有する患者 (白金ベース化学療法レジメンの完了から 6 ヶ月以上の疾患の再発として定義される) は、化学療法に対して高い初期奏効率を有するが、しかしながら、これらの患者は治療可能とされていない。最近になって、米国食品医薬品局 (F D A) は、再発性白金感受性疾患に対する、カルボプラチンとの組合せにおけるゲムシタピン化学療法を承認した。カルボプラチン及びゲムシタピンは、カルボプラチンのみと比較して、白金感受性疾患を有する患者において統計的に有意な無進行生存 (P F S) をもたらした。例えば、Pfisterer, Plante M, Vergote I, et al. Gemcitabine plus Carboplatin compared with carboplatin in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer: an intergroup trial of the AGO-OVAR, the NCIC CTG, and the EORTC GCG. J. Clin Oncol, 2006;24:4699-707を参照のこと。

40

【 0 2 3 7 】

50

EOCの発生及びその後の進行双方において、血管新生が重要な要因であると思われる。ヨネダ氏と同僚(1998)は、EOCの異種移植モデルにおいて、腫瘍増殖率が血管密度に正比例し、悪性腹水の発生、EOCの予後不良に伴う特性、が血管内皮増殖因子(VEGF)の発現を伴うことを実証した。例えば、Yoneda J, Kuniyasu H, Crispens MA, et al. Expression of angiogenesis-related genes and progression of human ovarian carcinomas in nude mice. J Natl Cancer Inst. 1998 Mar 18;90:44754を参照のこと。他の研究は、EOCにおけるVEGF発現と微小血管密度との関連を示した。更に、研究は、EOCにおける免疫組織化学によって、CD31(血管内皮のマーカー)の発現密度が生存度に逆相関することを示した。

【0238】

本実施例は、白金感受性再発性上皮性卵巣癌、原発腹膜癌、又は卵管癌を有する女性における、カルボプラチン(曲線下面積[AUC]4、1日目、21日毎)とゲムシタピン(1000 mg/m²、1日目及び8日目、21日毎)との組合せにおいて投与されるペバシズマブ(15 mg/kg、1日目、21日毎)の効果及び安全性を評価するプラセボコントロールのランダム化多施設第III相試験を記述する。約480の患者がおおよそ2.5年の期間にわたって登録した。患者を、カルボプラチン及びゲムシタピン+プラセボとカルボプラチン及びゲムシタピン+ペバシズマブのどちらかにランダムに分けた。更に、ランダム化時に患者を、白金感受性疾患(最後の白金ベース治療から6-12ヶ月の再発対最後の白金ベース治療から>12ヶ月の再発)及び再発性上皮性卵巣癌、原発腹膜癌、又は卵管癌に対する腫瘍縮小術(手術の実施対非実施)によって層別化した

患者	484人の女性を2つの治療アームの何れかに1:1にランダム化した:		
		相A(サイクル1-6; サイクル=3週間)	相B(疾患進行まで=3 週間)
	アーム1	化学療法+ プラセボ	プラセボ
	アーム2	アバスチン+ 化学療法	アバスチン

【0239】

研究は下に示す2つのアームから構成された。図11も参照のこと。

アーム1: カルボプラチン(AUC 4 IV)及びゲムシタピン(1000 mg/m²)化学療法(6サイクル~20サイクル)、次いでプラセボ

アーム2: カルボプラチン及びゲムシタピン化学療法(6サイクル~10サイクル)との組合せにおけるアバスチン(15 mg/kgを6サイクル~10サイクル)、次いで疾患進行アバスチンのみ(15 mg/kg)の使用を継続

カルボプラチンの用量を、推定糸球体濾過率(GFR)を用いCalvertの式に従い、濃度×時間による目標AUCに達するように算出した; 例えば、ここの目的に対して、GFRはクレアチニンクリアランスに等しいと考えられる。

カルボプラチン(AUC)投与に対するCalvertの式

総投与量(mg) = 目標AUC(mg/mL/分) × [GFR(mL/分) 25]

クレアチニンクリアランスは施設ガイドラインに従って算出可能である。

【0240】

患者の選択

白金ベース化学療法から>6ヶ月で再発した(最初の再発)卵巣上皮癌、PPC、又は卵管癌を有する患者は、この研究に適格だろう。他の具体的な選択及び除外基準を下に挙げる。

患者選択基準:

研究への参加に適格となるためには患者は次の基準を満たさなければならない:

- 署名されたインフォームド Consent 用紙
- 年齢 18歳
- 白金ベース化学療法の>6ヶ月後に再発した組織学的に裏付けされた卵巣癌、原発腹

膜癌、又は卵管癌

- ・ 患者は再発性上皮性卵巣癌、原発腹膜癌、又は卵管癌を有していなければならない。これは、上皮性卵巣癌、原発腹膜癌、又は卵管癌の最初の再発でなければならない。
- ・ 適格な組織学的細胞タイプの例は、漿液性腺癌、類内膜腺癌、粘液性腺癌、未分化癌、明細胞腺癌、移行上皮癌、悪性ブレンナー腫瘍、又は特定不能の腺癌を含む。
- ・ 再発環境における過去の化学療法なし
- ・ 少なくとも一次元において正確に測定可能な少なくとも一つの病変を有する改訂 R E C I S T による測定可能疾患（最長次元を記録）
- ・ 各測定可能病変は、一般的な技術、C T 及び磁気共鳴画像法（M R I）によって測定される場合は 20 mm、スパイラル C T によって測定される場合は 10 mm でなければならない。
- ・ 過去の放射線療法又は手術から > 28 日経過し、回復している
- ・ E C O G パフォーマンスステータス 0 又は 1
- ・ 避妊の効果的な手段の使用（妊娠の可能性のある女性に対して）
- ・ 研究及び追跡調査に従う能力

【0241】

患者除外基準：

次の基準の何れかを満たす患者は研究への参加から除外されるだろう。

- ・ 疾患特異的除外
 - ・ 再発性卵巣癌、原発腹膜癌、又は卵管癌に対する過去の化学療法治療：ホルモン療法（すなわち、プロゲステロン、エストロゲン、抗エストロゲン、アロマターゼ阻害剤）は過去の化学療法レジメンとみなされないだろう。同時抗新生物抗ホルモン療法（タモキシフェン、アロマターゼ阻害剤等を含む）は、研究治療に参加する患者には許可されない。低用量（生理的）エストロゲンホルモン補充療法（H R T）は為されうる。
 - ・ 腹フィステル、胃腸穿孔、又は腹腔内膿瘍の記録
 - ・ G I 閉塞の臨床症状又は徴候を持つか、非経口水分、非経口栄養、又は経管栄養を必要としている患者
 - ・ 穿刺又は最近の手術によって説明されないフリーエアのエビデンスを有する患者

【0242】

- ・ 一般的な医学的除外
 - ・ < 12 週の平均余命
 - ・ 現在の、最近（サイクル 1、1 日目の 4 週間以内）の、又は予定された実験的薬剤研究への参加
 - ・ スクリーニング臨床検査値
 - ・ 顆粒球数 < 1500 / μ L
 - ・ 血小板数 < 100,000 / μ L
 - ・ ヘモグロビン < 8.5 g / d L（ヘモグロビンは、輸血又はエリスロポエチン又は他の承認された造血成長因子によって補助されうる）
 - ・ 血清ビリルビン > 2.0 \times 正常値上限（U L N）
 - ・ アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸トランスアミナーゼ（A S T）、及び / 又はアラントランスアミナーゼ（A L T）> 2.5 \times U L N（肝転移がある患者は A S T、A L T > 5 \times U L N）
 - ・ 血清クレアチニン 1.6
 - ・ 国際標準化比（I N R）> 1.5 及び / 又は活性化部分トロンボプラスチン時間（a P T T）> 1.5 \times U L N（抗凝固治療を受けている患者は除く）
 - ・ 完全用量のワルファリンの患者に対しては、範囲内 I N R（通常、2 及び 3 の間）及び P T T < 1.2 \times U L N
 - ・ サイクル 1、1 日目の 5 年以内の他の悪性腫瘍の病歴、適切に制御された皮膚の基底細胞癌又は扁平上皮癌又は子宮頸部の上皮内癌など、無視できる転移又は死の危険

性の腫瘍を除く

・ 治験薬の使用を禁忌させるか、結果の解釈に影響するか又は患者を治療合併症に対して高リスクにしうる疾患又は状態の合理的な疑いを与える、何れかの他の疾患、代謝機能不全、身体検査所見又は検査所見

【 0 2 4 3 】

・ ベバシズマブ特異的除外

・ 全身性ベバシズマブ（アバスチン（登録商標））又は他の V E G F 又は V E G F 受容体標的薬剤の使用の記録

・ コントロール不良の高血圧（高血圧治療薬の使用において収縮期血圧 > 1 5 0 mm H g 及び / 又は拡張期血圧 > 1 0 0 mm H g として定義される）

・ 高血圧性緊急症又は高血圧性脳症の前病歴

・ ニューヨーク心臓協会クラス I I 以上の C H F

・ サイクル 1、1 日目（最初のベバシズマブ / プラセボ注入の日）の前 6 ヶ月以内の心筋梗塞又は不安定狭心症の記録

・ 研究への登録の前 6 ヶ月以内の脳卒中又は T I A の記録

・ 治療された脳転移を除く知られた C N S 疾患

・ 治療された脳転移とは、治療後に進行又は出血のエビデンスが無く、デキサメタゾンの継続使用の必要が無いものとして定義され、スクリーニング期間に臨床検査及び脳画像診断（M R I 又は C T）によって確認される。これらの転移は、脳幹、中脳、橋、髄質、又は軟髄膜に位置してはならない。脳転移の治療は、全脳放射線治療（W B R T）、放射線外科（ガンマナイフ、L I N A C、又は均等なもの）又は医師によって適切だと思われる組合せを含む。1 日目の前 3 ヶ月以内に実施される、神経外科切除術によって処置される C N S 転移又は脳生検を有する患者は除外されるだろう。

・ 重大な血管疾患の記録（例えば、大動脈瘤、大動脈解離）

・ サイクル 1、1 日目の前 6 ヶ月以内の最近の末梢動脈血栓症

・ サイクル 1、1 日目の前 1 ヶ月以内の咯血の記録（エピソードあたり 1 / 2 ティースプーンの鮮血）

・ 出血傾向又は重大な凝固障害のエビデンス（治療的抗凝固がない場合において）

・ サイクル 1、1 日目の前 2 8 日以内の大手術、オープン生検、又は重大な外傷、又は研究の経過中に予想される大手術の必要性

・ サイクル 1、1 日目の前 7 日以内の、血管アクセスデバイスの設置を除く、コア生検又は他の小手術

・ 重篤な、非治療性創傷；活動性潰瘍；又は未治療骨折

・ スクリーニング時の U P C R 1 . 0 によって示されるスクリーニング時のタンパク尿

・ ベバシズマブの何れかの成分に対する知られた過敏症

・ 妊娠（妊娠検査陽性）又は授乳

・ 妊娠の可能性のある患者は、効果的な避妊手段を使用しなければならない。

【 0 2 4 4 】

この試験、O C E A N S は、実施例 1（G O G 0 2 1 8）及び実施例 2（I C O N 7）とは異なる患者集団を登録した；過去に既治療の白金感受性卵巣癌を有する患者はこの試験に適格であった。卵巣癌を有する女性は、ファーストラインの治療として白金ベースの化学療法を受けていてもよい。白金ベース化学療法の最後の投与から疾患の回帰（再発）の間の時間は、次のラインの治療において使用される化学療法の選択の決定を支援するために利用される。疾患が最初の白金ベース化学療法の完了の 6 ヶ月より後に再発した場合、女性は「白金感受性」卵巣癌を有する。卵巣癌は、最初の白金ベース化学療法の完了の 6 ヶ月以内に再発した場合、「白金抵抗性」とみなされる。

【 0 2 4 5 】

結果

卵巣癌を有する女性におけるペバシズマブ + 化学療法のこの第 I I I 相試験は、その腫瘍エンドポイントを満した。試験の目的は、過去に既治療の卵巣癌を有する女性における、化学療法のみと比較した、標準化学療法へのペバシズマブの追加、その後の疾患進行までのペバシズマブのみの延長使用の効果及び安全性を評価することであった。試験は、ペバシズマブ + 化学療法、その後の疾患進行までのペバシズマブのみの継続使用が、化学療法のみと比較して、過去に既治療の（再発性）白金感受性卵巣癌を有する女性が疾患を悪化させることなく生存した時間（無進行生存又は P F S ）を増加したことを示した。P F S は、ランダム化から、調査員によって決定される疾患進行か又は何れかの原因による死のいずれか先に生じた方までの時間として定義される。PFSの主要エンドポイントは試験調査員によって評価された。測定可能疾患は改訂 R E C I S T (Therasse et al. 2000) を使用して調査員に評価され、例えば試験を通して9週毎に行われた。例えば、Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauser EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. J Natl Cancer Inst 2000;92:205?1を参照のこと。2次エンドポイントは、全生存（O S ）、奏効率、奏功期間及び安全性を含んだ。新しい安全性の発見は観察されず、有害事象はペバシズマブの過去の主たる治験において観察されたものと一致した。

10

【図 1】

ランダム化(サイクル=21日):

アームI (標準化学療法)

フェーズ A 化学療法 * 1日目、21日毎×6サイクル
プラセボ (ペバシズマブの代わり) ** 1日目、21日毎、サイクル2から開始×5サイクル

↓

再登録

↓

アームII (併用ペバシズマブ)

フェーズ A 化学療法 * 1日目、21日毎×6サイクル
ペバシズマブ ** 1日目、21日毎、サイクル2から開始×5サイクル

↓

再登録

↓

アームIII (延長ペバシズマブ)

フェーズ A 化学療法 * 1日目、21日毎×6サイクル
ペバシズマブ ** 1日目、21日毎、サイクル2から開始×5サイクル

↓

再登録

↓

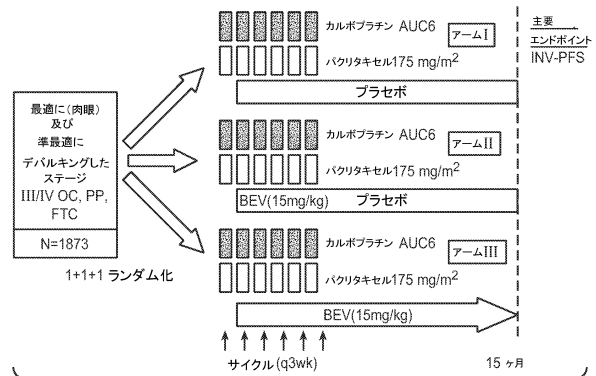
フェーズ B ペバシズマブ ** 1日目、21日毎、サイクル7～22

* 3時間にわたりパクリタキセル175mg/m² IV、その後30分にわたりカルボプラチン AUC 6 IV
サイクル1の1日目～サイクル6まで(記: 1時間にわたるドセタキセル 75mg/m²
がパクリタキセルに代わりうる)

** ペバシズマブ/プラセボ 15mg/kg IV、各サイクルの1日目、サイクル2から開始

FIG. 1

【図 2】



【図 3】

選択有害事象
サイクル2及び最後の治療の30日後の間に開始

有害事象 (限定される場合グレード), n (%)	アーム I CP (n=601)	アーム II CP + BEV (n=607)	アーム III CP + BEV → BEV (n=608)
GI 害事 ^a (グレード≥2)	7 (1.2)	17 (2.8)	16 (2.6)
高血圧 (グレード≥3)	10 (1.7) ^b	36 (5.9) ^b	63 (10.4) ^b
蛋白尿 (グレード≥3)	4 (0.7)	4 (0.7)	10 (1.6)
Pain (グレード≥3)	55 (9.2) ^b	73 (12.0) ^b	83 (13.7) ^b
好中球減少 (グレード≥4)	347 (57.7)	384 (63.3)	385 (63.3)
発熱性好中球減少	21 (3.5)	30 (4.9)	26 (4.3)
静脈血栓塞栓イベント	35 (5.8)	32 (5.3)	41 (6.7)
動脈血栓塞栓イベント	5 (0.8)	4 (0.7)	4 (0.7)
CNS 出血	0	0	2 (0.3)
非 CNS 出血 (グレード≥3)	5 (0.8)	8 (1.3)	13 (2.1)
RPLS	0	1 (0.2)	1 (0.2)

RPLS = 可逆性後白質脳症候群
^a穿孔 / フィステル / 壊死 / 漏出
^bp<0.05

FIG. 3

【図 4】

治療フェーズによる選択有害事象

	アーム I CP (n=601)	アーム II CP + BEV (n=607)	アーム III CP + BEV → BEV (n=608)
選択有害事象, n (制限される場合グレード)			
患者, n			
サイクル, n			
治療フェーズ ^a			
グレード≥3			
GI 害事 ^a (グレード≥2)	6	16	15
高血圧 (グレード≥3)	3	24	25
蛋白尿 (グレード≥3)	2	4	0
Pain (グレード≥3)	28	42	46
好中球減少 (グレード≥4)	345	382	385
発熱性好中球減少	21	30	26
静脈血栓塞栓イベント	26	27	27
動脈血栓塞栓イベント	4	1	3
CNS 出血	0	0	0
非-CNS 出血 (グレード≥3)	3	8	10
RPLS	0	1	0

^aOnset within 30 days of last treatment
^aPerforation/fistula/necrosis/leak

FIG. 4

【図 5】

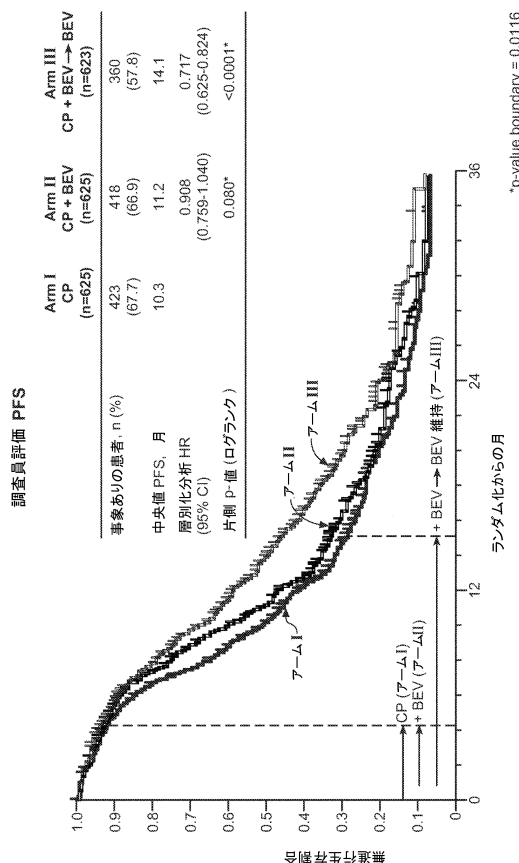


FIG. 5

【図 6】

進行の決定因子として CA-125 の使用の結果

	Protocol-defined PFS Analysis	CA-125-censored PFS Analysis
中央値 PFS, 月		
CP (アーム I)	10.3	12.0
CP + BEV → BEV (アーム III)	14.1	18.0
中央値 PFS における絶対差 (月)	3.8	6.0
ハザード比	0.717	0.645
Censored for CA-125, %		
CP (アーム I)	0	20
CP + BEV → BEV (アーム III)	0	29

FIG. 6

【図 7】

サブグループ分析
CP + BEV → BEV (アーム III) vs CP (アーム I)

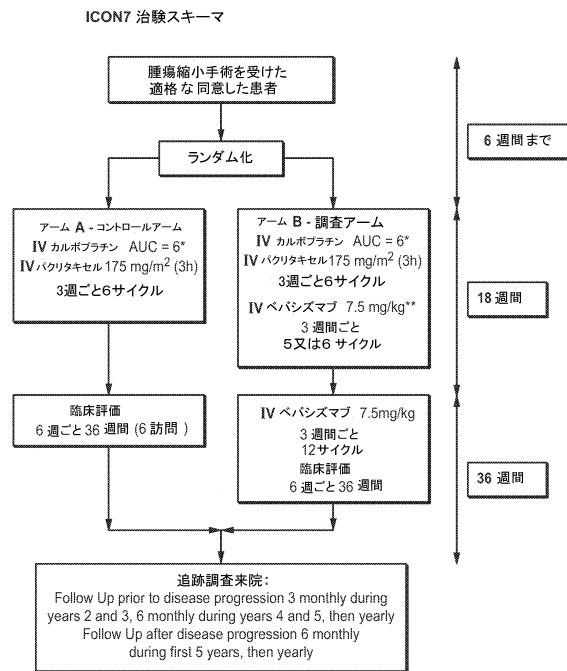
	ハザード比	実験アーム (CP + BEV → BEV; アーム III) Better	コントロールアーム (CP; アーム I) Better
ステージ3 最適 (n=434)	0.618	○	
ステージ3 準最適 (n=496)	0.763	○	
ステージ4 (n=318)	0.698	○	
PS 0 (n=616)	0.710	○	
PS 1/2 (n=632)	0.690	○	
年齢 <60 (年) (n=629)	0.680	○	
年齢 60-69 (年) (n=409)	0.763	○	
年齢 ≥70 (年) (n=210)	0.678	○	

治療ハザード比

FIG. 7

【図 8】

1. 試験スキーム



* The carboplatin dose recommended for ICON7 is AUC6 (unless predetermined as being different by individual GCIG group,

**Bevacizumab can be omitted from the first cycle if cytotoxic chemotherapy must be started within 4 weeks of surgery.

FIG. 8

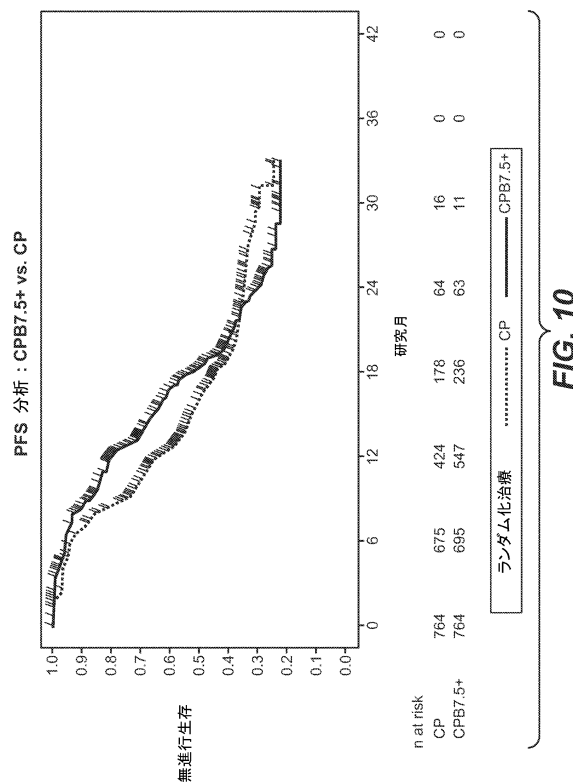
【図 9】

ICON7 試験の PFS 分析

	CP (N=764)	CPB7.5+ (N=764)
事象ありの患者	392 (51.3 %)	367 (48.0 %)
事象なしの患者	372 (48.7 %)	397 (52.0 %)
事象までの時間 (月)		
中央値#	16.0	18.3
中央値 # の 95% CI	[14.3;17.3]	[17.8;19.1]
範囲 ##	0.0 to 32.9	0.0 to 32.9
P-値 (ログランク検定)		0.0010*
ハザード比		0.79
95% CI		[0.68;0.91]

FIG. 9

【図 10】



【図 11】

研究スキーム

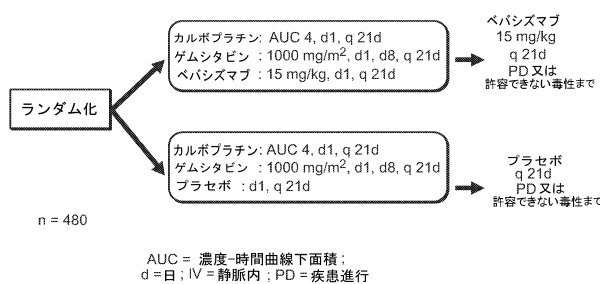


FIG. 11

【配列表】

0006184733000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 43/00 1 2 1

(31)優先権主張番号 61/351,231

(32)優先日 平成22年6月3日(2010.6.3)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 61/307,095

(32)優先日 平成22年2月23日(2010.2.23)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 デュボン, ジェイコブ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック

(72)発明者 アール, コルネリア

スイス国 4070 パーゼル, グレンツァッハーシュトラッセ 124

合議体

審判長 福井 美穂

審判官 清野 千秋

審判官 田村 聖子

(56)参考文献 Journal of Clinical Oncology, 2012年, Vol. 30, No. 17, p. 2039 - 2045

癌と化学療法, 2009年, Vol. 36, No. 5, p. 730 - 735

Gynecologic Oncology, 2008年, Vol. 111, No. 3, p. 461 - 466

EJC Supplements, 2007年, Vol. 5, No. 1, p. 29 - 36

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K39/00-39/44, A61K31/00-33/44

CA/MEDLINE/BIOSIS/EMBASE(STN)

JMEDPlus/JST7580/JSTPlus(JDream3)